

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 945**

51 Int. Cl.:

C12N 15/10 (2006.01)

C12N 9/12 (2006.01)

C12N 15/54 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2004 E 09010518 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2145956**

54 Título: **Polimerasa**

30 Prioridad:

03.11.2003 GB 0325650

14.05.2004 GB 0410871

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

30.09.2015

73 Titular/es:

**MEDICAL RESEARCH COUNCIL (100.0%)
2nd Floor, David Phillips Building, Polaris House,
North Star Avenue
Swindon, Wiltshire SN2 1FL, GB**

72 Inventor/es:

**HOLLIGER, PHILIPP;
GHADESSY, FARID y
D'ABBADIE, MARC**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 546 945 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

Polimerasa

5 La presente invención se refiere a ADN polimerasas. En particular, la invención se refiere a ADN polimerasas que presentan una especificidad de sustrato relajada. También se describen usos de las polimerasas obtenidas por ingeniería genética usando los métodos de la invención.

Antecedentes

10 La replicación precisa del ADN es de importancia crucial para la vida, garantizando el mantenimiento y la transmisión del genoma y la limitación de la tumorigénesis en los organismos superiores. Las ADN polimerasas de alta fidelidad realizan una asombrosa proeza de reconocimiento molecular, incorporando las moléculas de sustrato de nucleótidos trifosfato correctas (dNTP) según lo especificado por la base del molde con tasas de error mínimas. Por ejemplo, incluso sin la prueba de lectura exonucleolítica, la ADN polimerasa III replicativa de *E. coli* solo da lugar, como
15 media, a un error en $\sim 10^5$ pares de bases (Schaaper JBC 1993).

Dado que las diferencias energéticas entre los nucleótidos apareados correcta y erróneamente en sí son demasiado pequeñas para dar lugar a una discriminación de 10^5 veces, la estructura del sitio activo de la polimerasa en polimerasas de alta fidelidad ha evolucionado para mejorar esas diferencias. Recientes estudios estructurales de las ADN polimerasas de la familia A (de tipo Pol I) de *Thermus aquaticus* (Taq) (Li 98), fago T7 (Ellenberger) y *B. stearothermophilus* (Bst) (Beese) han revelado, en particular, cómo los cambios conformacionales producidos durante el ciclo catalítico pueden excluir las geometrías de formación de pares de bases no afines a causa de los enfrentamientos estéricos dentro del sitio activo cerrado. Como resultado de estas ajustadas limitaciones estéricas,
20 no solo se excluyen los nucleótidos desapareados, sino que la catálisis se vuelve exquisitamente sensible incluso a las ligeras distorsiones producidas en el dúplex de cebador-molde. Esto impide o reduce en gran medida la replicación de los moldes de ADN modificados o dañados, la incorporación de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP) modificados o artificiales y la extensión de los extremos 3' desapareados o artificiales.

30 Aunque deseable en la naturaleza, dicha discriminación rigurosa del sustrato es limitante para muchas aplicaciones biotecnológicas. En concreto, restringe el uso de bases de nucleótidos artificiales o modificadas y las aplicaciones que permiten. También se opone a la amplificación por PCR eficaz de los moldes de ADN dañados.

Algunas otras polimerasas de origen natural son menos rigurosas con respecto a su especificidad de sustrato. Por ejemplo, las transcriptasas inversas virales como la transcriptasa inversa del VIH-1 o la transcriptasa inversa del AMV, y las polimerasas capaces de realizar la síntesis translesión tales como las polimerasas de la familia pol-Y, pol-X (Vaisman *et al.*, 2001, JBC) o pol-X (Washington (2002), PNAS; o la poco común polimerasa de la familia pol-B pol X (Johnson, *Nature*), todas extienden desapareamientos en 3' con alta eficacia en comparación con las polimerasas de alta fidelidad. La desventaja del uso de polimerasas de síntesis translesión para usos biotecnológicos es que dependen de factores de capacidad de procesamiento celulares para su actividad, tales como PCNA. Además, dichas polimerasas no son estables a las temperaturas a las que se realizan ciertas técnicas biotecnológicas, tales como la PCR. Es más, la mayoría de las polimerasas de síntesis translesión tiene una fidelidad muy reducida, lo que comprometería gravemente su utilidad para la clonación.

45 Usando otra metodología, la disponibilidad de estructuras de alta resolución ha enfocado los esfuerzos hacia la modificación racional de la especificidad de sustrato de las ADN polimerasas de alta fidelidad, por ejemplo, por mutagénesis dirigida para aumentar la aceptación de los didesoxinucleótidos (ddNTP) (Li 99) o ribonucleótidos (rNTP) (Astatke 98). La complementación *in vivo* seguida de la selección también ha producido variantes de polimerasa con mayor incorporación de rNTP y forma limitada de evitar las lesiones de molde (Patel 01). Recientemente, se han descrito dos estrategias *in vitro* diferentes para la selección de la actividad de la polimerasa (Jestin 00, Ghadessy 01, Xia 02). Una se basa en la unión próxima de la polimerasa y del dúplex de molde-cebador en la misma partícula de fago, y ha permitido el aislamiento de mutantes de la Polimerasa Taq, que incorporan rNTP y dNTP con una eficacia comparable (Xia 02). Sin embargo, dichos métodos son complejos, propensos a generar errores y laboriosos.

55 Recientemente, la técnica de la autorreplicación compartimentalizada (CSR) (Ghadessy 01), que se basa en la autorreplicación de genes de polimerasa por las polimerasas codificadas dentro de compartimentos diferenciados no comunicantes, ha permitido la selección de mutantes de Polimerasa Taq con una mayor termoestabilidad y/o resistencia al potente inhibidor heparina (Ghadessy et al 01).

60 El documento WO 02/22869 describe métodos para su uso en la evolución *in vitro* de genotecas moleculares. Se describen métodos de selección de ácidos nucleicos que codifican productos génicos en los que el ácido nucleico y la actividad del producto génico codificado están relacionados por la compartimentalización.

65 Sin embargo, todavía sigue existiendo la necesidad en la técnica de un método eficaz y sencillo para relajar la especificidad de sustrato de las ADN polimerasas de alta fidelidad, a la vez que se mantiene la alta rotación

catalítica y capacidad de procesamiento de los fragmentos de ADN hasta varias decenas de kb. Dichas polimerasas serán de uso particular en aplicaciones tales como la amplificación por PCR y la secuenciación de moldes de ADN dañados, para la incorporación de análogos de bases artificiales al ADN (como se requiere para la secuenciación o el marcaje matricial) y como punto de partida para la creación de nuevas actividades de la polimerasa usando la autorreplicación compartimentada u otros métodos.

Sumario de la invención

Los presentes inventores modificaron los principios de la evolución dirigida, (en particular, la autorreplicación compartimentada) descrita en los documentos GB97143002, 986063936 y GB01275643 en nombre de los presentes inventores, para relajar el control estérico de las ADN polimerasas de alta fidelidad y, por consiguiente, ampliar la selección de sustratos de dichas polimerasas. Todos los documentos mencionados anteriormente se incorporan en el presente documento por referencia.

Se encontró que, sorprendentemente, mediante la realización de la técnica de la autorreplicación compartimentada a la que se hace referencia anteriormente, usando repertorios de genes Taq mutados al azar, y cebadores flanqueantes que portan desapareamientos A*G y C*C en su terminal/extremo 3', se generaron mutantes que no solamente presentaban la capacidad de extender los desapareamientos de transversión A*G y C*C usados en la selección de CSR, sino que, sorprendentemente, también presentaron una capacidad genérica para extender los extremos 3' desapareados. Este hallazgo es especialmente significativo, ya que la Polimerasa Taq no es capaz de extender los desapareamientos de 3' (Kwok *et al*, (1990), Huang (1992). Las polimerasas mutantes generadas también presentan una alta rotación catalítica, concomitante con otras polimerasas de alta fidelidad, y son capaces de realizar la amplificación eficaz de fragmentos de ADN de hasta 26 kb.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona una ADN polimerasa de pol A con una selección más amplia de sustratos, que es capaz de evitar un sitio abásico, polimerasa que comprende la secuencia de ácido nucleico del clon designado en el presente documento como 3A10 (SEC ID N° 80).

La ADN polimerasa puede consistir en la secuencia de aminoácidos del clon designado en el presente documento como 3A10 (SEC ID N° 80).

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una construcción de ácido nucleico que codifica una polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona un vector que comprende una construcción de ácido nucleico de acuerdo con el segundo aspecto de la invención.

En un quinto aspecto, la presente invención se refiere al uso de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con el primer aspecto de la invención en una cualquiera o más de las siguientes aplicaciones seleccionadas del grupo que consiste en las siguientes: amplificación por PCR, secuenciación de moldes de ADN dañados, la incorporación de análogos de bases artificiales a ADN y la creación de nuevas actividades polimerasa.

El uso de acuerdo con el quinto aspecto de la invención se puede referir a una mezcla de polimerasas obtenidas por ingeniería genética.

La expresión "ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética" se refiere a una ADN polimerasa que tiene una secuencia de ácido nucleico que no es 100 % idéntica a nivel del ácido nucleico a la una o más ADN polimerasa/s o fragmentos de las mismas de la que se deriva, y que es sintética.

Como se ha mencionado anteriormente, la expresión "ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética" también incluye dentro de su alcance fragmentos, derivados y homólogos de una "ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética", como se define en el presente documento, siempre que presente la propiedad necesaria de poseer una selección más amplia de sustratos según lo definido en el presente documento. Además, una característica esencial de la presente invención es que una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la invención no incluya una polimerasa con actividad exonucleasa 3'-5' en las condiciones usadas para la reacción de polimerización. (Esta definición incluye polimerasas en las que la exonucleasa 3-5' no forma parte de la cadena polipeptídica de la polimerasa, pero está asociada de forma no covalente con la polimerasa activa). Dicha actividad de prueba de lectura eliminaría cualquier desapareamiento en 3' incorporado de acuerdo con el método de la invención y, por tanto, impediría que una polimerasa de acuerdo con la invención poseyera una selección más amplia de sustratos, como se define en la presente memoria.

Como se define en el presente documento, la expresión "selección más amplia de sustratos" (de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética) significa que la selección de sustratos de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la presente invención es más amplia que la de la una o más ADN polimerasas, o los fragmentos de las mismas, de las que se deriva. La expresión "una selección más amplia de sustratos" se refiere a la capacidad de una polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la presente

invención para extender uno o más extremos de distorsión 3', ventajosamente, desapareamientos de transversión (purina*purina, pirimidina*pirimidina), por ejemplo, A*A, C*C, G*G, T*T y G*A, que la una o más polimerasa/s de las que se deriva no pueden extender. Es decir, esencialmente, una ADN polimerasa que presenta una selección de sustratos relajada según lo definido en el presente documento tiene la capacidad no solo de extender el extremo de distorsión 3' usado en su generación, (es decir, los cebadores flanqueantes), sino que también presenta una capacidad genérica para extender los extremos de distorsión 3' (por ejemplo, los desapareamientos A*G, A*A, G*G). Preferentemente, la "selección más amplia de sustratos" (de una ADN polimerasa obtenida mediante ingeniería genética) incluye un espectro más amplio de sustratos artificiales de nucleótidos incluyendo dNTP α S, nucleótidos marcados con colorante, moldes de ADN dañados, etcétera. En los ejemplos, se dan más detalles.

El experto en la materia apreciará que, en esencia, cualquier cebador flanqueante de ADN polimerasa que porte un desapareamiento en 3' funcionará con cualquier repertorio adecuado. Las características del proceso de extensión de los desapareamientos variarán de una polimerasa a otra, y también variarán de acuerdo con las condiciones experimentales. Por ejemplo, G*A y C*C son los desapareamientos que se ven más desfavorecidos para la extensión por la Polimerasa Taq (Huang *et al*, 92). Otros desapareamientos se ven favorecidos para la extensión por otras polimerasas, pudiéndose determinar de manera rutinaria por los expertos.

Un experto en la materia también apreciará que los métodos descritos en el presente documento solo funcionarán para las polimerasas que carezcan de actividad de la prueba de lectura exonucleolítica 3-5' en las condiciones usadas para la reacción de polimerización, pues dicha actividad daría lugar a la eliminación de los desapareamientos incorporados.

Usando el método descrito en el presente documento, los presentes inventores generaron una serie de mutantes de polimerasa pol A. Dos de los mutantes, denominados M1 y M4, no solo presentan la capacidad de extender los desapareamientos de transversión G*A y C*C usados en la selección de CSR, sino que también presentan, sorprendentemente, una capacidad mejorada genéricamente para extender los extremos 3' apareados erróneamente.

Los presentes inventores consideran que el método descrito en el presente documento es aplicable a la generación de "combinaciones" de ADN polimerasas obtenidas mediante ingeniería genética con una selección más amplia de sustratos. De acuerdo con la presente invención, el término "combinación" de más de una polimerasa se refiere a una mezcla de 2 o más, 3 o más, 4 o más, 5 o más polimerasas obtenidas por ingeniería genética. Preferentemente el término "combinaciones" se refiere a una mezcla de 6, 7, 8, 9 o 10 o más "polimerasas obtenidas por ingeniería genética".

Cabe señalar que la extensión de terminales de cebador 3' desapareados es una característica de las polimerasas de origen natural. Las transcriptasas inversas virales (RT) como la RT del VIH-1 o la RT del AMV, y las polimerasas capaces de realizar la síntesis translesión (TLS), tales como las polimerasas de la familia pol-Y pol ι (Vaisman 2001JBC) o pol κ (Washington 2002 PNAS), o la poco común polimerasa de la familia pol-B pol ζ (Johnson, *Nature*), extienden desapareamientos en 3' con una eficacia elevada en comparación con las polimerasas de alta fidelidad. Por lo tanto, las polimerasas PolA mutantes descritas en el presente documento comparten similitudes funcionales significativas con otras polimerasas que se encuentran en la naturaleza, pero hasta ahora representan el único miembro conocido de polimerasas de la familia pol-A que son competentes en la extensión de desapareamientos (ME) y la síntesis translesión (TLS).

En contraste con las polimerasas TLS, que son distributivas y dependen de factores de capacidad de procesamiento celulares tales como PCNA, M1 y M4 combinan la extensión de desapareamientos (ME) y la síntesis translesión (TLS) con una alta capacidad de procesamiento y, en el caso de M1, son capaces de realizar la amplificación eficaz de fragmentos de ADN de hasta 26 kb.

En un aspecto adicional más, la presente invención proporciona el uso de una ADN polimerasa de acuerdo con la presente invención en una cualquiera o más de las siguientes aplicaciones seleccionadas del grupo que consiste en las siguientes: amplificación por PCR, secuenciación de moldes de ADN dañados, la incorporación de análogos de bases artificiales al ADN y la creación de nuevas actividades de la polimerasa.

Definiciones

La expresión "ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética" se refiere a una ADN polimerasa que tiene una secuencia de ácido nucleico que no es 100 % idéntica a nivel del ácido nucleico a la una o más ADN polimerasa/s o fragmentos de las mismas de la que se deriva, y que se ha generado usando uno o más métodos biotecnológicos. Ventajosamente, una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la invención es una ADN polimerasa de la familia pol-A o una ADN polimerasa de la familia pol-B. Más ventajosamente, una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la invención es una ADN polimerasa de la familia pol-A. Como se ha mencionado anteriormente, la expresión "ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética" también incluye dentro de su alcance fragmentos, derivados y homólogos de una "ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética", como se define en el presente documento, siempre que presente la propiedad necesaria de poseer una selección

más amplia de sustratos según lo definido en el presente documento. Además, una característica esencial de la presente invención es que una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la invención no incluya una polimerasa con actividad exonucleasa 3'-5' en las condiciones usadas para la reacción de polimerización. Dicha actividad de prueba de lectura eliminaría cualquier desapareamiento en 3' incorporado de acuerdo con el método de la invención y, por tanto, impediría que una polimerasa de acuerdo con la invención poseyera una selección más amplia de sustratos, como se define en la presente memoria

Como se define en el presente documento, los "cebadores flanqueantes que portan un extremo de distorsión 3'" se refieren a aquellos cebadores de ADN polimerasa que poseen en sus extremos 3' uno o más grupos/s, preferentemente grupo/s de nucleótidos que se desvían de la geometría de apareamiento de bases afín. Dichas desviaciones de la geometría de apareamiento de bases afín incluyen, pero sin limitación: desapareamientos de nucleótidos, lesiones de bases (es decir, bases modificadas o dañadas) o sustitutos de bases sintéticos, enteramente artificiales, en el extremo 3 de un cebador flanqueante. El/los cebador/es flanqueante/s puede/n tener uno o más desapareamientos de nucleótidos en su extremo 3'. Los cebadores flanqueantes pueden tener uno o dos desapareamientos de nucleótidos en el extremo del cebador 3'. Los cebadores flanqueantes tienen un desapareamiento de nucleótidos en su extremo de cebador 3'.

Como se define en el presente documento, la expresión "selección más amplia de sustratos" (de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética) significa que la selección de sustratos de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la presente invención es más amplia que la de la una o más ADN polimerasas, o los fragmentos de las mismas, de las que se deriva. La expresión "una selección más amplia de sustratos" se refiere a la capacidad de una polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la presente invención para extender uno o más extremos de distorsión 3', ventajosamente, desapareamientos de transversión (purina*purina, pirimidina*pirimidina), por ejemplo, A*A, C*C, G*G, T*T y G*A, que la una o más polimerasa/s de las que se deriva no pueden extender. Es decir, esencialmente, una ADN polimerasa que presenta una selección de sustratos relajada según lo definido en el presente documento tiene la capacidad no solo de extender el extremo de distorsión 2' usado en su generación, (es decir, los cebadores flanqueantes), sino que también presenta una capacidad genérica para extender el extremo de distorsión 3' (por ejemplo, los desapareamientos A*G, A*A, G*G).

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la secuencia de ácido nucleico (a) y la secuencia de aminoácidos (b) de M1.

La Figura 2 muestra la secuencia de ácido nucleico (a) y la secuencia de aminoácidos (b) de M4.

La Figura 3 muestra el esquema general de la selección de CSR de extensión de desapareamientos. La autorreplicación del gen pol por la polimerasa codificada requiere la extensión de cebadores flanqueantes que portan desapareamientos 3' G*A y C*C. Las polimerasas capaces de realizar la extensión de desapareamientos (Pol*) replican su propio gen de codificación (pol*), mientras que Pol<x> no puede extender los desapareamientos a los productos de replicación.

Figura 4. Propiedades de extensión de desapareamientos de polimerasas seleccionadas. (A) Actividad de la polimerasa en la PCR para el extremo 3' apareado y los desapareamientos. Solo las polimerasas mutantes M4 y M1 (no mostradas) generan productos de amplificación usando los cebadores con desapareamientos de transversión en 3'. (B) Ensayo de PCR de extensión de desapareamientos. (Capacidad de extensión de desapareamientos en la PCR con cebadores flanqueantes apareados frente a desapareados). Se muestran diferentes polimerasas (rombos negros) y derivados (cuadrados y triángulos blancos) en columnas separadas.

Figura 5. Actividad de evitación de lesiones (A) Taq de tipo silvestre; (B) M1; (C) M4. Se ensayó cada polimerasa a lo largo del tiempo para determinar su capacidad para extender un cebador marcado radiactivamente hibridado bien a un molde intacto o a un molde que contenía un sitio abásico o un dímero de ciclobutano timina-timina *cis-syn* (CPD). La secuencia del molde era idéntica a excepción de tres bases situadas inmediatamente secuencia abajo del cebador (N1-3). En el lado derecho de cada respectivo panel, se da el contexto de la secuencia local de la región N1-3. X = sitio abásico; T-T = CPD.

Figura 6. Actividad de la polimerasa sobre sustratos artificiales. (A) actividad de la polimerasa en la PCR usando todos los dNTP α S. Con M1, se obtienen los productos de amplificación de ADN α S de 0,4 kb, 0,8 kb y 2 kb, pero no con Taq de tipo silvestre (wt). ϕ X, marcador de ADN del fago ϕ X174 digerido con HaeIII. λ H, marcador de ADN del fago λ digerido con HindIII. (B) Actividad de la polimerasa en la PCR con la sustitución completa de dATP con FITC-12-dATP (izquierda) o dTTP con biotina-16-dUTP (derecha). Solo M1 genera productos de amplificación. M, escalera de ADN de 1 kb (Invitrogen). (C) Evitación de una base de molde 5-nitroindol (5NI). Se ensayó la actividad de la polimerasa a lo largo del tiempo para determinar su capacidad para extender un cebador marcado radiactivamente hibridado a un molde que contenía una base de molde 5NI.

Figura 7. PCR de largo alcance. Amplificación por PCR de fragmentos de longitud creciente de un molde de ADN del fago λ . Taq de tipo silvestre (WT) no genera productos de amplificación de más de 8,8 kb, mientras que M1

es capaz de amplificar fragmentos de > 25 kb. λ H, marcador de ADN del fago λ digerido con HindIII.

Figura 8. ELISA de tipo horquilla para ensayar la incorporación de análogos nucleotídicos mediante clones de extensión de desapareamientos.

5
Figura 9. Los clones 3B5, 3B8, 3C12 y 3D1 (donde 3 indica que se trata de clones de la tercera serie) fueron capaces de extender cebadores que contenían cuatro desapareamientos.

10
Figura 10. Una lista de las polimerasas seleccionadas para extender cuatro desapareamientos que se ensayaron para determinar su capacidad para extender los sitios abásicos en la PCR.

Figura 11. Se ensayaron siete polimerasas para determinar su capacidad para evitar los sitios abásicos en un ensayo de extensión con cebador.

15
Figura 12 Se extrajeron y se analizaron varias muestras de hiena cavernaria (*Crocota spelaea*).

Figura 13. Cebadores apropiados para su uso en el método de la invención. Véase el Ejemplo 15 para obtener más información.

20
Figura 14. Se ensayaron polimerasas seleccionadas para la replicación de 5NI para determinar la actividad con una selección de sustratos usando el ensayo ELISA de tipo horquilla descrito en el Ejemplo 8. Véase el ejemplo 16 para obtener más información.

25
Figura 15. Se ensayaron polimerasas seleccionadas para la replicación de 5NI para determinar la actividad con una selección de sustratos. polimerasa 4D11. P es el cebador, Ch es la reacción de persecución. Los tiempos de reacción están en minutos. Véase el Ejemplo 16 para obtener más información.

30
Figura 16. Se ensayaron polimerasas seleccionadas para la replicación de 5NI para determinar la actividad con una selección de sustratos. Polimerasa 5D4. P es el cebador, Ch es la reacción de persecución. Los tiempos de reacción están en minutos. Véase el Ejemplo 16 para obtener más información.

35
Figura 17. Se ensayaron polimerasas seleccionadas para la replicación de 5NI para determinar la actividad con una selección de sustratos. Polimerasa 4D11. P es el cebador, Ch es la reacción de persecución. Los tiempos de reacción están en minutos. Véase el Ejemplo 16 para obtener más información.

Figura 18. Se ensayaron polimerasas seleccionadas para la replicación de 5NI para determinar la actividad con una selección de sustratos. Polimerasa 5D4. P es el cebador, Ch es la reacción de persecución. Los tiempos de reacción están en minutos. Véase el Ejemplo 16 para obtener más información

40
Figura 19. Hibridaciones con micromatrices de sondas marcadas con FITC. Las micromatrices contenían 5 características repetidas de diluciones en serie de secuencias diana de *Taq*, RT y ADN de esperma de salmón genómico, como se indica. Se usaron aleatorizadores marcados para visualizar la micromatriz y evaluar la disponibilidad de secuencias diana para la hibridación. Se realizaron cohibridaciones con matrices con una sonda *Taq* marcada con Cy5 (Cy5*Taq*) como patrón, y sondas marcadas con FITC o no marcadas equivalentes (FITC10_{Taq}, FITC10_{M1}, FITC100_{M1}). Se muestran experimentos individuales de 3 experimentos por duplicado para cada cohibridación.

45
Figura 20, Figura 21. Señales micromatriciales de sondas marcadas con FITC. Se representa la señal de fluorescencia media de FITC de sondas marcadas con FITC (FITC10_{Taq}, FITC10_{M1}, FITC100_{M1}) para cada cohibridación frente a la señal de fluorescencia de Cy5 de la sonda de referencia (Cy5_{Taq}) para las secuencias diana de A) *Taq*, B) RT y C) ADN de esperma de salmón genómico, como se indica. D) Las señales de fondo micromatriciales de sondas marcadas con FITC se determinan usando 3 micromatrices por duplicado para cada experimento de cohibridación de una sonda *Taq* marcada con Cy5 (Cy5_{Taq}), como patrón, y sondas marcadas con FITC o no marcadas equivalentes (FITC10_{Taq}, FITC10_{M1}, FITC100_{M1}). La información de fondo se generó midiendo la señal de fluorescencia de 12 superficies no características de cada micromatriz. Se generaron las intensidades medias de los píxeles y se usaron para derivar un valor radiométrico por cada superficie de no característica. Se muestra una media de la proporción media ± 1 desviación estándar por cada experimento de cohibridación.

50
55
60
65
Figura 22. Fidelidad. (A) ELISA de MutS. Se determina la fidelidad de replicación relativa de *Taq* de tipo silvestre, *M1* y *M4* usando ELISA de mutS de dos fragmentos de ADN diferentes (bien una región de 0,4 kb o de 2,5 kb del gen *Taq* clonado) obtenidos por PCR y sondados a dos concentraciones diferentes. (B) Espectros de sustituciones de nucleótidos observadas en fragmentos de PCR amplificados bien con *Taq* de tipo silvestre o *M1*. Los tipos de sustituciones se dan como el % de sustituciones totales (*Taq* WT: 48, *M1*: 74). Se añadieron sustituciones equivalentes en cualquiera de las hebras (por ejemplo, G→A, C→T) juntas (GC→AT). Se observó 1 eliminación (*Taq* WT: 3, *M1*: 1), que no se muestra.

Figura 23. Se midió la capacidad de procesamiento de *Taq* WT, *M1* y *M4* a tres concentraciones diferentes de la polimerasa en ausencia (A) o en presencia (B) de ADN trampa. La capacidad de procesamiento para la incorporación de nucleótidos en cada posición resultó ser variable, pero esencialmente idéntica para las tres polimerasas. Por ejemplo, la probabilidad de disociación enzimática es mayor en las posiciones 2-5 en comparación con las posiciones 6 y 7 para las tres polimerasas. En presencia de ADN trampa (para asegurar que la extensión de todos los cebadores es el resultado de una sola unión al ADN), el 13 % de *Taq* WT unida, el 28 % de *M1* y el 15 % de *M4* extendieron los cebadores hasta el final del molde. Las probabilidades de terminación para las posiciones 2 a 5 variaron del 15 al 25 % para *Taq* WT y *M1*, y del 13 al 35 % para *M4*, mientras que en las posiciones 6 y 7, la probabilidad de la terminación fue del 5 % para *Taq* WT, 1 % para *M1* y 2-4 % para *M4*. La replicación del ADN se ha caracterizado como de baja capacidad de procesamiento cuando la probabilidad de terminación alcanza el 40-80 %¹⁵. Los presentes resultados sugieren que tanto *M1* como *M4* son polimerasas procesadoras, con capacidad de procesamiento igual o superior a *Taq* WT, argumento que va en contra de una interdependencia mecanicista de la baja capacidad de procesamiento y la síntesis translesión.

15 Descripción detallada

(A) Principios subyacentes a la tecnología CST

En el presente documento, se describe un método de generación de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética con una selección más amplia de sustratos que comprende las etapas de:

- (a) preparar ácido nucleico que codifica una ADN polimerasa mutante, en el que la polimerasa se genera usando cebadores flanqueantes que portan un extremo de distorsión 3';
- (b) compartimentar el ácido nucleico de la etapa (a) en microcápsulas;
- (c) expresar el ácido nucleico para producir su respectiva ADN polimerasa dentro de las microcápsulas;
- (d) clasificar el ácido nucleico que codifica la ADN polimerasa mutante que presenta una selección más amplia de sustratos; y
- (e) expresar la ADN polimerasa mutante que presenta una selección más amplia de sustratos.

Las técnicas de evolución dirigida y de autorreplicación compartimentada se detallan en los documentos GB 97143002, GB 98063936 y GB 01275643, a nombre de los presentes inventores. Dichos documentos se incorporan en el presente documento por referencia.

Los inventores modificaron los métodos de autorreplicación compartimentada y, sorprendentemente, generaron ADN polimerasas que presentaban una selección más amplia de sustratos como se define en el presente documento.

En particular, los inventores se dieron cuenta de que para la autorreplicación de la Polimerasa *Taq*, los compartimentos deben permanecer estables a las altas temperaturas del termociclado de la PCR. La encapsulación de las PCR se ha descrito previamente para las vesículas de lípidos (Oberholzer, T., Albrizio, M. y Luisi, P. L. (1995) *Chem. Biol.* 2, 677-82, y células y tejidos fijados (Haase, A. T., Retzel, E. F. y Staskus, K. A. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 87, 4971-5; Embleton, M. J., Gorochoy, G., Jones, P. T. y Winter, G. (1992) *Nucleic Acids*) pero con bajas eficacias.

Los presentes inventores han desarrollado recientemente emulsiones de aceite en agua, pero modificando la composición del agente tensioactivo, así como la proporción del aceite con respecto al agua. Los detalles se dan en el Ejemplo 1. Dichas modificaciones aumentaron en gran medida la estabilidad al calor de los compartimentos y permitieron que los rendimientos de PCR en la emulsión se acercaran a los de la PCR en solución. Más adelante, se aporta más información sobre el método de la autorreplicación compartimentada.

50 *Microcápsulas.*

Las microcápsulas usadas de acuerdo con el método descrito en el presente documento requieren propiedades físicas apropiadas para permitir el funcionamiento del método.

En primer lugar, para garantizar que los ácidos nucleicos y los productos génicos no se puedan difundir entre las microcápsulas, el contenido de cada microcápsula debe estar aislado del contenido de las microcápsulas circundantes, de manera que no haya intercambio o que haya poco intercambio de los ácidos nucleicos y los productos génicos entre la microcápsulas durante el período de tiempo del experimento.

En segundo lugar, el método requiere que solo haya un número limitado de ácidos nucleicos por microcápsula. Esto garantiza que el producto génico de un ácido nucleico individual se aisle de los otros ácidos nucleicos. Por lo tanto, el acoplamiento entre el ácido nucleico y el producto génico será altamente específico. El factor de enriquecimiento es el mayor con una media de uno o pocos ácidos nucleicos por microcápsula, siendo la unión entre el ácido nucleico y la actividad del producto génico codificado lo más estrecha posible, pues el producto génico de un ácido nucleico individual se aislará de los productos de todos los otros ácidos nucleicos. Sin embargo, aún no usándose la situación teóricamente óptima, como media, de un solo ácido nucleico o menos por microcápsula, una proporción de

5, 10, 50, 100 o 1.000 o más ácidos nucleicos por microcápsula puede ser beneficiosa en la clasificación de una genoteca de gran tamaño. Las posteriores series de clasificación, incluyendo una nueva encapsulación con una distribución diferente de los ácidos nucleicos, permitirán una clasificación más rigurosa de los ácidos nucleicos. Preferentemente, hay un solo ácido nucleico o menos, por microcápsula.

En tercer lugar, la formación y la composición de las microcápsulas no debe suprimir la función de la maquinaria de la expresión de los ácidos nucleicos y la actividad de los productos génicos.

Por consiguiente, cualquier sistema de microencapsulación usado debe cumplir estos tres requisitos. El/los sistema/s apropiado/s puede/n variar dependiendo de la naturaleza exacta de los requisitos en cada aplicación de la invención, como será evidente para el experto en la materia.

Se dispone de una amplia variedad de procedimientos de microencapsulación (véase Benita, 1996) y se pueden usar para crear las microcápsulas descritas en el presente documento. De hecho, se han identificado en la bibliografía más de 200 métodos de microencapsulación (Finch, 1993).

Estos incluyen vesículas acuosas envueltas con una membrana, tales como las vesículas lipídicas (liposomas) (New, 1990) y vesículas tensioactivas no iónicas (van Hal *et al.*, 1996). Se trata de cápsulas membranosas cerradas de bicapas individuales o múltiples de moléculas ensambladas de forma no covalente, estando cada bicapa separada de su bicapa vecina por un compartimento acuoso. En el caso de los liposomas, la membrana está compuesta de moléculas lipídicas que normalmente son fosfolípidos, pero también se pueden incorporar a las membranas esteroides tales como el colesterol (New, 1990). Dentro de los liposomas, se puede realizar una variedad de reacciones bioquímicas catalizadas por enzimas, incluyendo la polimerización del ARN y ADN (Chakrabarti *et al.*, 1994; Oberholzer *et al.*, 1995a; Oberholzer *et al.*, 1995b; Walde *et al.*, 1994; Wick y Luisi, 1996).

Con un sistema de vesículas envueltas con una membrana, gran parte de la fase acuosa está fuera de las vesículas y, por tanto, no está compartimentalizada. Esta fase acuosa continua se debería eliminar, o inhibirse o destruirse los sistemas biológicos de su interior (por ejemplo, mediante la digestión de ácidos nucleicos con ADNasa o ARNasa) para que las reacciones se limiten a las microcápsulas (Luisi *et al.*, 1987).

También se han demostrado las reacciones bioquímicas catalizadas por enzimas en microcápsulas generadas por una variedad de otros métodos. Muchas enzimas son activas en soluciones micelares inversas (Bru y Walde, 1991; Bru y Walde, 1993; Creagh *et al.*, 1993; Haber *et al.*, 1993; Kumar *et al.*, 1989; Luisi y B., 1987; Mao y Walde, 1991; Mao *et al.*, 1992; Perez *et al.*, 1992; Walde *et al.*, 1994; Walde *et al.*, 1993; Walde *et al.*, 1988), tales como el sistema AOT-isooctano-agua (Menger y Yamada, 1979).

También se pueden generar microcápsulas por polimerización interfacial y formación de complejos interfaciales (Whateley, 1996). Las microcápsulas de este tipo pueden tener membranas rígidas, no permeables, o membranas semipermeables. Las microcápsulas semipermeables limitadas por membranas de nitrato de celulosa, membranas de poliamida y membranas de lípido-poliámida pueden mantener reacciones bioquímicas, incluyendo sistemas multienzimáticos (Chang, 1987; Chang, 1992; Lim, 1984). Las microcápsulas de alginato/polilisina (Lim y Sun, 1980), que se pueden formar en condiciones muy suaves, también han demostrado ser muy biocompatibles, proporcionando, por ejemplo, un método eficaz de encapsulación de células y tejidos vivos (Chang, 1992; Sun *et al.*, 1992).

También se pueden usar sistemas de microencapsulación no membranosos, basados en la división en fases de un entorno acuoso en un sistema coloidal, tal como una emulsión.

Preferentemente, las microcápsulas descritas en el presente documento se forman a partir de emulsiones; sistemas heterogéneos de dos fases líquidas inmiscibles con una de las fases dispersa en la otra como gotitas de tamaño microscópico o coloidal (Becher, 1957; Sherman, 1968; Lissant, 1974; Lissant, 1984).

Emulsiones

Las emulsiones se pueden producir a partir de cualquier combinación adecuada de líquidos inmiscibles. Preferentemente, la emulsión descrita en el presente documento tiene agua (que contiene los componentes bioquímicos) como la fase presente en forma de gotitas finamente divididas (la fase dispersa, interna o discontinua) y un líquido hidrófobo, inmiscible (un "aceite") como la matriz en la que estas gotitas están suspendidas (la fase no dispersa, continua o externa). Dichas emulsiones se denominan de "agua en aceite" (A/A). Esta tiene la ventaja de que toda la fase acuosa que contiene los componentes bioquímicos está compartimentalizada en gotitas diferenciadas (la fase interna). La fase externa, que es un aceite hidrófobo, generalmente no contiene ninguno de los componentes bioquímicos y, por tanto, es inerte.

La emulsión puede estabilizarse mediante la adición de uno o más agentes tensioactivos. Estos tensioactivos se denominan agentes emulsionantes, y actúan en la interfase de agua/aceite para evitar (o al menos retrasar) la separación de las fases. Muchos aceites y emulsionantes se pueden usar para la generación de emulsiones de agua

en aceite. Una recopilación reciente enumeraba más de 16.000 tensioactivos, muchos de los cuales se usan como agentes emulsionantes (Ash y Ash, 1993). Los aceites adecuados incluyen tensioactivos de aceites minerales blancos ligeros y no iónicos (Schick, 1966), tales como monooleato de sorbitán (Span™ 80; ICI) y monooleato de polioxietilensorbitano (Tween™ 80; ICI) y Triton-X-100.

El uso de tensioactivos aniónicos también puede ser beneficioso. Los tensioactivos adecuados incluyen colato de sodio y taurocolato de sodio. Se prefiere particularmente el desoxicolato de sodio, preferentemente, a una concentración del 0,5 % p/v o inferior. En algunos casos, la inclusión de dichos tensioactivos puede aumentar la expresión de los ácidos nucleicos y/o la actividad de los productos génicos. La adición de algunos tensioactivos aniónicos a una mezcla de reacción no emulsionada, suprime completamente la traducción. Sin embargo, durante la emulsión, el tensioactivo se transfiere desde la fase acuosa a la interfase y la actividad se restablece. La adición de un tensioactivo aniónico a las mezclas que se van a emulsionar garantiza que las reacciones se realicen únicamente después de la compartimentalización.

En general, la creación de una emulsión requiere la aplicación de energía mecánica para forzar la unión de las fases. Existe una variedad de maneras de hacerlo, que utilizan una variedad de dispositivos mecánicos, incluyendo agitadores (tales como varillas de agitación magnéticas, agitadores de hélice y turbina, dispositivos de paletas y batidores), homogeneizadores (incluyendo los homogeneizadores de rotor-estator, homogeneizadores de válvula de alta presión y homogeneizadores de chorro), molinos coloidales, ultrasonidos y dispositivos de "emulsión de membrana" (Becher, 1957; Dickinson, 1994).

Las microcápsulas acuosas formadas en emulsiones de agua en aceite son generalmente estables con poco o ningún intercambio de ácidos nucleicos o productos génicos entre las microcápsulas. Además, los presentes inventores han demostrado que se realizan varias reacciones bioquímicas en las microcápsulas de emulsión. Además, procesos bioquímicos complicados, principalmente la transcripción y la traducción de genes también están activos en las microcápsulas de emulsión. Existe la tecnología para crear emulsiones con volúmenes de todo tipo hasta escalas industriales de miles de litros (Becher, 1957; Sherman, 1968; Lissant, 1974; Lissant, 1984).

El tamaño preferido de la microcápsula variará dependiendo de los requisitos exactos de cualquier proceso de selección individual que se vaya a realizar.

En todos los casos, habrá un equilibrio óptimo entre el tamaño de la genoteca, el enriquecimiento requerido y la concentración requerida de componentes en las microcápsulas individuales para lograr la expresión y la reactividad eficaces de los productos génicos.

En el Ejemplo 1, se ofrecen los detalles de un ejemplo de una emulsión usada cuando se realiza el método descrito en el presente documento.

Expresión dentro de microcápsulas

Los procesos de expresión deben producirse dentro de cada microcápsula individual.

Tanto la transcripción *in vitro* como la transcripción-traducción acopladas son menos eficaces a concentraciones subnanomolares de ADN. Debido a la necesidad de que solo esté presente un número limitado de moléculas de ADN en cada microcápsula, esto fija por tanto un límite superior práctico del posible tamaño de la microcápsula. Preferentemente, el volumen medio de las microcápsulas es inferior a $5,2 \times 10^{-16} \text{ m}^3$, (que se corresponde a una microcápsula esférica de diámetro inferior a $10 \text{ }\mu\text{m}$, más preferentemente, inferior a $6,5 \times 10^{-17} \text{ m}^3$ ($5 \text{ }\mu\text{m}$), más preferentemente de aproximadamente $4,2 \times 10^{-18} \text{ m}^3$ ($2 \text{ }\mu\text{m}$) e idealmente de aproximadamente $9 \times 10^{-18} \text{ m}^3$ ($2,6 \text{ }\mu\text{m}$).

La concentración eficaz de ADN o ARN en las microcápsulas se puede aumentar artificialmente mediante diversos métodos que serán bien conocidos por los expertos en la materia. Estos incluyen, por ejemplo, la adición de productos químicos que excluyen volumen, tales como polietilenglicoles (PEG), y una variedad de técnicas de amplificación génica, que incluyen la transcripción usando ARN polimerasas que incluyen las que proceden de bacterias tales como *E. coli* (Roberts, 1969; Blattner y Dahlberg, 1972; Roberts *et al.*, 1975; Rosenberg *et al.*, 1975), eucariotas, por ejemplo, (Weil *et al.*, 1979; Manley *et al.*, 1983) y bacteriófagos tales como T7, T3 y SP6 (Melton *et al.*, 1984); la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Saiki *et al.*, 1988); la amplificación con la replicasa Q β (Miele *et al.*, 1983; Cahill *et al.*, 1991; Chetverin y Spirin, 1995; Katanaev *et al.*, 1995); la reacción en cadena de la ligasa (LCR) (Landegren *et al.*, 1988; Barany, 1991); y el sistema de replicación autosostenida de secuencias (Fahy *et al.*, 1991) y la amplificación por desplazamiento de cadena (Walker *et al.*, 1992). Se podrían usar incluso técnicas de amplificación génica que requieren un ciclado térmico, tales como PCR y LCR, si las emulsiones y la transcripción *in vitro* o los sistemas acoplados de transcripción-traducción son termoestables (por ejemplo, se podrían preparar los sistemas acoplados de transcripción-traducción a partir de un organismo termoestable tal como *Thermus aquaticus*).

El aumento de la concentración local eficaz de ácido nucleico permite el uso de manera eficaz de microcápsulas de mayor tamaño. Esto permite un límite superior práctico preferido para el volumen de la microcápsula de

aproximadamente $5,2 \times 10^{-16} \text{ m}^3$ (correspondiente a una esfera de 10 μm de diámetro).

El tamaño de la microcápsula debe ser suficientemente elevado como para alojar todos los componentes requeridos para las reacciones bioquímicas, que son necesarios para que tengan lugar dentro de la microcápsula. Por ejemplo, *in vitro*, tanto las reacciones de transcripción como las reacciones acopladas de transcripción-traducción requieren una concentración total de nucleósido trifosfato de aproximadamente 2 mM.

Por ejemplo, para transcribir un gen en una molécula de ARN corta aislada de 500 bases de longitud, esto requeriría un mínimo de 500 moléculas de nucleósido trifosfato por microcápsula ($8,33 \times 10^{-22} \text{ mol}$). Para constituir una solución 2 mM, este número de moléculas debe estar contenido dentro de una microcápsula de volumen $4,17 \times 10^{-19}$ litros ($4,17 \times 10^{-22} \text{ m}^3$) que, si fuera esférica, tendría un diámetro de 93 nm.

Por otro lado, particularmente en el caso de las reacciones que implican traducción, cabe señalar que los ribosomas necesarios para que se produzca la traducción, tienen un diámetro de aproximadamente 20 nm. Por lo tanto, el límite inferior preferido para las microcápsulas es un diámetro de aproximadamente 100 nm.

Por lo tanto, el volumen de la microcápsula es preferentemente del orden de entre $5,2 \times 10^{-22} \text{ m}^3$ y $52 \times 10^{-16} \text{ m}^3$ que se corresponde a una esfera de diámetro entre 0,1 μm y 10 μm , más preferentemente entre aproximadamente $5,2 \times 10^{-19} \text{ m}^3$ y $6,5 \times 10^{-17} \text{ m}^3$ (1 μm y 5 μm). Los más ventajosos son los diámetros de esferas de aproximadamente 2,6 μm .

No es casualidad que las dimensiones preferidas de los compartimentos (gotitas de diámetro medio 2,6 μm) se parezcan mucho a las de las bacterias, por ejemplo, *Escherichia* son bacilos de 1,1-1,5 x 2,0-6,0 μm y *Azotobacter* son células ovoides de 1,5-2,0 μm de diámetro. En su forma más simple, la evolución darwiniana se basa en un mecanismo de "un genotipo un fenotipo". La concentración de un único gen compartimentalizado, o genoma, disminuye desde 0,4 nM en un compartimento de 2 μm de diámetro, a 25 pM en un compartimento de 5 μm de diámetro. La maquinaria de transcripción/traducción procariótica ha evolucionado para funcionar en compartimentos de ~1-2 μm de diámetro, donde los genes individuales se encuentran a concentraciones aproximadamente nanomolares. Un solo gen, en un compartimento de 2,6 μm de diámetro tiene una concentración de 0,2 nM. Esta concentración génica es suficientemente alta como para que haya una traducción eficaz. La compartimentalización en dicho volumen también garantiza que, incluso si solo se forma una única molécula del producto génico, esté presente a aproximadamente 0,2 nM, lo que es importante si el producto génico va a tener una actividad de modificación del propio ácido nucleico. El volumen de la microcápsula se ha de seleccionar, por tanto, teniendo en cuenta no solo los requisitos de la transcripción y la traducción del ácido nucleico/ácido nucleico, sino también la actividad de modificación requerida del producto génico en el método descrito en el presente documento.

El tamaño de las microcápsulas de la emulsión puede variar simplemente adaptando las condiciones de la emulsión usadas para formar la emulsión de acuerdo con los requisitos del sistema de selección. Cuanto mayor sea el tamaño de la microcápsula, mayor será el volumen que se requerirá para encapsular un ácido nucleico/genoteca de ácido nucleico dados, ya que el factor limitante será, en última instancia, el tamaño de la microcápsula y, por tanto, el número de microcápsulas posibles por unidad de volumen.

El tamaño de las microcápsulas se selecciona no solo teniendo en cuenta los requisitos del sistema de transcripción/traducción, sino también los del sistema de selección empleado para el ácido nucleico/la construcción de ácido nucleico. Por lo tanto, los componentes del sistema de selección, tales como un sistema de modificación química, pueden requerir volúmenes de reacción y/o concentraciones de reactivo que no sean óptimas para la transcripción/traducción. Como se expone en el presente documento, dichos requisitos se pueden incluir mediante una etapa secundaria de reencapsulación. Además, se pueden incluir seleccionando el tamaño de la microcápsula con el fin de maximizar la transcripción/traducción y la selección en conjunto. Se prefiere la determinación empírica del volumen óptimo de la microcápsula y de la concentración de reactivo, por ejemplo, como se expone en el presente documento.

Un "ácido nucleico" de acuerdo con la presente invención es como se ha descrito anteriormente. Preferentemente, un ácido nucleico es una molécula o una construcción seleccionada del grupo que consiste en una molécula de ADN, una molécula de ARN, una molécula de ácido nucleico parcial o totalmente artificial que consiste exclusivamente en bases sintéticas o una mezcla de bases naturales y bases sintéticas, una cualquiera de las anteriores ligada a un polipéptido y una cualquiera de las anteriores ligada a cualquier otro grupo molecular o construcción. Ventajosamente, el otro grupo molecular o la otra construcción se seleccionan del grupo que consiste en ácidos nucleicos, sustancias poliméricas, particularmente, perlas, por ejemplo, perlas de poliestireno, sustancias magnéticas tales como perlas magnéticas, marcadores tales como fluoróforos o marcadores isotópicos, reactivos químicos, agentes de unión tales como macrociclos y similares.

La porción de ácido nucleico del ácido nucleico puede comprender secuencias reguladoras adecuadas, tales como las requeridas para una expresión eficaz del producto génico, por ejemplo, promotores, potenciadores, secuencias de inicio de la traducción, secuencias de poliadenilación, sitios de corte y empalme y similares.

Selección del producto

En el Ejemplo 1, se dan los detalles de un método preferido de realización del método descrito en el presente documento. Sin embargo, los expertos en la materia apreciarán que los ejemplos dados no son limitantes y los métodos para la selección de productos se describen en términos más generales a continuación.

Un ligando o un sustrato puede conectarse al ácido nucleico mediante una variedad de medios que serán evidentes para los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Hermanson, 1996). Bastará con cualquier marcador que permita la posterior selección del ácido nucleico. La clasificación se puede realizar mediante cualquier método que permita la separación preferente, la amplificación o la supervivencia del ácido nucleico marcado. Los ejemplos incluyen la selección mediante la unión (incluyendo técnicas basadas en la separación magnética, por ejemplo, usando Dynabeads™), y por la resistencia a la degradación (por ejemplo, mediante nucleasas, incluyendo las endonucleasas de restricción).

Una forma en la que la molécula de ácido nucleico se puede ligar a un ligando o a un sustrato es mediante biotilación. Esto puede realizarse mediante amplificación por PCR con un cebador 5' de biotilación de modo que la biotina y el ácido nucleico se unan covalentemente.

El ligando o el sustrato que se seleccionan se pueden unir al ácido nucleico modificado mediante una variedad de medios que serán evidentes para los expertos en la materia. Un ácido nucleico biotilado se puede acoplar a una microperla de poliestireno (0,035 a 0,2 μm de diámetro) que esté recubierta con avidina o estreptavidina que, por lo tanto, se unirá el ácido nucleico con afinidad muy alta. Esta cuenta se puede derivatizar con sustrato o ligando por cualquier método adecuado, tal como mediante la adición de sustrato biotilado o mediante acoplamiento covalente.

Como alternativa, un ácido nucleico biotilado se puede acoplar a avidina o estreptavidina formando un complejo con una gran molécula de proteína tal como tiroglobulina (669 Kd) o ferritina (440 Kd). Este complejo se puede derivatizar con sustrato o ligando, por ejemplo, mediante acoplamiento covalente al grupo α -amino de lisinas o mediante una interacción no covalente tal como biotina-avidina. El sustrato puede estar presente en una forma no enlazada al ácido nucleico, pero que contenga un "marcador" inactivo que requiere una etapa adicional para activarlo tal como fotoactivación (por ejemplo, de un análogo de biotina "enjaulado", (Sundberg *et al.*, 1995; Pirrung y Huang, 1996)). El catalizador que se selecciona convierte entonces el sustrato en el producto. A continuación, se podría activar el "marcador" y el sustrato "marcado" y/o producto unido por una molécula de unión al marcador (por ejemplo, avidina o estreptavidina) que forma un complejo con el ácido nucleico. Por lo tanto, la proporción del sustrato con respecto al producto unido al ácido nucleico a través del "marcador" refleja la proporción entre el sustrato y el producto en solución.

Cuando todas las reacciones se detienen y se combinan las microcápsulas, los ácidos nucleicos que codifican las enzimas activas se pueden enriquecer usando un anticuerpo u otra molécula que se una, o reaccione específicamente con, el "marcador". Aunque tanto los sustratos como el producto tienen el marcador molecular, solo los ácidos nucleicos que codifican el producto génico activo se purificarán conjuntamente.

En el presente documento, se usan los términos "aislamiento", "clasificación" y "selección", así como las variaciones de los mismos. El aislamiento, de acuerdo con la presente invención, se refiere al proceso de separación de una entidad de una población heterogénea, por ejemplo, una mezcla, de modo que esté exenta de al menos una sustancia con la que estaba asociada antes del proceso de aislamiento. En una realización preferida, el aislamiento se refiere a la purificación de una entidad, esencialmente hasta la homogeneidad. La clasificación de una entidad se refiere al proceso de aislar preferentemente entidades deseadas frente a entidades no deseadas. En la medida en que se refiera al aislamiento de las entidades deseadas, los términos "aislamiento" y "clasificación" son equivalentes. El método descrito en el presente documento permite la clasificación de ácidos nucleicos deseados a partir de combinaciones (genotecas o repertorios) de ácidos nucleicos que contienen el ácido nucleico deseado. La selección se usa para referirse al proceso (incluyendo el proceso de clasificación) de aislamiento de una entidad de acuerdo con una determinada propiedad de la misma.

La selección inicial de un ácido nucleico a partir de una genoteca de ácidos nucleicos (por ejemplo, una genoteca de taq mutante) requerirá, en la mayoría de los casos, el rastreo de un gran número de variantes de ácidos nucleicos. Las genotecas de ácidos nucleicos se pueden crear en una variedad de maneras diferentes, incluyendo las siguientes.

Se pueden clonar combinaciones de ácidos nucleicos naturales a partir de ADN genómico o ADNc (Sambrook *et al.*, 1989); por ejemplo, genotecas de Taq mutante u otras genotecas de ADN polimerasas, preparadas mediante repertorios amplificados por PCR de genes de Taq o de otras ADN polimerasas, han demostrado ser fuentes muy eficaces de fragmentos de ADN polimerasa. En los ejemplos se proporcionan más detalles.

Las genotecas también se pueden preparar mediante la codificación de todos (véase, por ejemplo, Smith, 1985; Parmley y Smith, 1988) o parte de los genes (véase, por ejemplo, Lowman *et al.*, 1991) o combinaciones de genes (véase, por ejemplo, Nissim *et al.*, 1994) mediante un oligonucleótido sintético aleatorio o dopado. Las genotecas

también se pueden preparar introduciendo mutaciones en un ácido nucleico o en una combinación de ácidos nucleicos "al azar" mediante una variedad de técnicas *in vivo*, que incluyen; el uso de "cepas mutadoras", de bacterias tales como *E. coli mutD5* (Liao *et al.*, 1986; Yamagishi *et al.*, 1990; Low *et al.*, 1996). Las mutaciones al azar, también se pueden introducir tanto *in vivo* como *in vitro* mediante mutágenos químicos y radiación ionizante o UV (véase Friedberg *et al.*, 1995.), o incorporando análogos de bases mutagénicas (Freese, 1959; Zaccolo *et al.*, 1996). Las mutaciones "aleatorias" también se pueden introducir en genes *in vitro* durante la polimerización, por ejemplo, mediante el uso de polimerasas propensas a errores (Leung *et al.*, 1989). En el método descrito en el presente documento, el repertorio de fragmentos nucleicos usado puede ser un repertorio mutante de Taq que se haya mutado usando PCR propensa a error. Los detalles se proporcionan en el Ejemplo 1. De acuerdo con el método descrito en el presente documento, el término "aleatoria" puede ser en términos de posiciones aleatorias con repertorio aleatorio de aminoácidos en esas posiciones o pueden ser posiciones seleccionadas (predeterminadas) con un repertorio aleatorio de aminoácidos en esas posiciones seleccionadas.

Se pueden introducir otras diversificaciones mediante el uso de la recombinación homóloga bien *in vivo* (véase Kowalczykowski *et al.*, 1994) o *in vitro* (Stemmer, 1994a; Stemmer, 1994b).

Microcápsulas/Clasificación

Además de los ácidos nucleicos descritos anteriormente, las microcápsulas descritas en el presente documento comprenderán componentes adicionales requeridos para que tenga lugar el proceso de clasificación. Otros componentes del sistema comprenderán, por ejemplo, los necesarios para la transcripción y/o traducción del ácido nucleico. Estos se seleccionan según los requisitos de un sistema específico entre los siguientes; un tampón adecuado, un sistema de transcripción/replicación *in vitro* y/o un sistema de traducción *in vitro* que contiene todos los ingredientes necesarios, enzimas y cofactores, ARN polimerasa, nucleótidos, ácidos nucleicos (naturales o sintéticos), ARN de transferencia, ribosomas y aminoácidos, y los sustratos de la reacción de interés con el fin de permitir la selección del producto génico modificado.

Un tampón adecuado será aquel en el que todos los componentes deseados del sistema biológico están activos, y dependerá, por tanto, de los requisitos de cada sistema de reacción específico. Los tampones adecuados para las reacciones biológicas y/o químicas son conocidos en la técnica y los protocolos proporcionados en diferentes textos de laboratorio, tales como Sambrook *et al.*, 1989.

El sistema de traducción *in vitro* comprenderá normalmente un extracto celular, por lo general, de bacterias (Zubay, 1973; Zubay, 1980; Lesley *et al.*, 1991; Lesley, 1995), reticulocitos de conejo (Pelham y Jackson, 1976) o germen de trigo (Anderson *et al.*, 1983). Muchos sistemas adecuados se encuentran disponibles en el mercado (por ejemplo, en Promega) incluyendo algunos que permitirán una transcripción/traducción acoplada (todos los sistemas bacterianos y el reticulocito y los sistemas de extractos de germen de trigo TNTTM de Promega). Si se desea, la mezcla de aminoácidos usada puede incluir aminoácidos sintéticos para aumentar el posible número o la variedad de proteínas producidas en la genoteca. Esto se puede lograr cargando los ARNt con aminoácidos artificiales y usando estos ARNt para la traducción *in vitro* de las proteínas que se van a seleccionar (Ellman *et al.*, 1991; Benner, 1994; Mendel *et al.*, 1995).

Tras cada serie de selección, se puede ensayar el enriquecimiento de la combinación de ácidos nucleicos en aquellos que codifican las moléculas de interés mediante reacciones de transcripción/replicación *in vitro*, no compartimentalizada, o reacciones acopladas de transcripción-traducción. La combinación seleccionada se clona en un vector plasmídico adecuado, y el ARN o la proteína recombinante se produce a partir de los clones individuales para una purificación y ensayo adicionales.

Identificación de microcápsulas

Las microcápsulas se pueden identificar en virtud de un cambio inducido por el producto génico deseado que se produce o se manifiesta en la superficie de la microcápsula, o es detectable desde el exterior, como se describe en el apartado iii (Clasificación de microcápsulas). Este cambio, cuando se identifica, se usa para desencadenar la modificación del gen dentro del compartimento. En un aspecto preferido descrito en el presente documento, la identificación de microcápsulas se basa en un cambio de las propiedades ópticas de la microcápsula, dando como resultado una reacción que conduce a luminiscencia, fosforescencia o fluorescencia dentro de la microcápsula. La modificación del gen dentro de las microcápsulas estaría desencadenada por la identificación de la luminiscencia, fosforescencia o fluorescencia. Por ejemplo, la identificación de la luminiscencia, fosforescencia o fluorescencia puede desencadenar el bombardeo del compartimento con fotones (u otras partículas u ondas), que conduce a la modificación del ácido nucleico. Ya se ha descrito un procedimiento similar previamente para la clasificación rápida de células (Keij *et al.*, 1994). La modificación del ácido nucleico puede ser el resultado, por ejemplo, de acoplar un "marcador" molecular, confinado por un grupo protector fotolábil, a los ácidos nucleicos: el bombardeo con fotones de una longitud de onda apropiada conduce a la eliminación del confinamiento. Tras ello, todas las microcápsulas se combinan y los ácidos nucleicos se agrupan entre sí en un entorno. Los ácidos nucleicos que codifican los productos génicos que muestran la actividad deseada se pueden seleccionar mediante purificación por afinidad, usando una molécula que se une específicamente o reacciona específicamente con el "marcador".

Procedimiento de múltiples etapas

También se apreciará que no es necesario que todos los procesos de transcripción/replicación y/o traducción, y selección procedan en una sola etapa, teniendo lugar todas las reacciones en una microcápsula. El procedimiento de selección puede comprender dos o más etapas. En primer lugar, la transcripción/replicación y/o traducción de cada ácido nucleico de una genoteca de ácido nucleico puede tener lugar en una primera microcápsula. Cada producto génico se une después al ácido nucleico que lo codifica (que reside en la misma microcápsula). A continuación, se destruyen las microcápsulas y, opcionalmente, los ácidos nucleicos fijados a sus respectivos productos génicos, se purifican. Como alternativa, los ácidos nucleicos se pueden unir a sus respectivos productos genéticos usando métodos que no dependen de la encapsulación. Por ejemplo, la presentación en fagos (Smith, G. P., 1985), la presentación en polisomas (Mattheakkis *et al.*, 1994), la fusión de ARN-péptido (Roberts y Szostak, 1997) o la fusión de péptido represor lac (Cull, *et al.*, 1992).

En la segunda etapa del procedimiento, cada ácido nucleico purificado fijado a su producto génico se coloca en una segunda microcápsula que contiene los componentes de la reacción que se van a seleccionar. A continuación, se inicia esta reacción. Una vez completadas las reacciones, las microcápsulas se vuelven a romper y se seleccionan los ácidos nucleicos modificados. En el caso de las reacciones complicadas de múltiples etapas en las que participan muchos componentes individuales y etapas de reacción, se pueden realizar una o más etapas intermedias entre la etapa inicial de creación y la unión del producto génico al ácido nucleico, y la etapa final de generación del cambio seleccionable en el ácido nucleico.

Amplificación

En todas las configuraciones anteriores, se puede amplificar el material genético comprendido en los ácidos nucleicos, y el proceso se repite en etapas iterativas. La amplificación puede ser mediante la reacción en cadena de la polimerasa (Saiki *et al.*, 1988) o usando una entre una variedad de técnicas diferentes de amplificación de genes que incluyen: amplificación con la replicasa Q β (Cahill, Foster y Mahan, 1991; Chetverin y Spirin, 1995; Katanaev, Kuraasov y Spirin, 1995); la reacción en cadena de la ligasa (LCR) (Landegren *et al.*, 1988; Barany, 1991); el sistema de replicación autosostenida de secuencias (Fahy, Kwoh y Gingeras, 1991) y la amplificación por desplazamiento de cadena (Walker *et al.*, 1992).

(B) ADN polimerasas

(i) General.

ADN polimerasas de alta fidelidad tales como Pol A (como Polimerasa Taq) y polimerasas de la familia Pol-B que carecen de la capacidad de prueba de lectura exonucleolítica 3'-5' muestran un bloqueo estricto a la extensión de terminales de cebadores 3' distorsionados o desapareados para evitar la propagación de incorporaciones erróneas. Mientras que el grado de bloqueo varía considerablemente dependiendo de la naturaleza de la falta de coincidencia, algunos desapareamientos de transversión (purina-purina/pirimidina-pirimidina) se extienden hasta 10⁶ veces menos eficazmente que los terminales apareados (Huang, 92). Del mismo modo, muchos análogos de bases artificiales, aunque incorporados de manera eficaz, actúan como fuertes terminadores (Kool, Loakes).

Los presentes inventores han modificado los principios descritos en Ghadessy, F. G *et al* (2001) *Proc. Nat Acad. Sci*, EE.UU., 93, 4552-4557 (autorreplicación compartimentada) y Ghadessy 2003, y señalados anteriormente. Ambos documentos se incorporan en el presente documento por referencia. Los presentes inventores han usado estas técnicas modificadas para desarrollar un método mediante el cual se puede ampliar la especificidad por los sustratos de ADN polimerasas de alta fidelidad de una manera genérica.

Los inventores han ejemplificado la técnica mediante la ampliación de la especificidad por los sustratos de las polimerasas de la familia pol-A de alta fidelidad. En particular, los presentes inventores crearon dos repertorios de genes *Taq* mutados al azar, como se describe en Ghadessy, F. G. *et al* (2001) mencionado anteriormente. Se realizaron tres ciclos de CSR de extensión de desapareamientos usando cebadores flanqueantes portadores de los desapareamientos A*G y C*C en sus extremos 3'. Los clones seleccionados se clasificaron usando un ensayo de extensión de PCR descrito en el presente documento.

Los mutantes seleccionados mostraron la capacidad de extender los desapareamientos de transversión G*A y C*C usados en la selección de CSR, pero también mostraron una capacidad genérica para extender terminales 3' apareados erróneamente. Estos resultados son sorprendentes, sobre todo porque Polimerasa Taq es incapaz de extender dichos desapareamientos (Kwok *et al.*, (1990); Huang (1992).

Por lo tanto, usando dicha metodología, los inventores han generado las ADN polimerasas que presentan una especificidad por los sustratos relajada/selección más amplia de sustratos.

De acuerdo con la presente invención, la expresión "selección más amplia de sustratos" (de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética) significa que la selección de sustratos de una ADN polimerasa obtenida por

ingeniería genética de acuerdo con la presente invención es más amplia que la de la una o más ADN polimerasas, o los fragmentos de las mismas, de las que se deriva. La expresión "una selección más amplia de sustratos" se refiere a la capacidad de una polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la presente invención para extender uno o más desapareamientos 3', por ejemplo, A*A, C*C, G*G, T*T y G*A, que la una o más polimerasa/s de las que se deriva no pueden extender. Es decir, esencialmente, una ADN polimerasa que presenta una selección de sustratos relajada según lo definido en el presente documento tiene la capacidad no solo de extender los desapareamientos 3' usado en su generación, (es decir, los cebadores flanqueantes), sino que también presenta una capacidad genérica para extender los desapareamientos 3' (por ejemplo, A*G, A*A, G*G).

Se seleccionaron los dos mejores mutantes M1 (G84A, D144G, K314R, E520G, F598L, A608V, E742G) y M4 (D58G, R74P, A109T, L245R, R343G, G370D, E520G, N583S, E694K, A743P) para examinarlos mejor.

M1 y M4 no solo habían aumentado enormemente la capacidad de ampliación de los desapareamientos de transversión G*A y C*C usados en la selección de CSR, sino que parecieron haber adquirido una capacidad más genérica para ampliar los terminales 3' desapareados, incluyendo otros desapareamientos de transversión muy desfavorecidos (tales como A*G, A*A, G*G) (Fig. 1B), que Polimerasa Taq de tipo silvestre no pudo ampliar, como se ha informado anteriormente (Kwok *et al* 1990, Huang 92).

(ii) Mutantes M1 y M4

Las secuencias de ácido nucleico que codifican los mutantes de ADN polimerasa pol A M1 y M4 pol se representan en SEC ID N° 1 y SEC ID N° 2, respectivamente, y se muestran en la Fig. 1 y 2, respectivamente.

A pesar de tener propiedades muy similares, M1 y M4 (y, de hecho, otros clones seleccionados) tienen pocas mutaciones en común, lo que sugiere que hay múltiples soluciones moleculares para el fenotipo de extensión de desapareamientos. Una excepción fue E520G, una mutación que es compartida por todos menos por uno de los cuatro mejores clones de la selección final. Curiosamente, E520 se encuentra en la punta del dominio de pulgar, a una distancia de 20 Å del OH 3' del terminal del cebador desapareado, y su participación en el reconocimiento o la extensión de desapareamientos no está clara. Sin embargo, E520G es claramente importante para la extensión de desapareamientos, pues la retromutación reduce la extensión de desapareamientos tanto en M1 como en M4 a niveles cercanos al de tipo silvestre (Fig. 2).

La otra única característica claramente compartida por M1 y M4 son las mutaciones dirigidas a los restos, que pueden participar en la rotación de +1 base del molde. El resto E742 mutado en M1 (E742G) forma un contacto directo con la +1 base rotada sobre la cadena del molde (Li *et al*), mientras que, en M4, el resto adyacente A743 es mutado a prolina (A743P), lo que puede perturbar las interacciones distorsionando la configuración de la cadena principal local. La retromutación de E742G en M1 redujo la extensión de desapareamientos, pero solo en aproximadamente un 20 %, lo que indica que no contribuye de manera decisiva a la extensión de desapareamientos.

Sorprendentemente, las mutaciones del dominio exonucleasa 5'-3' N-terminal (53exoD) también parecen contribuir a la extensión de los desapareamientos según lo sugerido por el aumento de 2-4 veces de la capacidad de extensión de desapareamientos de las quimeras de 53exoD de M1, M4 y PolD de Taq de tipo silvestre (Fig. 4). No está claro cómo potencian la extensión de los desapareamientos, pero dada la aparente distancia de 53exoD del sitio activo (Utz 99, Eom 96), es poco probable que implique efectos directos sobre la catálisis de la extensión. El aumento de afinidad por el dúplex de cebador-molde también podría aumentar la extensión de los desapareamientos (Huang, 92), pero las constantes de disociación de Taq de tipo silvestre, M1 y M4 para el dúplex de cebador-molde apareado y desapareado no fueron distinguibles a juzgar por un ensayo de unión de equilibrio (Huang 92) (no mostrado).

Relación de M1 y M4 con otras ADN polimerasas de origen natural

La extensión de terminales del cebador 3' desapareados es una característica de las polimerasas de origen natural. Las transcriptasas inversas virales (RT) como la RT del VIH-1 o la RT del AMV, y las polimerasas capaces de realizar la síntesis translesión (TLS), tales como las polimerasas de la familia pol-Y pol ι (Vaisman 2001JBC) o pol κ (Washington 2002 PNAS), o la poco común polimerasa de la familia pol-B pol ζ (Johnson, *Nature*), extienden desapareamientos en 3' con una eficacia elevada en comparación con las polimerasas de alta fidelidad. Por lo tanto, las polimerasas seleccionadas comparten similitudes funcionales significativas con las polimerasas preexistentes, pero representan, por lo que se sabe, el único miembro conocido de polimerasas de la familia pol-A que son competentes en la extensión de desapareamientos (ME) y la síntesis translesión (TLS). En contraste con las polimerasas TLS, que son distributivas y dependen de factores de capacidad de procesamiento celulares tales como PCNA (referencias de Prakash para eta/kappa e iota), M1 y M4 combinan la ME y la TLS con una alta capacidad de procesamiento y, en el caso de M1, son capaces de realizar la amplificación eficaz de fragmentos de ADN de hasta 26 kb.

En el caso de las RT virales, la ME puede desempeñar un papel crucial en permitir la replicación propensa a errores, aunque con capacidad de procesamiento, de un genoma viral de múltiples kb. Para las polimerasas TLS, la extensión de desapareamientos competente también es un requisito previo necesario para su función biológica,

pues los terminales de cebadores apareados y distorsionados se producen necesariamente frente a las lesiones de la cadena molde de ADN. Se cree que la capacidad de las polimerasas TLS para atravesar las lesiones de bloqueo de la replicación en el ADN surge a partir de una selección geométrica relajada en el sitio activo (Goodman 02). La capacidad de M1 y M4 para procesar tanto desapareamientos voluminosos como un dímero CPD distorsionante (dímero timidina-timidina cys-syn) hace plausible que, en analogía con las polimerasas TLS, también hayan adquirido un sitio activo más abierto. De hecho, la modelización mostró que un dímero CPD no puede alojarse en el sitio activo de la polimerasa *Taq* de tipo silvestre sin choques estéricos principales (Trincao01).

M1 (y, en menor grado, M4) también mostró un gran aumento de la capacidad de incorporación, extensión y replicación de diferentes tipos de sustratos de nucleótidos artificiales que se desvían en diversos grados de la estructura de nucleobase canónica. Entre ellos, la sustitución α S es la más conservadora. Sin embargo, el anión de azufre es significativamente mayor que el anión de oxígeno, y coordina mal los cationes, lo que puede ser una de las razones por las que la enzima de tipo silvestre no tolerará la sustitución α S completa. Los nucleótidos marcados fluorescentemente como los nucleótidos α S conservan el potencial de apareamiento de bases, pero incluyen un sustituyente voluminoso e hidrófobo que debe ser alojado por el sitio activo de la polimerasa. Los choques estéricos en el sitio activo se ven aliviados por la presencia de un enlazador largo y flexible. De hecho, los presentes inventores encuentran la biotina-16-dUTP un sustrato mucho mejor para M1 que biotina-11-dUTP, mientras que *Taq* de tipo silvestre no puede usar ninguno de ellos. El análogo hidrófobo 5NI representa la salida más drástica de la química de nucleótidos convencional examinada por los presentes inventores. De un tamaño comparable a una base de purina, 5NI carece por completo de cualquier posible puente de hidrógeno pero, a juzgar por la RMN, y al igual que las bases naturales, favorece la posición contraria al azúcar ribosa (J. Gallego, D. L. y P. H., resultados no publicados). Por lo tanto, un par de bases 5NI•A o 5NI•G se parecería mucho a un desapareamiento de una transversión de purina-purina, pudiendo provocar distorsiones similares a la geometría canónica de los dúplex de ADN. Los experimentos usando análogos de bases sin puentes de hidrógeno isostéricos han demostrado que no se requiere el puente de hidrógeno de Watson-Crick en sí para la inserción o la replicación eficaces (revisado por Kool 02). Sin embargo, mientras que muchos análogos de bases hidrófobos sin puentes de hidrógeno se incorporan de manera eficaz, posteriormente conducen a la terminación, tanto en el extremo 3' como en una base del molde (Kool, Romesberg).

Estudios estructurales y bioquímicos han identificado previamente regiones de la estructura de la polimerasa que son importantes para la diferenciación de desapareamientos tales como el motivo A (implicado en la unión dNTP entrante), la hélice-O (motivo B) y los restos que participan en la unión del hidrógeno en el surco menor (24, 25). La inspección de la secuencia de M1 y M4 revela una notoria ausencia de mutaciones en estas regiones. Bastantes mutaciones de M1 y M4 implican regiones de la polimerasa no asociadas previamente con el reconocimiento de sustratos tal como la punta del subdominio del pulgar (E520), la función de rotación de bases del molde +1 (E742, A743) en el subdominio del pulgar y el dominio de exonucleasa 5'-3' (53exoD).

53exoD se encuentra demasiado lejos del sitio activo como para tener efectos directos sobre la extensión de los desapareamientos. Sin embargo, se cree que es crucial para la capacidad de procesamiento de la polimerasa y, por tanto, puede influir en la extensión de los desapareamientos (24). De hecho, el fragmento de Stoffel de la polimerasa *Taq* (26), que carece de 53exoD, muestra tanto una capacidad de procesamiento reducida como una diferenciación de los desapareamientos más rigurosa (27). Las mutaciones producidas en 53exoD de M1 y M4 pueden, por tanto, contribuir a la extensión de los desapareamientos mediante el aumento de la capacidad de procesamiento de la polimerasa. Junto con la capacidad para evitar los sitios básicos (generada en grandes fragmentos de ADN durante el termociclado), esto también puede contribuir a la competencia de M1 en la PCR prolongada (Fig. 5). E520 se encuentra en la punta del dominio pulgar, al final de la hélice H2, a una distancia de 20 Å de OH 3' de la base terminal del cebador desapareado (P1) (2). Por lo tanto, los aspectos mecánicos de la participación de la mutación E520G en el reconocimiento o la extensión de los desapareamientos tampoco son obvios. Cabe señalar, sin embargo, que las regiones adyacentes, especialmente el bucle anterior que conecta las hélices H1 y H2, y las partes de la hélice I, crean amplios contactos con el dúplex de molde-cebador entre P3-P7 (2). Previamente, se ha observado que la incorporación de los desapareamientos afecta a la cinética de extensión hasta la posición P4 (24). E520G puede modificar la estructura de estas regiones para facilitar el paso de los desapareamientos y aumentar la eficacia del alargamiento tras la incorporación. La rotación de bases, es decir, la rotación de la base designada hacia fuera del eje de la hélice de ADN, es un mecanismo común entre las enzimas que modifican el ADN (por ejemplo, las glucosilasas), pero su papel exacto en la función de la polimerasa está menos claro. Se ha especulado que la rotación de la base del molde +1 puede contribuir a la fidelidad de la polimerasa, evitando el apareamiento de bases de fuera de registro (25) del nucleótido 3' con las bases del molde secuencia arriba afines. La interferencia con este mecanismo, por tanto, podría potenciar la extensión aparente de los desapareamientos, pero produciría eliminaciones de 1 base. Sin embargo, ni las extensiones de los cebadores ni la secuenciación de los productos de PCR generados con M1 o M4 usando cebadores con los desapareamientos 3' G•A y C•C revelaron ningún deslizamiento del molde, sino que, por el contrario, se confirmó la extensión en registro de los desapareamientos (no mostrada). La utilidad de la reducción de la rotación de bases en el contexto de la capacidad TLS de M1 y M4 es más fácil de entender, sobre todo en el dímero CPD, pues las dos bases de timina del molde unidas covalentemente serían refractarias a la rotación. De hecho, las polimerasas TLS que, de manera natural, son capaces de evitar los dímeros CPD, parecen carecer de una función de rotación de bases (28).

Cinética de extensión e incorporación de las polimerasas

El examen de la cinética de extensión e incorporación de las polimerasas mutantes sugiere que tienen una propensión significativamente mayor a no solo ampliar, sino también incorporar desapareamientos de transversión y, por consiguiente, deberían tener una tasa de mutación significativamente mayor en comparación con la enzima de tipo silvestre. También cabría esperar una selección geométrica más relajada en el sitio activo a costa de una fidelidad significativamente reducida como ocurre, de hecho, en el caso de las polimerasas TLS (23). Sin embargo, la medición de la tasa global de mutación usando el ensayo de MutS (no mostrado) y la secuenciación de los productos de PCR generados por M1 solo indicaron un modesto aumento (inferior al doble) de la tasa de mutación (Tabla 1), debido principalmente a un aumento de la propensión a la transversión. Como se ha descrito previamente (10), la CSR debería seleccionar tasas de auto-mutación óptimas en el umbral de error (31). Un cambio en el espectro de mutación hacia una distribución más uniforme de las mutaciones de transición y transversión puede ser una solución eficaz para acelerar la adaptación, a la vez que se mantiene una distancia saludable con el umbral de error. Esto también puede hacer de M1 una herramienta útil para el diseño por ingeniería genética de proteínas, pues el sesgo de Taq (y otras ADN polimerasas) para las mutaciones de transición limita las regiones del espacio secuencial a las que se puede acceder de manera eficaz usando mutagénesis por PCR.

Tabla 1: espectro de mutación de Taq de tipo silvestre y M1 en la PCR

	Transiciones		Transversiones			Eliminaciones	
	AT→GC	GC→AT	AT→TA	AT→CG	GC→TA	GC→CG	
Taq TW*	25	9	8	2	3	1	3
M1*	25	16	15	4	5	10	1

*Mutaciones derivadas de la secuenciación de 40 clones (800 pb) cada una.

En resumen, las ADN polimerasas descritas en el presente documento, en particular M1 y M4, respectivamente, representadas en SEC ID N° 1 y SEC ID N° 2, poseen las siguientes propiedades:

- (1) La síntesis translesión de ADN;
- (2) Una capacidad genérica para incorporar análogos de bases artificiales al ADN;
- (3) M1 tiene la capacidad de amplificar de manera eficaz dianas de ADN de hasta 26 kb.

Usos de las ADN polimerasas descritas en el presente documento

La evolución dirigida hacia la extensión de los desapareamientos de transversión distorsionantes como G*A o C*C por CSR produce nuevas polimerasas "sin pretensiones" con una capacidad para realizar no solo la extensión de los desapareamientos y la TLS eficaces, sino también para aceptar una selección de sustratos de nucleótidos artificiales. Los presentes inventores han demostrado que la evolución de TLS de polimerasas de alta fidelidad, de la familia pol-A, la familia pol-B u otras polimerasas requiere unas cuantas mutaciones, lo que sugiere que la TLS y el reconocimiento relajado de sustratos están relacionados funcionalmente, y pueden representar un estado predeterminado de la función de la polimerasa, en lugar de una especialización.

Las propiedades poco comunes de las ADN polimerasas descritas en el presente documento, en particular, de M1 y M4, pueden tener usos inmediatos, por ejemplo, para mejorar la incorporación de nucleótidos modificados con colorante en la secuenciación y el marcaje de matrices y/o la amplificación de dianas de ADN ultra-largas. Pueden ser útiles para la amplificación de moldes de ADN dañados en la medicina forense o la paleobiología, pueden permitir una ampliación del repertorio químico de los aptámeros o de las desoxirribosimas (Benner, Barbas, revisión de las ribosimas) y pueden ayudar en los esfuerzos por ampliar el alfabeto genético (Benner, Schultz). El espectro de mutaciones modificadas de M1 puede convertirse en una herramienta útil en los experimentos de mutagénesis aleatoria, pues el fuerte sesgo de Taq y otras polimerasas hacia las transiciones (A→G, T→C) limita la diversidad combinatoria accesible a través de la mutagénesis por PCR. Además, la capacidad de M1 y M4 para extender los extremos 3' en los que la última base no coincide con la cadena del molde, y la capacidad de H10 (véase el Ejemplo 6) para extender los extremos 3' en los que las dos últimas bases no coinciden con la cadena del molde pueden ampliar el alcance de los métodos de transposición de ADN (Stemmer), permitiendo recombinar secuencias más alejadas.

Además, las ADN polimerasas descritas en el presente documento, en particular, las polimerasas Pol A, por ejemplo, las polimerasas Pol A M1 y M4 descritas en el presente documento, pueden servir como un marco útil para la mutagénesis y la evolución hacia las polimerasas capaces de utilizar una selección cada vez más amplia de sustratos de nucleótidos modificados. Los inventores anticipan que la evolución dirigida, en última instancia, puede permitir la modificación de la propia química de las polimerasas, lo que permite la creación de polímeros de tipo ADN amplificables de secuencia definida, extendiendo de este modo la evolución molecular a la ciencia de materiales.

A continuación, se describirá la invención mediante los siguientes ejemplos, que, bajo ningún concepto, son limitantes de la invención reivindicada en el presente documento.

Ejemplo 1

5

Métodos generales

Lista de cebadores:

- 10 1: 5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACA AAA ATC TAG ATA ACG AGG GTA-3'; desapareamiento A•G
 2: 5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTA CCA CCG AAC TGC GGG TGA CGC CAA GCC-3; desapareamiento C•C
 3: 5'-AAA AAT CTA GAT AAC GAG GGC AA-3'
 4: 5'-ACC ACC GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC G-3'
 15 5: 5'-GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC GCA 3'; desapareamiento A•A
 6: 5'-CC GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC GG 3'; desapareamiento G•G
 7: 5'-GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC GCG3'; desapareamiento G•A
 8: 5'-AAA AAT CTA GAT AAC GAG GGC AA-3'
 9: 5'-CCG ACT GGC CAA GAT TAG AGA GTA TGG-3'
 20 10: 5'-GAT TTC CAC GGA TAA GAC TCC GCA TCC-3'
 11: 5'-GGC AGA CGA TGA TGC AGA TAA CCA GAG C-3'
 12: 5'-GCC GAT AGA TAG CCA CGG ACT TCG TAG-3'
 13: 5'-GGA GTA GAT GCT TGC TTT TCT GAG CC-3'
 14: 5'-GAG TTC GTG CTT ACC GCA GAA TGC AG-3'
 25 15: 5'-ACC GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC G 3'
 16: 5'-ACC GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC C 3'
 17: 5'-ACC GAA CTG CGG GTG ACG CCA AGC A 3'
 18: 5'-AAA CAG CGC TTG GCG TCA CCC GCA GTT CGG T-3'
 19: 5'-AAA CAG GGC TTG GCG TCA CCC GCA GTT CGG T-3'
 30 20: 5'-AAA CAG AGC TTG GCG TCA CCC GCA GTT CGG T-3'
 21: 5'-AAA CAC CGC TTG GCG TCA CCC GCA GTT CGG T-3'
 22: 5'-AGC TAC CAT GCC TGC ACG AAT TCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG GTC GCA GCG-3' (intacto)
 23: 5'-AGC TAC CAT GCC TGC ACG ACA XCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG GTC GCA GCG-3'; X = sitio abásico
 35 24: 5'-AGC TAC CAT GCC TGC ACG AAX XCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG GTC GCA GCG-3, XX = dímero CPD
 25: 5'-CGT GGT CGC GAC GGA TGC CG-3'
 26: 5'-TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGA GA-3'
 27: 5'-ACT GXT CTC CCT ATA GTG AGT CGT ATT A-3'; X = 5NI.

40

Materiales y métodos

45 Manipulación del ADN y expresión de proteínas. La expresión de clones de Taq para la detección y la selección de CSR fue como se describe (10). Para las mediciones cinéticas y los ensayos de extensión en gel, se purificaron las polimerasas como se describe (32) usando una resina de intercambio iónico Biorex70 (BioRad). Todas las extensiones de PCR y de cebador se realizaron en 1 x tampón de Taq (KCl 50 mM/Tris•HCl 10 mM (pH 9,0)/Triton X-100 al 0,1 %/MgCl₂ 1,5 mM), con dNTP (0,25 mM (Amersham Pharmacia Biotech, NJ)) y cebadores apropiados a menos que se especifique lo contrario. Las secuencias de los cebadores se proporcionan en la información complementaria. Las reacciones de extensión de cebadores se terminaron mediante la adición de formamida al
 50 95 %/EDTA 10 mM, y se analizan en geles de poliacrilamida al 20 %/urea 7 M.

Selección de CSR. Se combinaron genotecas previamente seleccionadas por su actividad L1* y L2* (10) y se realizaron 3 series de selección de CSR como se describe (10), a excepción del uso de los cebadores 1: (desapareamiento A•G) y 2: (desapareamiento C•C) y 15 ciclos de (94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 8 min). Se recombinaron los clones de la serie 2 mediante un proceso de extensión escalonada (StEP) de transposición por
 55 PCR (33) como se describe. Para la serie 3, los ciclos de CSR se redujeron a 10 y tiempos de hibridación de hasta 30 s.

60 PCR. Se usó un ensayo de PCR para rastrear y clasificar los clones. En resumen, se normalizaron los clones en cuanto a la actividad en la PCR con los cebadores apareados 3, 4 y la actividad con los cebadores desapareados 1 y 2 (1 μM de cada) determinados a un número de ciclos mínimo (15-25 ciclos). Se determinó la capacidad de extensión para los diferentes desapareamientos mediante el mismo ensayo usando los cebadores de desapareamiento 2 (desapareamiento C•C), 5 (desapareamiento A•A), 6 (desapareamiento G•G), 7 (desapareamiento G•A) con el cebador apareado 3 o el cebador 1 (desapareamiento A•G) con el cebador apareado
 65 4. Se llevó a cabo la incorporación de sustratos artificiales en una PCR de 50 ciclos usando condiciones convencionales y dNTP αS 50 μM (Promega) o FITC-12-dATP 50 μM (Perkin-Elmer), rodamina-5-dUTP (Perkin-

Elmer) o biotina-16-dUTP (Roche) con cantidades equivalentes de los otros 3 dNTP (todos a 50 μ M). Se llevó a cabo una PCR larga usando un protocolo de ciclos de dos etapas como se describe (22) a 94 °C durante 2 minutos, seguido de 20 ciclos de (94 °C 15 s, 68 °C 30 min) usando 5 ng de molde de ADN de fago λ (New England Biolabs) y cualquier cebador 9, 10, 11 con el cebador 12, o el cebador 13 con los cebadores 10 y 14.

Cinética de incorporación/extensión de un solo nucleótido. Los parámetros cinéticos se determinaron usando un ensayo basado en gel esencialmente como se describe (16). Se marcaron con 32 P los cebadores 15, 16, 17 (base 3' = G, C, A, respectivamente) y se hibridaron a una de las cadenas de molde 18, 19, 20 (base de molde = C, G, A, respectivamente) o 21 (base de molde C, contexto diferente). Los sustratos de dúplex se usaron a una concentración final de 50 nM en 1 x tampón de Taq con diversas concentraciones de enzima y dNTP. Las reacciones se llevaron a cabo a 60 °C durante tiempos mediante los que se utilizó menos del 20 % de cebador-molde a la mayor concentración de dNTP.

Ensayos de afinidad por los moldes. Se usó un ensayo de unión de equilibrio (12) para determinar la afinidad relativa de las polimerasas por los cebador-moldes desapareados usados en los ensayos de cinética. Las polimerasas se incubaron previamente a 60 °C en 1 x tampón de Taq con cebador-molde apareado marcado con 32 P 50 nM y cebador-moldes competidores desapareados sin marcar 50 nM. Las reacciones se iniciaron mediante la adición simultánea de dCTP (200 μ M) y ADN trampa (ADN de esperma de salmón cortado restringido a *Xba*I/*Sa*I, 4,5 mg/ml). Experimentos anteriores demostraron la eficacia de la trampa en el período de tiempo usado (15 segundos).

Ensayo de replicación de translesiones. Los cebadores de molde 22 (intacto) o 23 (que contiene un sitio abásico sintético) fueron sintetizados por los laboratorios Lofstrand (Gaithersburg, MD). El cebador de molde 24 (que contenía un solo dímero de timina *cis-syn*), se sintetizó como se describe (34). El cebador 25 se marcó con 32 P y se hibridó a uno de los tres moldes 22, 23, 24 (a una proporción molar de cebador con respecto al molde de 1:1,5) y se extendió en Tris•HCl 40 mM a pH 8,0, MgCl₂ 5 mM, 100 μ M de cada dNTP, DTT 10 mM, 250 μ g/ml de BSA, glicerol al 2,5 %, ADN de cebador-molde 10 nM y 0,1 unidades de polimerasa a 60 °C durante diversos tiempos.

Ensayo de replicación de 5NI. Se marcó con 32 P y se hibridó el cebador 26 al cebador de molde 27 (que contiene un solo 5-nitroindol) en 1 x tampón de Taq, y 0,1 o 0,5 unidades de la polimerasa, y se incubaron las reacciones a 60 °C durante 15 minutos, tras lo que se añadieron 40 μ M de cada dNTP, y se prosiguió la incubación a 60 °C durante diversos períodos de tiempo.

Ensayos de fidelidad. Se determinaron las tasas de mutación usando el ensayo ELISA de mutS (Genecheck, Ft. Collins, CO) o mediante la realización de 2 x 50 ciclos de PCR en tres moldes diferentes y la secuenciación de los productos clonados.

Ejemplo 2 (solo como referencia)

Análisis cinético. Se midieron la extensión y la incorporación cinética de M1 y M4 para una selección de desapareamientos usando un ensayo cinético basado en gel en estado estacionario (Goodman) (Tablas 1 y 2). M1 y M4 extienden, respectivamente, un desapareamiento C•C 390 y 75 veces más eficazmente que Taq de tipo silvestre. El examen del resto de desapareamientos más desfavorecidos (G•A, A•G, A•A, G•G) revela aumentos genéricos, aunque menos pronunciados, de las eficacias de extensión, como lo sugiere el ensayo de PCR (Fig. 4, Fig. 5). El aumento de la eficacia de la extensión se deriva principalmente del aumento de los valores de V_{\max} relativos para las polimerasas mutantes, mientras que la K_m para los sustratos de nucleótidos permanece prácticamente invariable. Para la mayoría de las ADN polimerasas, la eficacia relativa de extensión de un desapareamiento dado (f_{ext}) es similar a la eficacia relativa de formación del mismo (f_{inc}) (Goodman 1.993, Goodman 1990, Washington 2001). De hecho, M1 y M4, respectivamente, incorporan la base C de molde opuesta a dCTP 206 y 29 veces más eficazmente que Taq de tipo silvestre (Tabla 2).

Tabla 2: Parámetros cinéticos en estado estacionario para la cinética de extensión por Taq de tipo silvestre y polimerasas mutantes

Par de bases terminal 3' *	Polimerasa	V_{\max} (%Min ⁻¹)	K_m (μ M)	f^{\dagger}	$f_{\text{ext}}^{\ddagger}$	Proporción de f_{ext}^{\S}
C•G	Taq WT	1477,0	0,016	92312,5	-	-
	M1	308,0	0,02	15400	-	-
	M4	817,0	0,012	68083	-	-
C•C	Taq WT	0,2	39,9	0,00546	$5,9 \times 10^{-8}$	1,0
	M1	9,2	25,8	0,356	$2,3 \times 10^{-5}$	390,0
	M4	11,1	36,6	0,303	$4,5 \times 10^{-6}$	75,3
G•A	Taq WT	1,6	32,8	0,05	$5,4 \times 10^{-7}$	1,0
	M1	2,4	22,0	0,111	$7,2 \times 10^{-6}$	13,3
	M4	7,5	29,0	0,26	$3,8 \times 10^{-6}$	7,0
A•G	Taq WT	28,0	45,2	0,02	$2,1 \times 10^{-7}$	1,0
	M1	44,6	280,2	0,02	$1,3 \times 10^{-6}$	6,2

Par de bases terminal 3' *	Polimerasa	V _{máx} (%Min ⁻¹)	K _m (μM)	f [†]	f _{ext} [‡]	Proporción de f _{ext} [§]
	M4	50,0	259,0	0,1	1,5 x 10 ⁻⁶	7,0
A•A	Taq WT	1,7	27,3	0,062	6,7 x 10 ⁻⁷	1,0
	M1	1,5	40,9	0,037	2,4 x 10 ⁻⁶	3,6
	M4	8,5	32,9	0,259	3,8 x 10 ⁻⁶	5,7
G•G	Taq WT	20,4	174,0	0,117	1,3 x 10 ⁻⁶	1,0
	M1	29,6	67,0	0,44	2,9 x 10 ⁻⁵	22,5
	M4	70,6	107,0	0,66	9,7 x 10 ⁻⁶	7,6

*base de molde:base de cebador 3'; la base incorporada es dCTP.
[†]f, eficacia enzimática = V_{máx}/K_m
[‡]f_{ext}, f (extremo 3' desapareado)/f (extremo apareado)
[§]f_{ext} (polimerasa mutante)/f_{ext} (Taq TW)

Tabla 2: Parámetros cinéticos en estado estacionario para la cinética de incorporación por Taq de tipo silvestre y polimerasas mutantes

Par de bases*	Polimerasa	V _{máx} (%Min ⁻¹)	K _m (μM)	f [†]	f _{inc} [‡]	Proporción de f _{ext} [§]
G:dCTP	Taq WT	1477	0,016	92312,5	-	-
	M1	308	0,02	15400	-	-
	M4	817	0,012	68083	-	-
G:dGTP	Taq WT	57,47	365,27	0,157	1,7 x 10 ⁻⁶	1
	M1	215,98	377,1	0,573	3,72x 10 ⁻⁵	21,88
	M4	656,46	82,34	7,97	1,17 x 10 ⁻⁴	68,82
G:dATP	Taq WT	1973,68	258,53	7,63	8,27 x 10 ⁻⁵	1
	M1	681,82	257,2	2,65	1,72 x 10 ⁻⁴	2,08
	M4	1935,48	157,77	12,27	1,80 x 10 ⁻⁴	2,18
G:dTTP	Taq WT	25,08	1,64	15,29	1,65 x 10 ⁻⁴	1
	M1	10,19	1,65	6,18	4,01 x 10 ⁻⁴	2,43
	M4	63,20	5,10	12,39	1,82 x 10 ⁻⁴	1,1
C: dGTP	Taq WT	2356,02	0,0366	64285,69	-	-
	M1	111,66	0,0387	2884,55	-	-
	M4	335,42	0,01	33542	-	-
C: dCTP	Taq WT	3,3	1330,89	0,0025	3,86 x 10 ⁻⁸	1
	M1	6,08	264,14	0,023	7,97 x 10 ⁻⁶	206,74
	M4	52,63	1390,63	0,0378	1,13 x 10 ⁻⁶	29,22

*base de molde:nucleótido entrante.

[†]f, eficacia enzimática = V_{máx}/K_m

[‡]f_{inc}, f (dNTP incorrecto)/f (dNTP correcto)

[§]f_{inc} (polimerasa mutante)/f_{inc} (Taq TW)

5 Ejemplo 3 (solo para referencia)

Síntesis translesión. Los desapareamientos de transversión representan desviaciones de distorsión de la estructura dúplex afín. Por ello, se investigó si M1 y M4 eran capaces de procesar otras desviaciones de la estructura del ADN, tales como las lesiones de la cadena molde. Usando un ensayo de extensión en gel se examinó su capacidad para atravesar un sitio abásico y una lesión de la cadena molde del dímero de timina pirimidina *cis-syn* (CPD). En los ensayos de control, usando un molde intacto, Taq de tipo silvestre, M1 y M4 extendieron eficaz y rápidamente los cebadores hasta el extremo del molde (Fig. 5). En el molde que contenía un sitio abásico, Taq de tipo silvestre inserta de manera eficaz una base frente a la lesión, pero, se inhibe en gran medida la posterior extensión. Por el contrario, tanto M1 como M4 son capaces de realizar la extensión más allá de la lesión y hasta el final del molde. El tamaño del producto final es similar al observado en el molde intacto, lo que indica que se produjo la evitación sin eliminaciones. Tal vez el ejemplo más llamativo de la competencia de M1 y M4 para evitar las lesiones del molde se observa en el molde que contiene CPD (Fig. 5). En las condiciones de ensayo, Taq de tipo silvestre utiliza una fracción del molde disponible y solo es capaz de insertar una base opuesta a T 3' del dímero después de condiciones de reacción prolongadas. Por el contrario, tanto M1 como M4 son capaces de extender fácilmente todo el cebador hasta T 3' del dímero. Además, también existe una considerable extensión de estos cebadores hasta T 5'

del CPD. Al igual que con el molde abásico, una fracción significativa de estos cebadores se extiende posteriormente por completo hasta el final del molde de una manera exenta de errores sin eliminaciones. Los presentes inventores estimaron que la síntesis translesión (TLS) realizada por M1 y M4 solo puede ser 2-5 veces menos eficaz que la observada con una polimerasa TLS de origen natural, Dpo4 de *S. solfataricus* (Boudsocq *et al* (2001), *Nucleic Acid Res*, 29, 46072001) en el mismo molde.

Ejemplo 4 (solo para referencia)

Sustratos artificiales. Los presentes inventores sostienen que la selección geométrica relajada también podría ayudar a la incorporación de análogos de bases artificiales, algunos de los cuales inhiben o detienen la actividad de la polimerasa debido al mal ajuste geométrico o a la falta de interacción bien con la polimerasa o con la cadena molde. Un primer ejemplo conservador son los nucleótidos trifosfato fosfotioato (dNTP α S), en los que uno de los átomos de oxígeno del grupo fosfato α se reemplaza por azufre. Como parte de una mezcla de dNTP, los dNTP α S, en general, son bien aceptados como sustratos por las ADN polimerasas, pero cuando se reemplazaron los cuatro dNTP por sus homólogos α S en la PCR, Taq de tipo silvestre no pudo generar ningún producto de amplificación, mientras que M1 (y, en utilizar dNTP α S con una eficacia mucho mayor en comparación con la enzima de tipo silvestre (Fig. 6). Como era de esperar, el ADN de α S resultante era totalmente resistente a la escisión por endonucleasas de ADN (no mostrado). Los nucleótidos portadores de aductos voluminosos tales como colorantes fluorescentes se usan ampliamente en aplicaciones tales como la secuenciación de terminación con colorante o el marcaje con matriz. Aunque, en general, son bien tolerados, se incorporan de manera considerablemente menos eficaz que los sustratos de dNTP naturales, y pueden causar la terminación prematura de las series homopoliméricas, presumiblemente a causa de la aglomeración estérica debido a las moléculas de colorante voluminosas. En la PCR, el efecto se potencia debido a que tanto el molde como las cadenas de producto están marcados. Al reemplazar dUTP por biotina-16-dUTP o dATP por FITC-12-dATP en la PCR, Taq de tipo silvestre fue incapaz de generar algún producto de amplificación, mientras que M1 fue capaz de generar productos de amplificación de 2,7 kb totalmente marcados con biotina-16-dUTP o de 0,4 kb totalmente marcados con FITC-12-dATP (Fig. 6). Recientemente, ha habido un gran interés por los análogos de bases sin puentes de hidrógeno hidrófobos y por las aplicaciones a las que pueden dar lugar. Uno de ellos es el candidato a "base universal" 5-nitroindol (5NI) (Loakes y Brown 96) que, como otros análogos de bases hidrófobas, muy apiladas, se acepta fácilmente como sustrato, pero una vez incorporado, actúa como un potente terminador en el extremo 3' y como una base molde. Por el contrario, M4 y, en particular M1 evitan de manera eficaz 5NI de la cadena molde (Fig. 6) y, en un menor grado, extienden 5NI en el extremo 3' (no mostrado).

Ejemplo 5 (solo como referencia)

PCR larga. En general, el tamaño de los productos de la amplificación con Taq de tipo silvestre se limita a fragmentos de unas cuantas kb de longitud, pero puede extenderse a dianas mucho más largas mediante la inclusión de una polimerasa con actividad de prueba de lectura (Barnes 92). Los presentes inventores encontraron que las polimerasas seleccionadas, y en particular M1, era capaz de amplificar de manera eficaz dianas de hasta 26 kb (Fig. 7), usando condiciones convencionales de PCR en ausencia de polimerasas auxiliares u otros factores de capacidad de procesamiento. En las mismas condiciones, la enzima Taq de tipo silvestre no pudo amplificar dianas de más de 9 kb. Se cree que el fundamento molecular para la limitación del tamaño de los productos en la enzima de tipo silvestre es la terminación prematura debido a una incapacidad para extender los desapareamientos tras la incorporación errónea de nucleótidos. Se cree que estos son eliminados por la polimerasa con actividad de prueba de lectura, permitiendo el reinicio de la extensión. Los presentes resultados de que la capacidad genérica de extensión de desapareamientos da lugar a un intervalo de amplificación igualmente ampliado apoya este concepto.

Ejemplo 6: Genotecas de quimeras de polimerasas (solo como referencia)

Se construyeron genotecas de variantes de genes de polimerasas quiméricas usando una técnica de transposición de genes denominada protocolo de extensión escalonada (StEP, (Zhao, Giver *et al.*, 1998)). Esta técnica permite que dos o más genes de interés de diferentes especies se recombinen aleatoriamente para producir quimeras, cuya secuencia contiene partes de los genes parentales de entrada originales.

Thermus aquaticus (Taq) de tipo silvestre, y las polimerasas T8 (un variante de Taq 11 veces más termoestable seleccionada previamente (Ghadessy, Ong *et al.*, 2001)), *Thermus thermophilus* (*Tth*) y *Thermus flavus* (*Tfl*) se habían amplificado previamente a partir de ADN genómico y se clonaron en pASK75 (Skerra 1994), y se ensayó su actividad. Entonces, se redistribuyeron estos genes usando el protocolo de extensión escalonada (StEP) según lo descrito (Zhao, Giver *et al.*, 1998) con (CAG GAA ACA TCG ATG ACA AAA ATC TAG ATA ACG AGG GCA A y GTA AAA CGA CG G CCA GTA CCA CCG AAC TGC GGG TGA CGC CAA GCG), se volvieron a clonar en pASK75 y se transformaron en TG1 de *E. coli*. Se puntuó el tamaño de la genoteca mediante ensayos de dilución y determinando la proporción de los clones que contenían inserto usando la selección por PCR, y resultó ser de aproximadamente 10^6 . Una digestión de restricción de diagnóstico de 20 clones produjo 20 patrones de restricción únicos, lo que indicó la diversidad de la genoteca. La posterior secuenciación de quimeras seleccionadas mostró una media de 4 a 6 cruces por gen.

Ejemplo 7: Selección de dos polimerasas de extensión de desapareamientos (solo como referencia)

Se realizó la emulsión y la selección CSR en el StEP de la genoteca de *Taq*, *Tth* y *Tfl* esencialmente como se describe (Ghadessy, Ong *et al.* 2001). Los cebadores desapareados con dos desapareamientos en su extremo 3' (5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTT TAT TAA CCA CCG AAC TGC-3', 5' -CAG GAA ACA TCG ATG ACT CGA CAA AAA TCT AGA TAA CGA CC-3') se incluyeron en la emulsión como la fuente de presión selectiva. Se extrajo la fase acuosa en éter, se purificó por PCR (Qiagen, Chatsworth, CA) con un GñHCl al 35 % adicional, se digirió con *DpnI* para eliminar el ADN de plásmido metilado, se trató con ExoSAP (USB) para eliminar los cebadores residuales, se volvió a amplificar con cebadores desanidados, y se volvió a clonar, transformándose en *E. coli* como se ha explicado anteriormente.

Se rastrearon los clones resultantes y se calificaron mediante un ensayo de PCR. En resumen, se añadieron 2 µl de células inducidas a 20 µl de mezcla de PCR con los cebadores desapareados pertinentes. Entonces, se sometieron los clones que produjeron una banda a un posterior análisis y se secuenciaron los clones más activos.

En particular, el clon H10 tiene una actividad significativa en los cebadores con dos desapareamientos. H10 es una quimera de *T. aquaticus* de tipo silvestre (restos 4 a 20 y 221 a 640), T8 (restos 1 a 3 y 641 a 834) y *T. thermophilus* (restos 21 a 220). H10 tiene cinco sitios de cruce detectables y 13 mutaciones puntuales, siendo 4 de ellas silenciosas (F74 → I, F280 → L, P300 → S, T387 → A, A441 → V, A519 → V Q536 → R, R679 → G, F699 → L).

Ejemplo 8: Selección de una polimerasa de extensión de 4 desapareamientos

Se realizó la emulsión y la selección CSR en el StEP de la genoteca de *Taq*, *Tth* y *Tfl* esencialmente como se describe (Ghadessy, Ong *et al.* 2001). La genoteca se había clonado previamente en pASK75 (véase el Ejemplo 6). Se extrajo la fase acuosa en éter y los productos de replicación se purificaron usando un kit de purificación de PCR (Qiagen, Chatsworth, CA), incluyendo un lavado con un GñHCl al 35 %. Se digirieron 7 µl de productos de replicación purificados (de 48) con 1 µl de *DpnI* (20 unidades) para eliminar el ADN de plásmido y se trataron con 2 µl de ExoSAP (USB) para eliminar los cebadores residuales durante 1 hora a 37 °C y se volvieron a amplificar con cebadores desanidados (GTAAAACGACGGCCAGT y CAGGAAACAGCTATGAC, 94 °C 2 minutos y, a continuación 30 ciclos de 94 °C durante 30 segundos, 50 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 5 minutos con una temperatura final de 65 °C durante 10 minutos). Los productos de la nueva amplificación se digirieron con *XbaI* y *Sall*, se volvieron a clonar en pASK75 y se transformaron en *E. coli* como se ha descrito anteriormente.

En paralelo, se usó una metodología de selección alternativa: se emulsionó la genoteca inducida como se ha explicado anteriormente, con la presencia adicional de dUTP biotinilado, y se incubó a 94 °C durante 5 minutos, a 50 °C durante 1 minuto y a 72 °C durante 1 minutos. Se extrajo la fase acuosa en éter, se precipitó el ADN en la fase acuosa mediante la adición de 1/10 de volumen de NaAc 3M, 1 µl de glucógeno y 2,5 volúmenes de etanol al 100 %. A continuación, se incubó esto durante 1 hora a -20 °C, se centrifugó a 13.000 rpm durante 30 minutos en un microcentrifugador de sobremesa, se lavó con etanol al 70 % y se volvió a suspender en 50 µl de tampón EB (Qiagen). Se lavaron 20 µl de Dynabeads (DynaL Biotech) dos veces y se volvieron a suspender en 20 µl de tampón de perlas (Tris 10 mM, pH 7,5, EDTA 1 mM, NaCl 0,2 M). Entonces, se mezclaron las perlas lavadas con la selección en un volumen total de tampón de perlas de 0,5 ml y luego se incubaron durante la noche con agitación constante a temperatura ambiente para capturar los productos biotinilados. Se lavaron las perlas dos veces en tampón de perlas, dos veces en tampón EB y, finalmente, se volvieron a suspender en 50 µl de tampón de perlas. Se volvieron a amplificar las perlas con los cebadores desanidados (secuencias y programa anteriores) y se volvieron a clonar y transformar en *E. coli* como antes.

Se usaron dos conjuntos de cebadores desapareados con cuatro desapareamientos en su extremo 3' (subrayados) (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACA AAA GTG AAA TGA ATA GTT CGA CTTTT-3' y 5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTC TTC ACA GGT CAA GCT TAT TAA GGTG-3' como primer conjunto, y 5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACC ATT GAT AGA GTT ATT TTA CCA CAGGG-3' y 5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTC TTC ACA GGT CAA GCT TAT TAA GGTG-3', como segundo conjunto) en la emulsión como dos fuentes separadas fuente de presión selectiva.

Se rastrearon los clones resultantes tanto de la CSR como de la CST, y se calificaron mediante un ensayo de PCR. En resumen, se añadieron 2 µl de células inducidas a 20 µl de mezcla de PCR con los cebadores con 4 desapareamientos pertinentes. Entonces, se sometieron los clones que produjeron una banda a un posterior análisis, y se examinó su actividad en cebadores de un solo desapareamiento, de dos desapareamientos o de cuatro desapareamientos (cebadores de un solo desapareamiento: 5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACA AAA ATC TAG ATA ACG AGG GA-3' and 5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTA CCA CCG AAC TGC GGG TGA CGC CAA GCC 3'; cebadores de desapareamiento doble: CAG GAA ACA GCT ATG ACT CGA CAA AAA TCT AGA TAA CC y GTA AAA CGA CGG CCA GTT TAT TAA CCA CCG AAC TGC; cebadores de cuatro desapareamientos anteriores). No se encontraron polimerasas que pudieran extender todos estos desapareamientos, aunque muchas polimerasas pudieron realizar uno solo de los desapareamientos y ninguna pudo realizarlos todos.

A continuación, se purificó el ADN de plásmido de los diez mejores clones y se redistribuyó como se ha descrito anteriormente (StEP, (Zhao, Giver *et al.* 1998)). A continuación, este se purificó, se cortó y se clonó, y se sometió la genoteca resultante a otra serie de CSR como se ha descrito (Ghadessy, Ong *et al.* 2001). Se usaron los dos mismos conjuntos de cebadores desapareados con cuatro desapareamientos en su extremo 3' en la emulsión como dos fuentes separadas de presión selectiva. A continuación, se trató este como se ha descrito anteriormente, y se rastrearon los clones resultantes y se calificaron mediante el ensayo de PCR (como se ha descrito anteriormente). Una vez más, se encontraron polimerasas que pudieron extender todos estos desapareamientos (véase la tabla), aunque muchas polimerasas solo pudieron realizar uno de los desapareamientos y ninguna pudo hacerlos todos. Hubo un aumento notable en los clones que mostraron actividad de desapareamiento durante la primera serie.

Se combinaron los mejores clones de la segunda serie con los mejores clones de la primera serie en una placa de 96 pocillos, y se sometieron a un rastreo adicional.

La tabla siguiente es un resumen de los resultados.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2J	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2L	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2Q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2Z	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A1 es polimerasa Tth; A2 Tfl; A3 Taq; A4 M1; A5 M4; A6 H10 (véase el ejemplo anterior). 1A7 a 1D12 son los clones de la primera serie (donde 1 indica que se trata de los clones de la primera serie), 2E1 a 2S12 son los clones de la segunda serie (donde 2 indica que se trata de los clones de la segunda serie).

Se redistribuyeron los mejores clones de la primera y la segunda serie como se ha descrito anteriormente, y se sometieron a otra serie de CSR. Se usaron los mismos dos conjuntos de cebadores desapareados con cuatro desapareamientos en su extremo 3' en la emulsión como dos fuentes separadas de presión selectiva. A continuación, se trató esto como se ha descrito anteriormente, y se rastrearon los clones resultantes y se calificaron mediante el ensayo de PCR (como se ha descrito anteriormente). Una vez más, se encontraron polimerasas que pudieron extender todos estos desapareamientos. En particular, los clones 3B5, 3B8, 3C12 y 3D1 (donde 3 indica que se trata de clones de la tercera serie) fueron capaces de extender los cebadores que contenían cuatro desapareamientos. Véase la Figura 9

Se secuenciaron algunos clones prometedores. Todas las polimerasas mostraron una composición similar: la primera parte de la proteína, aproximadamente la correspondiente al dominio exonucleasa 5-3 de la polimerasa, se derivó de *Tth*, mientras que la parte restante de la proteína se derivó de *Taq*. Volvieron a aparecer cuatro mutaciones puntuales (L33 → P, E78 → K, D145 → G y E822 → K) en la mayoría de los mutantes secuenciadas y una (B10) había adquirido 16 aminoácidos más en su extremo C a través de un cambio de marco en la posición 2.499. *Tfl* fue muy poco representada, aunque estaba presente parte de su secuencia.

Ejemplo 9: ELISA de tipo horquilla para medir la actividad de la polimerasa

El siguiente protocolo es un método sensible para medir la actividad de las polimerasas tanto para la incorporación de sustratos de nucleótidos artificiales (añadidos a la mezcla de reacción), como la extensión o la replicación de sustratos de nucleótidos artificiales (incorporados como parte del oligonucleótido de tipo horquilla).

El ensayo comprende un oligonucleótido de tipo horquilla que constituye tanto el cebador como el molde, todo en uno. Contiene, como parte de la horquilla, un resto dU biotinilado que permite la captura del oligonucleótido de tipo horquilla sobre superficies recubiertas de estreptavidina.

El oligonucleótido se pliega en una horquilla con un saliente 5' que sirve como la cadena molde para la polimerasa (secuencia típica: 5'-AGC TAC CAT GCC TGC ACG CAG TCG ACG TCC GTC GCG ACC ACG TT5 TTC GTG GTC GCG ACG GAT GCC G-3', las bases que participan en la formación de la horquilla aparecen subrayadas, la base 3'

está en negrita, 5 = dU-biotina).

5 Se llevan a cabo reacciones de extensión en presencia de pequeñas cantidades de un nucleótido marcado, por lo general, DIG-16-dUTP. Se captura el producto (por ejemplo, sobre una placa de ELISA recubierta de estreptavidina) y se mide la incorporación de nucleótido marcado a la cadena producto (usando, por ejemplo, un anticuerpo anti-DIG), y se toma como una medida de la actividad de la polimerasa.

Método:

10 Se llevan a cabo reacciones de extensión en 1 x tampón de Taq que incluye cebador de horquilla 1-100 nM y mezcla de dNTP 100 μ M (que comprende dUTP-DIG al 0,3 a 30 %), incubándose, normalmente, a 94 °C durante 1-5 min, seguido de la incubación a 50 °C durante 1-5 min, seguida de la incubación a 72 °C durante 1-5 min. (1-10 μ l). Se añaden los productos de reacción a placas de ELISA recubiertas con estreptavidina (Streptawell, Roche) en 200 μ l de PBS, Tween 20 al 0,2 % (PBST), y se incuban a temperatura ambiente durante 10 min a 1 h. Se lavan las placas de ELISA 3 veces en PBST, y se añaden 200 μ l de fragmento Fab2 anti-DIG-POD (Roche) diluidos 1/2000 en PBST, y se incuban a temperatura ambiente durante 10 min a 1 h. Se lava la placa 3-4 veces en PBST y se revela con un sustrato POD apropiado.

20 Ejemplo 10: Ensayos ELISA de tipo horquilla para probar la incorporación de análogos de nucleótidos por clones de extensión de desapareamientos

Se ensayó la capacidad para incorporar una variedad de análogos de nucleótidos de clones previamente seleccionados por su capacidad para extenderse desde un desapareamiento de 4 pares de bases.

25 Se cultivaron los clones a 30 °C durante la noche en 200 μ l de 2XTY + ampicilina (100 μ g/ml). Se inició un cultivo de un día de 150 μ l (2xTY + 100 μ g/ml de ampicilina) desde la noche, y se cultivó durante 3 horas a 37 °C. Tras 3 horas, se indujo la expresión de la proteína mediante la adición de 50 μ l de 2XTY + tetraciclina anhidra (8 ng/ml) al cultivo, que luego se dejó crecer durante 3 h más a 37 °C. Se sedimentaron las células a 2.254 xg durante 5 minutos y se retiró el medio de crecimiento por aspiración, tras lo que se volvió a suspender el sedimento celular en 100 μ l de 1 x tampón Taq (Tris-HCl 10 mM, pH 9,0, MgCl₂ 1,5 mM, KCl 50 mM, Triton X-100 al 0,1 %, estabilizador al 0,01 % (p/v); HT Biotechnology Ltd). Se lisaron las células resuspendidas mediante incubación a 85 °C durante 10 minutos y los restos celulares se sedimentaron a 2.254 xg durante 5 minutos.

35 Protocolo de ELISA:

Reacción de extensión.

Las reacciones se realizaron en un volumen final de 12,5 μ l que comprende:

40 1 x tampón de Taq (Tris-HCl 10 mM, pH 9,0, MgCl₂ 1,5 mM, KCl 50 mM, Triton X-100 al 0,1 %, estabilizador al 0,01 % (p/v); HT Biotechnology Ltd).

50 pmoles de cebadores.

45 25 mM de cada dNTP (menos el análogo de nucleótido) de los cuales el 10 % (2,5 μ M) del dTTP es digoxigenin-11-dUTP y el 90 % (22,5 μ M) es dTTP.

25 μ M del análogo de nucleótido.

2,5 μ l de lisado celular.

Las condiciones de reacción fueron:

50 95 °C durante 5 minutos; 50 °C durante 5 minutos; 72 °C durante 5 minutos.

Reacción de detección:

55 Se añadieron 5 μ l de la reacción de extensión a 200 μ l de PBS-Tween (1 x PBS; Tween 20 al 0,2 %) en placas de unión elevada StreptaWell (Roche) y se permitió la unión durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3 veces en PBS-Tween, tras lo que se añadieron 200 μ l de PBS-Tween + fragmentos Fab de POD anti-digoxigenina (anticuerpo diluido 1/2000; Roche). Se dejó que se uniera el anticuerpo durante 30 minutos a temperatura ambiente.

60 Se lavó la placa 3 veces en PBS-Tween y 200 μ l del sustrato añadido (por ml, 100 μ l de NaAc 1 M, pH 6,0, 10 μ l de DAB, 1 μ l de H₂O₂), y se permitió el desarrollo de la reacción, tras lo que se detuvo mediante la adición de 100 μ l de H₂SO₄ 1 M.

65

Experimento I. ELISA con fluoresceína 12-dATP:

Se ensayó la capacidad de clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos para incorporar fluoresceína 12-dATP (Perkin Elmer) usando el cebador FITC4. Los lisados usados se concentraron 4 veces.

Experimento II. ELISA con biotina 11-dATP:

Se ensayó la capacidad de clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos para incorporar biotina 11-dATP (Perkin Elmer) usando el cebador FITC10. Los lisados usados se concentraron 4 veces.

Experimento III. ELISA con CyDye 5-dCTP:

Se ensayó la capacidad de clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos para incorporar Cy5-dCTP (Amersham Biosciences) usando el cebador ELISAC4P. Los lisados usados se concentraron 4 veces.

Experimento IV. ELISA con CyDye 3-dUTP:

Se ensayó la capacidad de clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos para incorporar CyDye 3-dUTP (Amersham Biosciences) usando el cebador ELISAT3P. Los lisados usados se concentraron 4 veces. El dUTP marcado con DIG en la reacción de extensión se reemplazó por fluoresceína 12-dATP, y la incorporación de fluoresceína 12-dATP se detectó mediante fragmentos Fab de POD anti-fluoresceína (Roche).

Experimento V. ELISA de sitios abásicos:

Se ensayó la capacidad de clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos para evitar los sitios abásicos usando el cebador Pscreen1Abas (AGC TAC CAT GCC TGC ACG CAG 1 CG GCA TCC GTC GCG ACC ACG TT5 TTC GTG GTC GCG ACG GAT GCC G, 1 = sitio abásico; 5 = dU-biotina). Los lisados usados se concentraron 4 veces.

Se ensayó la actividad de clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos con diferentes sustratos usando un ensayo ELISA.

A1 = *Tth* de tipo silvestre;

A2 = *Tfl* de tipo silvestre;

A3 = *Taq* de tipo silvestre;

A4 = mutante M1 de *Taq*.

A5 = mutante M4 de *Taq*.

A6 = mutante H10 de *Taq*.

Filas A-D: los clones aislados tras 1 serie de selección de 4 desapareamientos.

Filas E-H: los clones aislados tras 2 series de selección de 4 desapareamientos.

Los resultados se muestran en la Figura 8.

Experimento V. Evitación de sitios abásicos y 5-hidroxihidantoínas

Se examinaron las polimerasas 3A10 y 3D1 en mayor profundidad para determinar su capacidad para evitar los sitios abásicos y las 5-hidroxihidantoínas, conocidos ambos por su existencia en el ADN dañado, pues se han encontrado en muestras antiguas, usando el rastreo de actividad basado en ELISA como se ha descrito anteriormente. Ambas polimerasas fueron más competentes en la evitación de la lesión que la *Taq* de tipo silvestre hasta en dos órdenes de magnitud.

La hidantión fosforamidita se sintetizó mediante procedimientos convencionales partiendo de la base libre de hidantoína. La glucosilación de la base de hidantoína sililada en presencia de cloruro de estaño (IV) con el cloroazúcar ditoluóilo (α) dio lugar a dos productos N-glucosilados que se separaron y se caracterizaron mediante experimentos de RMN bidimensionales. Se retiraron los grupos toluilo con amoníaco para dar el nucleósido libre que se dimetoxitritiló y se fosfitiló de la manera habitual. El cebador de horquilla para ensayar la evitación de la hidantoína fue: 5'-AGC TAC CAT GCC TGC ACG CAG XCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG TTY TTC GTG GTC GCG ACG GAT GCC G-3', X = hidantoína, Y = biotina-dU.

A continuación, se muestran las secuencias de los clones a los que se hace referencia en los ejemplos: Para evitar cualquier duda, la primera secuencia proporcionada en cada apartado es la secuencia de ácido nucleico. La segunda secuencia proporcionada es la secuencia de aminoácidos correspondiente del clon.

2F3:

ATGGCGATGCTTCCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCATTCCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGCGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCGCCTCGAGGTCCCCGGCTACGAGGCGGACGACGTTCTCGCCACCGTGGCCAA

AAGGGCGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGGGCACTCCTACCGCCGACCGGGCCTCTACCAACTCGTCTCTGACCGC
GTGCGCTCCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGC
AGTGGGTGGACTTCGCGCCCTCGTGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGA
CCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGTAAAAGCCAGAAA
ACGTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGTGCGCACCGACCT
CCCCCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGCGGGAGCCCGACCGGGAGGGGCTTAGGGCCTTTCTGGAGAGGCTTGA
GTTTGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGAAAAGCCCCAAGCCCTGGAGGAGGCCCTGGCCCCCGCG
GAAGGGCCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCGCG
GGGGGCCCGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTATAAAGCCCTCAGAGACCTGAAGGAGGCGGGGGGCTTCTCGC
CAAAGACCTGAGCGTCTGACCCTGAGGGAAGGCCCTTGGCCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTAC
CTCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGTGGCCCGGGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGGG
GAGCGGGCCGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAAGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGC
TTTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCCGTTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGGACGTGGC
CTATCTCAGGGCCTTGTCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCCTCGAGGCCGAGTCTTCCGCTGGCCGGC
CACCCCTTCAACCTCAACTCCCGGACCCAGCTGGAAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCA
AGACGGAGAAGACCGCAAGCGCTCCACCGCGCCCGCCTCTGGAGGCCCTCCACGAGGCCACCCCATCGTGG
AGAAGATCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTCCCGGACCTCATCCACC
CAGGACGGGCGCCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAAC
CTCCAGAACATCCCGTCCGACCCAGCTTGGGCAGAGGATCCCGGGCCTTTCATCGCCGAGGAGGGGTGGCTAT
TGGTGGTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGCTGCTGGCCACCTCTCCGGCGACGAGAACCTGATCCGGGT
CTTCCAGGAGGGGCGGACATCCACACGAAACCGCCAGCTGGATGTTTCGGCGTCCCCAGGAGGCCGTGGACCC
CCTGATGCGCCGGGGCCAAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCTACCGCCTCTCCAGGAG
CTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTATTGAGCGCTACTTTACAGGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGAT
TGGGAAGACCCTGGAGGAGGCCAGGAGGCGGGGTACGTGGAGACCCTCTTCGGCCCGCCCGCTACGTGCCAGA
CCTAGAGGCCCGGTGAAGAGCGTGCGGGAGGCGGCGAGCGCATGGCCTTCAACACGCCCGTCCAGGGCACCGC
CGCCGACCTCATGAAGCTAGCTATGGTGAAGCTCTTCCCAGGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCCTTCA
GTCCACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGCTGGCCAAAGGAGGTCATG
GAGGGGTGATCCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAG
TGA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGPTTSRGEVQVYVYGFSAKLLKALKEDGYKAVFVVDKAPSRHKAY
EAYRAGRAPTPEDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPVGYEADDVLATVAKKAKEKEGYEVGILTADRGLYQLVSDRVAVLH
PEGLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGEKALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIK
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDREGLRAFLELRFGLLESPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLAIREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGGEWTEBAGBRAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLRYEVERPLSVVLAHMEATGVRLDVAYLRLSLEVAEBIARLE
AEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTGAAVLEALHEAHPIVEKILQYRELTKLSTYIDPLPLDI
HPRTGRLHTRFNQTATATGRSSSDPNLQNPVRTQLGQRIRRAFIAEBGWLLVVLDSQIELRVLAHLSGDNLRVFOE
GRDIHTBTASWMFGVPQEAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAYRLSQELAIPEEAQAFIERFYQSFKVRWIGKTLEB
GRRRGYVETLFGRRRYVPDLBARVKSVRBAABRMAFNTPVQGTAAADLMKLLAMVKLFPRLEEMGARMMLLVHDELVL
APKERAEEAVARLAKEVMEGVYPLAVPLEVEVGHGEDWLSAKE*

5

1A10:

ATGGCGTGGTATGCCTCCTCTTTTGTAGCCAAAGGGCCGCGTCTCCTGGTGGACGGCCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCGGTGCAGGCCGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCCCTCCGCCACGAGG
CCTACGAGGCCTACAAGCGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCGGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCGGGTACGAGGCGGACGACGTCTCGCCACCCTGGCCAAG
AAGGCCGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCGCGACCTTACCAACTCGTCTCCGACCGC
GTCGCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGC
AGTGGGTGGACTTCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAGGA
CCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTTGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAA
ACGTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGAGCTCTCCCGGGTGGCACCAGCCT
CCCCCTGAGGTGACCTCGCCACGGGGCGGAGCCCGACCGGAGAGGCTTAGGGCCTTCTGGAGGCTTGA
GTTTGGCAGCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCG
GAAGGGCCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCCGCCAG
GGGTGGTCCGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACTTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCC
AAAGACCTGAGCGTTCGCCCTAAGGGAAGGCCTTGCCCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACC
TCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCGTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGGGGG
AGCGGGCCGCCCTTCCGAGAGGCTTTCGCCAACCTGTGGGGGAAGCTTGAAGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCT
TTACCGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGEGCCTGGACGTGGCC
TATCTCAGGGCCTCGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCGGCC
ACCCCTTCAACCTCAACTCCCGGACCAAGCTGGAAAAGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAA
GACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGA
GAAGATCCTGACGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTCCCGACCTCATCCACCC
AGGACGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAAGGACCGCCACGGCCACAGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACC
TCCAGAACATCCCCGTCCGCACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCCGCCGGCCTTTCATCGCCGAGGAGGGGTGGCTATT
GGTGGCCCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTCTGGCCACCTCTCCGGCGACGAGAACCTGATCCGGGTC
TTCCAGGAGGGGGGACATCCACACGGAGACCGCCAGTTGGATGTTCGGCGTCCCGGGAGGCGGTGGACCCCC
TGATGCGCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTTCGGCCCGCCGCTCTCCAGGAGCT
AGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCAATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGATT
GAGAAGACCTGGAGGAGGQCAGGAGGCGGGGGTACGTGGAGACCTCTTTCGGCCGCGCCGCTACGTGCCAGAC
CTAGAGGCCCGGTGAAGAGCGTGCGGGAGGCGGCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCC
GCCGACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTCTTCCCGAGGCTGGAGGAAATGGGGCCAGGATGCTCCTCAGG
TCCACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAGGAGGTACATGG
AGGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGT
GA

MRGMPPLFBPKGRVLLVDGHLAYRTFFALKGPTTSRGPVQAVYGFASLLKALKEDGYKAVFVVFDAKAPSLRHEAY
EAYKAGRAFTPEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKAKEKEGYEVRILTADRDLVQLVSDRVAVLH
PEGLITPEWLWEKYGLRPEQWYDFRALVGDPSDNLPGVKIGIBRTALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIK
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDRERLRAFLERLEFGSLLEHFGLESFKALEBAPWPPPEGAFVGFVLSRKB
PMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKBARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLA YLLDPSNTTPEGVARR
YGGEWTEBAGERAAALSBRFLANLWCKLEGBERLLWLYREVDRPLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRASSLEVAEBIARLE
AEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKIQYRELTKLKSTYIDPLPDLI
HPRTGRLHTRFNQTATATGRLSSDPNLQNIPTVPLGQRIRRAFIABEGWLLVALDYSQIELRVLAHLSGDNLRVFEQ
GRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSARRLSQELAIPIYEEAQAFIBRYFQSFKVRWIEKTLBEG
RRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKSREAAERMAFNMPVQGTAADLMKMLAMVKLFRLEEMGARMMLQVHDELVLE
APKBRABAVARLAKEVMGCVYPLAVPLEVEVGIGEDWLSAKE*

5

1A9:

ATGCGTGGTATGCATCCTCTTTTTGAGCCCAAGGGCCCGTCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCAC
CTTCCACGCCCTGAAGGGGCTCACCACCAGCCGGGGGGAGCCGGTGC GGCCGGTCCACGGCTTCGCCAAGAGCCTC
CTCAAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGCTTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCCTTCCGCCACG
AGGCCTACGAGGCCTACAAGGCCGGGAGGGCCCCGACCCTGGAGACTTCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGG
AGCTGGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTTCGAGGTCCCCGGCTACGAGGC GGACGACGTTCTCGCCACCCTGGC
CAAGAAGGCCGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGGACCTTACCAACTCGTCTCCGA
CCGCGTCGCCGCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACC CGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCG
GAGCAGTGGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAG
AAGACCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGA AACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGCTGAAGCCC
GCCATCCGGGAGAAGATCCTGGCCACATGGACGATCTGAAGCTCTCCTGGGACCTGGCCAAGGTGCGCACCGACC
TGCCCTAGAGTGGACTTCGCCAAAAGGCCGGAGCCCGACCTGGAGGGCTTAGGGCCTTTCTGGAGAGGCTTG
AGCTGGCAGCCTCCTCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCAAGACCCTGGAGGAGGCCTCTGGCCCCCGC
GGAAGGGCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCGCCA
GGGGGGCCCGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGAGACCTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCG
CCAAAGACCTGAGCGTTCGTGGCCCTGAGGGAAGGCCTTGGCCTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTA
CCTCCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGG
GGAGCGGGCCCGCCTTCCGAGAGGCTTCTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGG
CTTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCGCTTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGACGGCTG
CCTATCTCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGCCGAGGAGATCGCCCGCCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCGG
CCACCCCTTCAOCTCAACTCCCGGACCACTGGAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGC
AAGACGGAGAAGACCGCAAGCGCTCCACCGGCGCCGCGTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTG
GAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGGCGGACCTCATCCACC
CCAGGACGGGCCCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAA
CTCCAGAAACATCCCCGTCCGACCCAGCTTGGGCAGAGGATCCGCCGGGCCTTATCGCCGAGGAGGGGTGGCTA
TTGGTGGTCCGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTCTGGCCACCTCTCCGGCGACGAGAACCTGATCCGG
TCTTCCAGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCCGCGTCCCCAGGAGGCCGCTGGACCC
CCTGATGCGCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCTACCGCCTCTCCAGGAG
CTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGAT
TGGGAAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGCGGGGTACGTGGAGACCTCTTCCGGCCGCCCGCTACGTGCCAGA
CCTAGAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGC GGAGGCGGCCGAGCGCATGGCCTTCAACACGCCCCTCCAGGGCACCGC
CGCCACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTTCTCCCGAGGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCCTTCAG
GTCCACGACGAGCTAGTCTCGAGGCCCAAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGCTGGCCAAGGAGGTCATG
GAGGGGTGTATCCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAG
TGA

MRGMHPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTPHALKGLTTSRGPVRAVEHFAKSLKALKEDGYKAVFVVFDAKAPSFRHE
AYEAYKAGRAPTPEDFPRQLALIKBLVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKAKEKGYEVRLTADRDLVQLVSDRVAV
LHPEGHLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGEKTA LKLLKBWGSLENLLKNLDRKPAIREKILA
HMDDLKLSWDLAKVRTDLPLEVDFAKRREPDRERLRAFLELGLSLLHEFGLLESPKTLBEASWPPFEGAFVGFVLSRK
EPMWADLLALAAARGRVRHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLA LREGLGLPFGDDPMLLAYLLDPSNTTPBGVAR
RYGGEWTEBAGERAAALSBRLPANLWGRLEGEBRLLWLYREVBRLSVVLAHMBATGVRLDVAYLRALSLEVAEBIARL
EAEVFLAGHPNLNSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTGAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKS TYIDPLPD
LIHPRTRGLHTRFNQTATATGRLSSSDPNLQNIPTVRLQGLQRRRAFIABEGWLLVLDYSQIBLRVLAHLSGDENLIRVFQ
EGRDIHTETASWMFGVPEAVDPLMRRAAKTTFGVLYGMSAYRLSQELAIPIYBEAQAFIBRYFQSFPKVRAWIGKTEE
GRRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKS VREAERMAFNTPVQGTAAADLMKLAMVKLFPRLBEMGARMMLLVHDELVLE
APKERAEAVARLAKEVMEGVYPLAVPLEVEVGIGEDWLSAKB*

2F12:

ATGCGTGGTATGCTTCCTCTTTTGAACCCAAAGGCGCGCTCCTCCTGGTGGACGGCCACCACTGGCCTACCGCAC
CTTCTTCGCCCTGAAGGGCCTCACCACGAGCCGGGGCGAACCAGGTGACGGCGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTC
CTCAAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCCTCCGCCACG
AGGCTACGAGGCCTACAAGCGGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCGGGCAGCTCGCCCTCAAGG
AGCTTGGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCCTCGAGGTCCCGGCTACGAGGCGGACGAGTCTCGCCACCTGGC
CAAGAAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGCGACCTCTACCAACTCGTCTCCGA
CCGCTCGCCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCG
GAGCAGTGGGTGGACTTCCCGCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAG
AAGACCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTGAAGCCC
GCCATCCGGGAGAAGATCCTGGCCACATGGACGATCTGAAGCTCCTGGGACCTGGCCAAGGTGCGCACCGGAC
TGCCCTGGAGGTGGACTTCGCCAAAAGGCGGAGCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTG
AGCTTGGCAGCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCTTCTGGCCCCCGCC
GGAAGGGCCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTACCCGCAAGGAGCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCG
AGGGGGGGCCGGTCCACCGGGCCCGGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACCTGAAGGAGGCGCGGGGCTTCTC
GCCAAAGACCTGAGCGTCTGGCCCTGAGGGAAGGCCCTGGCCCTCCCGCCGCGGACGACCCCATGCTCTCGCT
ACCTCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGG
GGGACCGGGCCCGCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGAGGCTTAGGGGGAGGAGAGGCTTCTTG
GCTTACCGGGAGGTGGAGAGACCCCTTCCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTG
GCCTATCTCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCG
GCCACCCCTCAACCTCAACTCCCGAGACCAGCTGGAAAAGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGG
CAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCCTGGAGGCCCTCCCGGAGGCCACCCCATCGT
GGAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTCCCGGACCTCATCCAC
CCCAGGACGGCCCGCTCCACACCCGCTCAACCAGAGCCGACGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCA
ACCTCCAGAACATCCCGTCCGACCCCGCTTGGCAGAGGATCCCGCCGAGCGCATCGCCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCAC
ATTGGTGGCCCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTTCCCGCGACGAGAACCTGATCCGG
GTCTTCCAGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAGACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCGGGAGGCCGTGGAC
CCCTGATGCGCCGGGCGGCCAAGACCATCAACTTCGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCACCGCTCTCCAGG
AGCTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCCTCATTGAGCGCTACTTTAGAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTG
GATTGAGAAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGCGGGGTACGTGGAGACCTCTTCGGCCCGCCCGCTACGTGCC
AGACCTAGAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGCGGGAGCGCGCCGAGCGCATGGCCTCAACATGCCCGTCCAGGGCAC
CGCCCGGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTCTTCCCGCCTCCGGGAGATGGGGCCCCGATGCTCCTCC
AGGTCCACGACGAGCTCCTCCTGGAGGCCCCCAAGCGGGCCGAGGAGGTGGCGCTTTGGCCAAGGAGGCCA
TGGAGAAGGCCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGG
AGTGA

MRGMPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGLTTSRGEVPQAVYGFASLLKALKEDGYKAVFVFDKAPSLRHEA
YEAYKAGRAPTEPFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKAEKEGYEVRLTADRDLVQLVSDRVAVL
HPEGHLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGBKALKLLKKBWGSLENLLKNLDRKPAIRKILAH
MDDLKLSWDLAKVRTDLPLEVDFAKRREPDRERLRAFLERLBLSLLHEFGLLEBSPKALEEASWPPPEGAFVGFVLRKE
PMWADILLALAAARGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALRBLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGGBWTEEAGERAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRLSLBVAEBIARLE
AEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIGKTBKTGRS TSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLSTYIDPLPDLI
HPRTRLHTRENTATATGRLLSSDPNLQINIPVRLPLGQRIRRAFIBEGWLLVALDYSQIBLRVLAHLSGDENLRVPLI
GRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRRAKTINFGVLYGMSAHRLSQBLAIPYEEAQAFIERYFQSPFKVRAWIEKTLBEG
RRRGYVETLFGRRRYVFDLBARVKSVRBAERMAFNMPVQTAADLMKLMVKLFPRLREMGARMLLQVHDELLLE
APQARAEVVAALAKEAMEKAYPLAVPLEVKVIGEDWLSAKE*

5 1C2:

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCCTCCTGGTGGACGGCCACCACTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCAACCACGAGCCGGGGCGAACCAGGTGACGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCATTCCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGCGGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCGGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCCTCGAGGTCCCGGCTACGAGGCGGACGACGTTCTCGCCACCCTGGCCAAAG
AAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGCGGCCTATACCAACTCGTCTATGACCCG
GTCGCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGAGG
AGTGGGTGGACTTCCCGCCCTCGTGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGA
CCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAA
ACGTCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGGTGGCACCGGACCT
CCCTTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGGCGGAGCCCGACCGGAGGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGA
GTTTGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTTGGCCCCCGCCG
GAAGGGCCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTCCCGCAAGGAGCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCGCGCAG
GGTGGTTCGAGTCCACGGGGCCCGGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACCTGAAGGAGGCGCGGGGCTTCTCGCC

AAAGACCTGAGCGTTCCTGGCCCTAAGGGAAGGCCCTTGGCCCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACC
TCCTGGACCCCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGGGG
AGCGGGCCCGCCTTTCCGAGAGGCTCTTCCGCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCT
TTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCGGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTGGCC
TATCTCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGCTTCCGCCTGGCCGGCC
ACCCCTTCAACCTCAACTCCCGGGACCACTGGAAATGGTGCTCTTTGACGAGCTTAGGCTTCCCGCCTGGGGAAAG
ACGCAAAAAGCGGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAG
AAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGTGCGACCTCATCCACCCCA
GGACGGCCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAAGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCT
CCAGAACATCCCCGTCCGCACCCCGCTTGGGCGAGGATCCGCGGGGCTTCATCGCCGAGGAGGGGTGGCTACTG
GTGGTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTCTGGCCCACTCTCCGGCGACGAAAACCTGATCAGGGTCT
TCCAGGAGGGCGGGACATCCACACGGAGACCCGACGTGGATGTTCCGGCGTCCCGGGAGGCCGTGGACCCCT
TGATGCGCCGGGGCGCCAAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTGCGCCACCCGCTCTCCAGGAGCT
AGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCCTTCAATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCCAAGGTGCGGGCCTGGATT
GAGAAGACCCCTGGAGGAGGGCAGGAGGGCGGGGTACGTGGAGACCTCTTCGGCCGCGCCGCTACGTGCCAGAC
CTAGAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGCGGGAGGGCGGCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCC
GCCGACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTTCCCCAGGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCCTTCAGG
TCCACGAGCTGGTCTCTCGAGGCCCAAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAAGGAGGTGATGG
AGGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGAGGACTGGCTCTCCGCAAGGAGT
GA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLYRTRFFALKGPTTSRGEVQVVYGFASLLKALKEDGYKAVFVVFDAKAPSRHKA Y
EAYRAGRAPTPEDFPRQLALIKBLVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKABKEGYEVRLTADRGLYQLVYDRVA VLH
PEGLHITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALYGDPSDNLPGVKGIGETALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKKA
HLEDRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDREOLRAFLERFEGSLLHEFGLLESPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGGRVHRAPBYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGGEWTEBAGBRAALSERLFANLWGRLEGBERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVRLDVA YLRALSLEVAEBIARLE
AEVFRLAGHPFNLSRDQLEMVLFDELRLPALGKTQKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKS TYIDPLSDL
IHPRTGRLHTRFNQTATATGRLSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIAEEGWLLVVDYDYSQIELRVLAHSGDENLRVFE
GRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFVLYGMSAHRLSQELAIPIYBEAQAFIERYFQSPFKVRAWIEKTLBEG
RRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKSVRBAERMAFNMFPVQGTAAADLMKLA MVKLFPRLEEMQARMLLQVHDELVLE
APKBRABAVARLAKEVMBGVYPLAVPLEVEVIGEDWLSAKE*

2G6:

ATGGOGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCAGAGCCGGGGCGAACCAGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCCTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCATTCCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGCGGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCGCGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCGGCTACGAGGGCGGACGAGCTTCTCGCCACCTTCGCCAAG
AAGGGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGGCATCTCTACCGCCGACCGCGGCCTTACCAACTCGTCTCTGACCGCG
TCCCGCTCCTCCACCCGAGGGCCACTCATACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTA CGGCCTCAGGCCGGACA
GTGGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGAACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACC
GCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAAC
GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTTCTCCCGGGTGGCCACCGACCTCC
CCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGGCGGGAGCPCGACCGGGAGGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGAGTT
TGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCGGAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTTGGCCCGCCGGGAA
GGGGCTTCGTGGGCTTTGTCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCCGCCGCAAGGG
TGGTCGAGTCCACCGGGCCCGGAGCCTTAAAGACCTCAGGGACTGAAGGAGGGCGGGGGCTTCTCGCCAAA
GACC'TGAGCGTCTTGCCCTAAGGGAAGCCTTGGCCTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
GGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGGGGGAGCG
GGCCGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTAC
CGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCGGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATC
TCAGGGCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGCTTCCGCTTGGCCGGCCACCC
CTTCAACTCAACTCCCGGACCACTGGAAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACG
GAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAG
ATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGGCGGACCTCATCCACCCAGGA
CGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACDAGACGGCCACGGCCACGGGCAAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCA
GAACATCCCGTCCGCACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCCGGGCTTTCATCGCCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTG
GTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTCTGGCCCACTCTCCGGCGACGAGAACCCTGATCCGGGTCTTCC
AGGAGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGTGTGATGTTCCGGCTCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTAA
TGGCCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTGCGCCCGCCGCTCTCCAGGAGCTAGC
CATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCAATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCCAAGGTGCGGGCCTGGATTGAG
AAGACCTTGGAGGAGGGCAGGAGGGCGGGGTACGTGGAGACCTCTTCGGCCGCGCCGCTACGTGCCAGACCTA
GAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGCGGGAGGGCGGCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCG
GACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTTCCCCAGGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCCTTACGGTCC
ACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAAGGAGGTGATGGAG
GGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAAGGGAGGACTGGCTTCCGCCAAGGGTTAG

5

La de arriba es la secuencia de ácido nucleico del clon.

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGPTTSRGEVPQVVYGFAKSLLKALKEDGYKAVFVVDKAPSPFRHKAY
 EAYRAGRAPTPEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLAATFAKKAEBKBYEVRLTADRGLYQLVSDRVAVLH
 PEGHLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGNPNSDNLPGVKGIGEKALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKKA
 HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGRBPDREGLRAFLERLEBFGSLLHEFGLLEBSPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
 PMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKBARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
 YGGBWTEAAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMBAATGVRLDVAYLRALSLEVAEBIARLE
 AEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYDPLPDLI
 HPRTGRLHTRFNQTATATGRLSSSDPNLQNPVVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVVDYSQIELRVLAHLSGDENLIRVFQE
 GRDIHTETASWMPFVPREAVDPLMRRRAAKTINFGVLYGMSARRLSQELAIPIYEEAQAFIERYFQSFQPKVRAWIBKTLBEG
 RRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKSUREAERMAFNMPVQGTAAADMKLAMVKLFPRLREEMGARMMLLQVHDELVLE
 APKERAEAVARLAKEVMEGVYFLAVPLEVEVGIGEDWLSAKG*

5 La de arriba es la secuencia de aminoácidos del clon.

1A8:

ATGGTGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCTCCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
 CTTCGCCCTGAAGGGCCTCACCACGAGCCGGGGCGAACCGGTGCACGGCTCAGCCCTCGCCAAGGCCCTCCTC
 AAGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGGCGTTCCTGGTCTTTGACGCCAAGGCCTCCTCCTCCGACCGAGG
 CTTACGAGCCTACAAGCGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGCAGCTCGCCCTCATCAAGGACT
 GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCCGGCTACGAGGTGGACGACGCTCCTGGCCAGCCTGGCCAAG
 AAGGTGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCGCGACCTTACCAACTCGTCTCCGACCGCG
 TCGCCGCTCCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCA
 GTGGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACC
 GCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAGGCCTGGAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAAC
 GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCCTCTGGAGCTCCTCCCGGGTGCACCCGACCTCC
 CCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGCGGGAACCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCCTTTCTGGAGAGGCTTGAGTT
 TGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAGGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCCGAA
 GGGGCTTCTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCCGCCCAAGGG
 TGGTCCGGTCCACCGGACCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACTTGAAGGAGGGCGGGGGGCTTCTCGCCAAA
 GACCTGAGCTTCTGCCCTAAGGGAAGGCCTTGGCTCCTCCGCGGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
 GACCTTCCAACACCCGAGGGGTGGCCCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGGGGAGCGGGGGAGCG
 GGCCCGCTTTCGAGAGGCTTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTAC
 CGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTACC
 TCAGGGCCTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCGGCCACCC
 CTCAACCTCAACTCCCGGACCAAGCTGGAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACG
 GAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAAGCGCCGCTCCTGGAGCCCTCCCGGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAAG
 ATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAAGCCTTACCTTACCCCTTGGCCGACCTCAACCCAGGGA
 CGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCA
 GAACATCCCCGTCGCAACCCGCTCGGGCAGAGGA TCCGCGGGCTTCAATCGCCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTG
 GTCTTGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTTCCGGCGACGAGAACCTGATCCGGGTCTTCC
 AGGAGGGGGGACATCCACAGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGGGAGGCCGTGGACCCOCTAA
 TCGCCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTGGCCACCCGCTTCCAGGAGCTAGC
 CATCCCTACGAGGAGGCCAGGCCCTTCAATGAGCGTACTTTCAGAGCTTCCCCAAGGTGCGGGCCTGGATTGAG
 AAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGGGGGTACGTGGAGACCTTCTCGCCGCGCTCGCTACGTGCCAGACCTA
 GAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGGGGAGGGCGCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCGCC
 GACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTTCCCCAGGCTGGAAGAAACGGGGCCAGGATGCTCCTCAGGTCC
 ACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAGGAGCCATGGAGG
 GGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTTCCGCCAAGGAGTGA

MVMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGLTTSRGEVPQAVYGFAKSLLKALKEDGYKAVFVVDKASSFRHBAEY
 EAYKAGRAPTPEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLAASLAKKVBKBYEVRLTADRDLYQLVSDRVAVLH
 PEGHLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGNPNSDNLPGVKGIGEKALKLLKEWGGLENLLKNLDRVKPENVREKKA
 HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDRBRRLRAFLERLEBFGSLLHEFGLLEBSPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
 PMWADLLALAAARGGRVHRTPEPYKALRDLKBARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
 YGGBWTEAAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMBAATGVRLDVAYLRALSLEVAEBIARLE
 AEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVBKILQYRELTKLKSTYDPLPDLI
 HPRTGRLHTRFNQTATATGRLSSSDPNLQNPVVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVVDYSQIELRVLAHLSGDENLIRVFQE
 GRDIHTETASWMPFVPREAVDPLMRRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPIYEEAQAFIERYFQSFQPKVRAWIBKTLBEG
 RRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKSUREAERMAFNMPVQGTAAADMKLAMVKLFPRLREETGARMMLLQVHDELVLEA
 PKERABA VARLAKEAMEGVYFLAVPLEVEVGIGEDWLSAKE*

10

2H1:

ATGGTGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGGTCTCTCTGGTGGACGGCCACCACTGGCCTAOCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCTCACCACGAGCCGGGGCGAACCGGTGCAGGGCGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCTCCTCCTCCGCCACGAGG
CCTACGAGGCCTACAAGGCGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCCGGCTACGAGGTGGACGACGTCTGGCCAGCCTGGCCAAAG
AAGGTGAAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGCGGCCTCTACCAACTCGTCTCTGACCGG
TCGCCGTCCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCA
GTGGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACC
GCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGTAAAGCCAGAAAAAC
GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGTGCGCACCGACCTCC
CCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGCGGAGCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCCTTTCTGGAGAGGCTTGAGTT
TGCCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCCGAA
GGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCATGTGGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCGCCAGGGG
TGGTCGGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGACTTGAAGGAGCGCGGGGGCTTCTCGCCAAA
GACCTGAGCGTTCTGGCCCTAAGGGAAGGCCTTGGCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
GGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGTGGCCCCGGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGGGGAGCG
GGCCGCCCTTTCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAAGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTAC
CGGGAGGTGGATAGCCCCCTTCCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATC
TCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCCTCGAGGCCAGGCTTCCGCTGGCCGGCCACC
CTTCAACCTCAACTCCCGGACCAAGCTGGAAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACG
GAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCTACCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAG
ATCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTCCCGGACCTCATCCACCCAGGA
CGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCA
GAACATCCCGTCCGACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCCGGGCTTCAATCGCCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTG
GTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCCGCGACGAGAACCTGACCCGGGTCTCC
AGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTGA
TGCGCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGTTCTCTACGGCATGTCCGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTGGC
CATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTATAGAGCGCTACTTCAAAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGATAGAA
AAGACCCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGCTACGTGAAACCTCTTCCGAAAGAAGCGCTACGTGCCCGACCTC
AACGCCGGGTGAAGAGTGTCAAGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCCCGCC
GACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTCTTCCCCCGCTCCGGGAGATGGGGCCCCGATGCTCCTCCAGGTCC
ACGACGAGCTCCTCCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTTGGCCAAGGAGGCCATGGAGA
AGGCCTATCCCTCGCCGTACCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCCAAGGAGTGAG
TCGACCTGCAGGCAGCGCTTGGCGTACCCCGAGTTCCGGTGGTTAA

MVMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRITFFALKGLTTSRGEFVQAVYGFAKSLKALKEDGYKAVFVFDKASSFRHBY
EAYKAGRAPTEPFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEVDDVLASLAKYVEKEGYEVRIADRGLYQLVSDRVAVLH
PEGLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIBKALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKKA
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGRBFDRELRERLEBFGSLLHEFGLLESPKALEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGGEWTEBAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVDRLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRAISLEVABEIALB
ABVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTSAALREALREAHPIVBKILQYRELTCLKSTYIDPLDLI
HPRTGRLHTRFNQTATATGRLSSSDPNLQNPVRLPLGQRIRRAFIAEBGWLLVLDYSQIELRVLAHLSGDENLTRVFQE
GRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRRAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPEBAQAFIERVYFQSFQVRAWIEKLEEB
RKRGYVETLFGRRRYVPDLNARVKSUREAERMAFNMPVQGTAAADLMKLA MVKLFPRLEMGARMMLLQVHDELLLE
APQARABEVAALAKEAMBKAYPLAVPLEVKVIGIGEDWLSAQVSRPAGSAWRHPQFGG*

5

2F11:

ATGCGTGGTATGCTTCTCTTTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCAC
CTTCTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCCTGTCAGGCGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCCTC
CTCAAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGCCCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCCTCCGCCACG
AGGCTACGAGGCTACAAGGGCGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGG
AGCTGGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCCTCGAGGTCCCTGGCTACGAGGGCGACGACGCTCTCGCCACCCTGGC
CAAGAAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGCGACCTCTACCAACTCGTCTCCGA
CCGCGTCGCCGCTCCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCG
GAGCAGTGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAG
AAGACCGCCCTCAAGCTCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACTCCTCAAGAACCTGGACCCGGTAAAGCCA
GAAAACGTCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGAGCTCTCCCGGGTCCGCACCC
ACCTCCCCCTGGAGGTGGACCTCGCCCAAGGGCGGGAGCTCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGCT
TGAGTTTGGCGGCTCCTCCACGAGTTCGGCTTCTGGAAGGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTTGGCCCCG
CCGGAAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCG
CAGGGTGGTCCGCTCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGACTTGAAGGAGGCGGGGGGCTTCTC
GCCAAAGACCTGAGCGTTCTGGCCTAAGGGAAAGCCTTGGCTTCCCGCCCGGCAGACCCCATGCTCCTCGCT
ACCTCCTGGACCTTCCAACACCGCCCCGAGGGGGTGGCCCGGCTACGGCGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGG
GGGAGCGGCCGCCCTTCCGAGAGGCTTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTG
GCTTACCGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTACGGCTGGACGTG
GCCTGCCTGCAGGCCCTTCCCTGGAGCTTGCAGGAGGATCCGCGCCTCGAGGAGGAGTCTTCCGCTTGGCGG
GCCACCCCTTCAACCTCAACTCCCGGACCAGCTGGAAAGGGTCTCTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGG

CAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCCATCCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGT
GGAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGGCCGACCTCATCCAC
CCCAGGACGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCA
ACCTCCAGAACATCCCCGTCGACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCGGGGCTTCTGTCGCGGAGGAGGGGTGGCT
ATTGGTGGTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTTCCGGCGACGAGAACCTGACCCGG
GTCTTCTGGAGGGCGGACATCCACACGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCGGCGTCCCCGGGAGGCCGTTGGACC
CCCTGATGCGCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGGCCACCGCCTTCCAGGA
GCTGGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCCTTCATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCCAAGGTGCGGGCCTGG
ATAGAAAAGACCTTGGAGGAGGGGAGGAAAGCGGGGCTACGTGGAAACCTTCTCGGAAGAAGGCGCTACGTGCC
GACCTCAACGCCCCGGTGAAGAGTGTACGGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACC
GCCGCCGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTTCCCCCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCCTCC
AGGTCCACGACGAGCTCCTCCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTTGGCCAAGGAGGCCA
TGGAGAAGGCCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGAAGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTTCCGCCAAGG
AGTGA

MRGMLPLFBPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGPTTSRGPVQAVYGFASLLKALKEDGYKAAFVVFDAKAPSRHEA
YEAYKAGRAPTEDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLA TLAKKAKEBGEYEVRLTADRDLVQLVSDRVAVL
HPEGHLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIKTALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIK
AHLBDRLSLBSLRVRTDLPLEVDLAQGRELDRELRRAFLERFEGGLHBFGLLESPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRK
EPMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLA LRBGLGLPFGDDPMLLYLLDPSNTAPEGVA
RRYGGEWTEBAGERAAALSBRLFANLWGRLEGBERLLWLYRBVDRPLSAVLAHMEATGVRLDVAQLALSLELABEIRR
LBEEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDELQPAIGKTEKTGKRSTSAAILBALREAHPIVBKILQYRBLTKLKSTYIDPLPD
LIHPR TGR LHTRFNQTATATGR LSSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFVAEEGWLLVVL DYSQIBLRVLAHLSGDENLTRVF
LEGRDIHTETASWMFVGPRAVDPLMRRAAKTINFGVL YGMSAHLRSQELAPIYEEAQAFIER YFQSFVKVRAWIEKTLB
EGRKRGYVETLFGRRRYVPDLNARVKS VREAAERMAFNMPVQGTAAADLMK LAMVKLFPRLREMGARMLLQVHDBLL
LEAPQARABEVAALAKEAMEKAYPLAVPLEVKVIGIGEDWLSAKE*

5

2H4:

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCATTCCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGCGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTACCCCGGTACGAGGGCGACGACGTTCTCGCCACCCTGGCCAAG
AAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCGCGGCCTCTACCAACTCGTCTCTGACCGCG
TCGCCGTCTCCACCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCA
GTGGGTGGACTTCCGCGCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACC
GCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAAC
GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTTCCCGGGTGGCACCAGCCTCC
CCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGCGGGAGCCCGACCGGGAGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGAGTT
TGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCCGGCTTCTGGAAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCGGAA
GGGGCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCAGGGG
TGGTCGAGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACCTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCCAAA
GACCTGAGCGTTCTGGCCCTAAGGGAAGGCCTTGGCCTCCCGCCGGGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
GGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGGGGGGAGCG
GGCEGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGAGGCTTAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTAC
CGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCGGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATC
TCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGCTTTCGGCCTGGCCGGCCACCC
CTTCAACCTCAACTCCCGGGACCAAGTGGAAATGGTGTCTTTGACGAGCTTAGGCTTCCCGCCTTGGGGAAGACG
CAAAAGACGGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCCGCCTCCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAG
ATCCTGCACTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGTGGACCTCATCCACCCAGGA
CGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGACGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAATCCCA
GAACATCCCEGTCCGACCCCGCTTGGGCAAGGATCCGCCGGCCTTCAATCGCCGAGGAGGGGTGGCTACTGGTG
GTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCGGGCGACGAAAACCTGATCAGGGTCTTCC
AGGAGGGGGCGGACATCCACACGGAGACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTGA
TCCGCCGGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTAGC
CATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCCTTATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGATTGAG
AAGACCTGGAGGAGGGCAGGAGGGCGGGGTACGTGGAGACCTCTTCGGCCGCCCGCCTACGTGCCAGACCTA
GAGGCCCGGGTGAAGACCGTGGGGAGGGCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCGCC
GACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTTTCAGGCTGGAGGAAAACGGGGGCCAGGATGCTCCTCAGGTCC
ACGACGAGCTGGTCTTGGAGGCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAGGAGGTCATGGAGG
GGTGTATCCCTGGCCGTGTCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTRFFALKGPTTSRGEVPQVVYGFAKSLLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRHKAY
EAYRAGRAPTEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYBADDVLATLAKKAEKEGYEVRILTADRGLYQLVSDRVAVLH
PEGLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIGKTAALKLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIK
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGRBPDREGLRAFLERLEFGSLLHEFGLLEBPKALBEPWPPPEGAFVGFVLSRKE

PMWADLLALAAARGGRVERAPEFYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGGEWTEBAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRALSLEVABBIARLE
ABVFRLAGHPFNLSRDQLEMVLFDELRLPALGKTQKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKS TYDPLSDL
IHPRTGRLHTRFNQATATGRLSSSDPNLQNIPIVPTLQQRIRRAFIAEBEGWLLVLDYSQIELRVLAHLSGDENLIRVFQ
GRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRRAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPIYEEAQAFIERYFQSFPKVRAWIEKILEG
RRRGYVETLFRRRRYVPDLEARVKSVERAAERMAFNMPVQGTAAADLMKLAMVKLPPRLEETGARMMLLQVHDELVLEA
PKERAEAVARLAKEVMEGVYPLAVSLEVEVGIGEDWLSAKB*

5

2H9:

ATGGCGATGCTTCCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCGCGAGCCGGGGCGAAACCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCATTCCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCACAGGGCGGGGAGGGCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCCGGCTACGAGGGGACGACGTCTCGCCCCCTGGCCAAG
AAGGGGAAAAGGAGGGGTTCGAGGTGCGCATCCTCCCCGCGTCCGCGGCCTCTGCCCTCTCGTCTTGACCGCG
TCGCCGTCTCCTCCCCGAGGGCCACCTCATCACCOCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGCCCGGAGCA
GTGGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGAAGAAGACC
GCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAAC
GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACTCAGGCTCCTCTGGAGCTCTCCCGGGTGGCACCAGCCTCC
CCCTGGAGGTGGACCTCGCCACGGGGCGGGAGCCCGACCGGGAGGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGAGTT
TGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCGGAA
GGGGCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCAGGGG
TGGTCCGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTATAAAGCCCTCAGGGACTTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTGCCAAA
GACCTGAGCGTTCTGGCCCTAAGGGAAGGCCCTTGGCCTCCCGCCGGGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
GGACCTTCCCAACACCCCGAGGGGGTGGCCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGCCGGGGGAGCC
GGCCGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTAGAGGGGAGGAGAGGCTCCTGTGGCTTTAC
CGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTACGGCTGGACGTGGCCTGCC
TGCAGGCCCTTTCCTGGAGCTTTCGGAGGAGATCCGCCGCTCGAGGAGGAGGTCTTCGGCTTGGCGGGCCACCC
CTTCAACCTCAACTCCCGGACCAAGCTGGAAAAGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCATCGGCAAGACG
GAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCCATCCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAG
ATCTGTCAGTACCGGGAGCTCACAAAGTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGGCCGACCTACCCACCCAGGA
CGGGCCGCTCCACACCGCTTCAACCAGAGCCACCGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCA
GAACATCCCCGTCGCAACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCCGGGCTTTCATCGCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTG
GTCTTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCGGCGACGAGAACCTGACCCGGGTCTTCC
AGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCGGCGTCCCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTGA
TGGCCCGGGCGGCCAAGACCATCAACTTCGGGGTTCCTACGGCATGTCCGGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTGGC
CATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCCTTATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCAAGGTGGGGGCTGGATAGAA
AAGACCCCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGCTACGTGGAAACCCCTCTTCGGAAGAAGGGCGTACGTGCCCGACCTC
AACGCCCGGGTGAAGAGTGTGAGGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGACCGCCGCC
GACCTTAAGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTCTTCCCCCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCCTCCAGGTCC
ACGACGAGCTCCTCGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTTGGCCAAGGAGGCCATGGAGA
AGGCCTATCCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

MAMLPFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGPTASRGEVQVVYGFASLLKALKEDGYKAVFVFDKAPSFRHKA
YEAYRAGRAPTEDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLAPLAKKAEKEGFVRIIPAVRGLCPLVSDRVAVLL
PEGLHITPBWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIKKTALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVRBKIK
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDRBGLRAFLERLEFGSLLHEFGLLESPKALBEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGGRVHRAPBPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGEWTEBEAGERAAALSERLFANLWGRLEGBERLLWLYREVDRPLSAVLAHMEATGVRLDVAQLALSLELAEBIRRL
BEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDLGLPAIOKTEKTGKRSTSAALEALREAHPIVEKILQYRELTCLKSTYIDPLDLH
PRTGRLHTRFNQTATATGRLSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIABGWLLVVDYSQIELRVLAHLSGDENLTRVFQEG
RDIHTETASWFMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPEBAQAFIERYFQSFKVRWIEKTLBEGR
KRGYVBTLFGRRRYVPDLNARVKSVRERMAFNMFPVQGTAAADLMKLMVKLFPRLREMGARMLLQVHDELLLEA
PQARABEVAALAKEAMBKAYPLAVPLEVKVIGEDWLSAKB*

5 1B12:

ATGGCGATGCTTCCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGGGTCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCTCATCACGAGCCGGGGCGAAACCGGTGCAGGCGGTCTACGGTTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCCTTCGCCACGAGG
CCTACGAGGCCATAAGGGCGGGGAGGGCCAGCCCGAGGACTTCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCAAGGCTACGAGCGGACGACGTCTCCGCCACCCCTGGCCAA
AAGGGGAAAAGAAGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCGGGACCTCTACCAGCTCGTCTCCGACCG
GTCGCCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCOCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGCCCGGAGC
AGTGGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGA
CCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAATCCTCCTCAAGAACCTGGATCGGGTAAAGCCGGA

ACGTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGAGCTCTCCCGGGTGCCTACCGACCT
CCCCCTGGAGGTGGACCTGCCCCAGGGGGCGGGAGCCCCGACCGGGAAGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTGGA
GTTCCGGCAGCCTCCTCCATGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCCG
GAAGGGGCCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCGCCAG
GGTGGTTCGGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCTCAGGGACTTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCC
AAAGACCTGAGCGTTCCTGGCCCTAAGGGAAGGCCCTTGGCTCCCGCCCCGGGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACC
TCTTGGACCTTCCAACACCCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCTACGGCGGGAGTGACCGGAGGAGGCGGGGG
AGCGGGCCCGCCTTTCGAGAGGCTTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCT
TTACCGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCGGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGGACGTGGCC
TATCTCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCCTGGCCGGCC
ACCCCTTCAACCTCAACTCCCGGGACCGCTGGAAAGGGTCTCTTTGACGAGTTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAA
GACGGAGAGGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGA
GAAGATCCTGACGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGGCCGACCTCATCCACCC
AGGACGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACC
TCCAGAACATCCCCGTCCGCACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCGCCGGGCCCTTCATCGCCGAGGAGGGGTGGCTATT
GGTGGCCCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGCCCCACCTCTCCGGCGACGAGAACCCTGATCCGGGTC
TTCCAGGAGGGGGCGGGACATCCACACGGAGACCGCCAGCTGGATGTTCCGGTGTCCCCCGGAGGCCGTTGGACCC
TGATGCGCCGGCGGCCAAGACGGTGAACCTTCGGCTCCTCTACGGCATGTCCGCCCATAGGCTCTCCAGGAGCT
TTCCATCCCTTAAAGGGRRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLA YLLDPSNTPEGVARR
GAAAAGACCCTGGAGGAGGGGAGGAAAGCGGGGCTACGTGGAACCCTCTTCGGAAGAAGGCGCTACGTGCCCGAC
CTCAACGCCCCGGTGAAGAGCGTCAAGGAGGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCC
GCCGACCTCATGAAGCTGCCATGGTGAAGCTTTCGCCCGCCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCCTCCAGG
TCCACGACGAGCTCCTCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTGGCCAAAGGAGGCCATGG
AGAAGGCCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGGAGGTGGGAATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGT
GA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGLITSRGEVQAVYVFAKSLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRHEAY
EAYKAGRAPTPEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVQGYEADDVLATLAKKAKEKEGYEVRLTADRDL YQLVSDRVAVLH
PEGLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIEKTALKLLKEWGSLEBNLLKNLDRVKPENVREKKA
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDREGLRAFLERLLEFGLLESPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAAGRRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLA YLLDPSNTPEGVARR
YGGFWTEEAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVDRLPSAVLAHMBATGVRLDVA YLRALSLEVAEBIARLE
ABVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDELGLPAIGKTERTKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYDPLPLDI
HPRTGRHLTRFNQTATATGRLLSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVALDYSQIELRVLAHLSGDENLIRVQB
GRDIHTETASWMFGVPPEAVDPLMRRAAKTVNFGVLYGMSAHRLSQELSIPYBEAVAFIERYFQSPFKVRAWIEKLEEG
RKRGYVETLFGRRRYVPDLNARVKS VREAERMAFNMPVQGTAAADMKLAMVKLFPRLREMGARMLLQVHDELLLE
APQARABEVAALAKEAMEKAYPLAVPLEVEVIGEDWLSAKE*

2H2:

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAAACCGGTGACGGTGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCATTCCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGCAGCTCGCCCTCACTAAGGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGTTTACCCGCTCAGGATCCCGGCTACGAGCCGGACGACGTTCTCGCCACCCAGGCCAAG
AAGGGCGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTACCGCCGACCGCGCCTCTACCAACTCGTCTCTGACCGCG
TCGCCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCA
GTGGGTGGACTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACC
GCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAAC
GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCCTTTGGAGCTCTCCCGGGTGGCAGCCGACCTCC
CCCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGCGGGACCCGAGAGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGGAGGCTTGGGT
TGGCGCCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAGGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCCGAA
GGGGCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCGCCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCCGCCAGGGG
TGGTCCGGTCCACCGGGCCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACTTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCCAAA
GACCTGAGCGTCTGGCCCTGAGGGAAGGCCTTGGCCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
GGACCTTCCAACACCCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCGTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGGGGGAGCC
GGCCGCCCTTTCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAAGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTTAC
CGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCGGTGTCTGCTGCTGCTGCCCCACCTGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGGACGCTGGCCTATC
TCAAGGCCCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGCTTTCGCCCTGGCCGCCCGCCACCC
CTTCAACCTCAACTCCCGGGACCGCTGGAAAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACG
GAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCGGCCCGCCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCACCCGTTGGAGAAG
ATCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGGCCGACCTCATCCACCCAGGA
CGGGCCCGCTCCACACCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGACCCCAACCTCCA
GAACATCCCCGTCCGCAACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCCGCCGGCCTTCAATCGCCGAGGAGGAGTGGCTATTGGTG
GTCTGGACTATGCCAGATAGACTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCGGCGACGAGAACCCTGCGGCTTCTCC
AGGAGGGCGGGACATCCACACGGAAACCAGGCTGGATGTTCCGGCTCCCCCGGAGGCCGTTGGACCCCTAA
TGCGCCGGGGCCCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCACCCGCTCTCCAGGAGCTAGC

5

CATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCCTTCATTGAGCGCTACATTCAGAGCTTCCCCAAGGTGCGGGCCTGGATTGAG
AAGACCTTGGAGGAGGGCAGGAGGCGGGGTACGTGGAGACCTCTTCGGCCGCCGTCGCTACGTGCCAGACCTA
GAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGCAGGAGGCGGCCGAGCGCATGCGCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCAGCCGCC
GACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTTCCCCAGGCTGGAAGAAACGGGGGCCAGGATGCTCCTTCAAGTCC
ACGACGAGCTGGTCCCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGCTGGCCCGCTGGCCAAGGAGGCCATGGAGG
GGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRFFALKGPTTSRGEVPQVYVYGAFAKSLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRFKAY
EAYRAGRAPTPEDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKAKEKEGYEVRLTADRGLYQLVSDRVAVLH
PEGLHITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKGIGEKALKLLKBWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIK
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDRERLRAFLELRFEGGLLHBFGLLESFKALBEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKBARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVAR
YGGBWTEEAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSVLAHMEATGVRLDVAYLRALSLEVAEBEARLE
ABVFRLAGHPFNLSRDQLERVLDFDELGLPAIGKTEKTGKRSTGAAVLEALREAHPTVEKILQYRELTKLKSTYIDPLPDL
IHPRTGRHLHTRFNQTATAGRLSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVLDYSQIELRVLAHLSGDNLRVFOE
GRDIHTETASWFMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPIYEEAQAFIBRYIQSFPKVRVWIEKTLBEG
RRRGYVETLFGRRRYVPDLNARVKSAREAAERMAFNMPVQGTAAADLMKMLAMVKLFPRLBETGARMMLLQVHDELVLEA
PKBRABAVARLAKEAMEGVYPLAVPLEVVGIGEDWLSAKE*

1C8:

5

ATGCGTGGTATGCTTCCCTTTTTGAGCCCAAGGGCCCGCTCCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCAC
CTTCTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCGGGGCGAACCAGGTGACGGCGGTCTACGGCTTCGCAAGAGCCTC
CTCAAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCCGCCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCCTCCGCCACG
AGGCCTACGAGGCTACAAGGCGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGG
AGCTGGTGGACCTCCTGGGGTTACCCGCTCGAGGTCCCTGGCTACGAGGCGGACGACGCTCCTGCCACCCCTGGC
CAAGAAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCCGACCTTACCAACTCGTCTCCGA
CCGCGTCCGCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCCTCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCG
GAGCAGTGGTGGACTTCCGCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGGTCAAGGGCA.TCGGGGAG
AAGACCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCA
GAAAACGTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTTCCCGGGTGGCGACCCG
ACCTCCCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGCGGGAGCCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCT
TGAGTTTGGCGGCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGCCCTTGGCCCCCG
CCGGAAGGGGCTTCGTGGCTTTGTGCTTCCCGAAGGACCCATGTGGGCGGATCTTGGCCCTGGCCCGCGC
CAGGGGTGGTCCGCTCCACCGGGCCCCGACCTTATAAAGCCCTCAGGGACTTGAAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTC
GCCAAAGACCTGAGCGTCTGGCCCTAAGGGAAGGCCTTGGCCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCT
ACCTCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGTGGCCCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGG
GGGAGCGGGCGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTG
GCTTTACCGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTACGGCTGGACGTG
GCCTGCTGCAGGCCCTTCCCTGGAGCTTGGCGAGGAGATCCGCGCCTCGAGGAGGAGGCTTCCGCTTGGCGG
GCCACCCCTTCAACCTCAACTCCCGGGACCAGCTGGAAGGGTCTCCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGG
CAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCATCCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGT
GGAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTCCGGAACCTCATCCAC
CCCAGGACGGGCGCCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCA
ACCTCCAGAACATCCCGTCCGCAACCCGCTCGGGCAGGAGGATCCGCGGGCCTTCAATCGCCGAGGAAGGGTGGCT
ATTGTTGGTCTTGGACTATAGCCAGATAGCTCAGGCTGCTGGCCACCTTCCGGCAGGAGACCTGACCCGCG
GTCTTCCAGGAGGGCGGACATCCACACGGAAACCAGGCTGGATGTTGGCGTCCCCCGGAGGCGGTGGAC
CCCTGATGCGCGGGCGGCCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTGGGCCACCGCCTTCCCAGG
AGCTGGCCATCCCTACGAGGAGGCCAGGCTTCAATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTG
GATAGAAAAGACCCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGCTACGTGGAAGCCCTTTCGGAAGAAGGCGCTACGTGCC
CGACCTCAACGCCCGGGTGAAGAGTGTGAGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCAC
CGCCCGGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTTCCCGCCCTCCGGGAGATGGGGCCCGCATGCTCCTCC
AGGTCCACGACGAGCTCCTCGGAGGCCCCCCAAGCTCGCGGGCGAGGAGGTGGCGGCTTTGGCCAAGGAGGCCA
TGGAGAAGGCTATCCCTCGCGTACCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGG
AGTGA

MRGMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRFFALKGPTTSRGEVPQVYVYGAFAKSLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRFHEA
YEAYKAGRAPTPEDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKAKEKEGYEVRLTADRGLYQLVSDRVAVL
HPEGLHITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKGIGEKALKLLKBWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIK
AHLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDRERLRAFLELRFEGGLLHBFGLLESFKALBEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
EPMWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKBARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVAR
RYGGBWTEEAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVRPLSAVLAHMEATGVRLDVACQLALSLELABEARRL
EEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLDFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAILEALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYIDPLPDL
IHPRTGRHLHTRFNQTATAGRLSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVLDYSQIELRVLAHLSGDNLRVFOE
GRDIHTETASWFMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPIYEEAQAFIERYFQSPKVRVWIEKTLBEG
RKRGYVETLFGRRRYVPDLNARVKSAREAAERMAFNMPVQGTAAADLMKMLAMVKLFPRLREMGARMMLLQVHDELLLE
APQARABEVAALAKEAMEKAYPLAVPLEVVGIGEDWLSAKE*

2H10X:

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCAAAGGGCCGTGCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAAACCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCCCATTCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGCGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGTTTACCCGCCCTGAGGTCCCCGGCTACGAGGCGGACGACGTTCTCGCCACCCTGGCCAAG
AAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCGCGGCCCTTACCAACTCGTCTCTGACCGCG
TCGCCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCA
GTGGTGGACTTCGGGCCCTGTTGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACC
GCCTCAAGACTCCTCAAGGAGTGGGGAAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAAC
GTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGATCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGGTGCACCGACCTCC
CCTGGAGGTGGACCTCGCCAGGGGCGGGAGCCCGACCGGGAGGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTAGT
TGGCAGCCTCCTCCAGAGTTCGGCCTTCTGGAAGGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGGCCCCCTGGCCCCCGCGGAA
GGGGCCTTCGTGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCAATGTTGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCCAGGGG
TGTTGAGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAGGCCCTCAGGGACCTGAAGGAGGCGGGGGGCTTCTCGCCAAA
GACCTGAGCGTCTGGCCCTAAGGGAAGGCCCTGGCCCTCCCGCCGGGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCT
GGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGGGGGAGCG
GGCCGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCITGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTTAC
CGGAGGTGGAGAGGCCCTTCCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACGGGGGTGCGCTGGAGCTGGCCTATC
TCAGGGCCTTGTCCCTGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCGGCCACCC
CTTCAACCTCAACTCCCGGGACCAGCTGGAATGGTGTCTTTGACGAGCTTAGGGTTCGCCCTGGGGAAGACG
CAAAAGACGGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAA
ATCCTGCAGTACCGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACTTACATTGACCCCTTGTGGACCTCACCCACCCAGGA
CGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAAGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCA
GAACATCCCGTCCGCACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCGCCGGCCCTTCAATCGCCGAGGAGGGGTGGTACTGGT
GTCTTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTCTGGCCACCTCTCCGGCGACGAAAACCTGATCAGGGTCTTCC
AGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAGACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTGA
TGGCCCGGGCGGCCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCACCCGCTTCCAGGAGCTAGC
CATCCCTTACGAGGAGGCCACGGCTTCAATGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCCAAGGTGGGGCCTGGATTGAG
AAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGCGGGGTACGTGGAGACCCTTTCGGCCCGCCGCGCTACGTGCCAGACCTA
GAGGCCCGGTGAAGAGCGTGGCGGAGGCGGCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCGCC
GACCTCATGAAGTGGCTATGGTGAAGCTCTCCCAAGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCTCAGTCTC
ACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCGGCTGGCCAAAGGAGGTCATGGAGG
GGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

MAMLPLEFPKGRVLLVDGHHLAYRFFALKGPTTSRGEVQVQVYFSAKSLKALKEDGYKAVFVVDKAPPFRHKAY
EAYRAGRAPTPEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLBVPGYEADDVLA TLAKKAEKBYEVRILTADRGLVQLVSDRVAVLH
PEOHLITPEWLWEKYGLRFBQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGBEK TALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKNPENVREKKA
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDREGLRAFLERLBFGSLLHEFGLLESFKALEHAPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGRVRHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARR
YGGEWTEEAGERAAALSERL FANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRALSLEVAEBIARLE
AEVFRLAGHPFNLSRDQLEMVLFDBLRLPALGKTQKTKRSTSAVLEALREAHPTVEKILQYRELTCLKSTYIDPLSDL
IHPRTGRHLHTRFNQTATATGR LSSSDPNLQNPVVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVLDYSQIBLRVLAHLSGDENLRVFB
GRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAPYEBAQAFIBRYFQSFPKVRAWIEKTLBEG
RRRGYVBTLFGRRRYVFDLBARVKSVRBAERMAFNMPVQGTAA DMLKMLAMVKLPPRLEEMGARMLLQVHDELVLE
APKERABAVARLAKEVMGQVYPLAVPLEVEVGIGEDWLSAKE*

3A10

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCAAAGGGCCGGTCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTT
CTTCGCCCTGAAGGGCCCTCACCACGAGCCGGGGCGAAACCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTC
AAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCCCATTCGCCACAAGG
CCTACGAGGCCTACAGGGCGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCT
GGTGGACCTCCTGGGTTTACCCGCCCTGAGGTCCCCGGCTACGAGGCGGACGACGTTCTCGCCACCCTGGCCAAG
AAGGCGGAAAAGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCGACCGCGGCCCTTACCAACTCGTCTCCGACCGC
GTCGCCGTCTCCACCCCGAGGGCCACCTCATCAACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGC
AGTGGGTGGACTTCGGCCGCCCTGTTGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGA
CCGCCCTCAAGCTCCTCAAGGAGTGGGGAAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAA
ACGTCCGGGAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTTCCCGGGTGCACCCGACCT
CCCCCTGGAGGTTGACCTCGCCAGGGGCGGGACCCGACCCGGAGGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGA
GTTTGGCAGCTTCCACGAGTTCGGCTTCTGGAAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTTGGCCCGCCCGCG
GAAGGGGCCTTCGTGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCAATGTTGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCCGCCAG
GGGTGGTTCGAGTCCACAGGCCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGACCTGAAGGAGCGCGGGGGCTTCTCGCC
AAAGACCTGAGCGTCTGGCCCTAAGGGAAAGGCCTTGGCTTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACC
TCTGGACCCCTTCAACACCCACCCCGAGGGGTGGCCCGGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGGGG
AGCGGGCCGCCCTTCCGAGAGGCTTTCGCCAACCTGTGGGGAGGCTTAGGGGGAGGAGGCTTGGCTTGGCT
TTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCGCTGTCTGGCCACATGGAGACCACGGGGGTGCGCTGGACCTGGCC
TATCTCAGGGCCTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCGGCC
GCCCTTCAAACCTCAACTCCCGAGACCAGCTGGAAGAGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAA
GACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGCTCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGA

GAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGCCGGACCTCATCCACCCC
AGGACGGGGCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACC
TCCAGAACATCCCCGCTCCGACACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCGCCGGGCTTTCATCGCCGAGGAGGGGTGGCTATT
GGTGGTCTGGACTATAGCCAGATGGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCGGGACGAGAACCTGATCAGGGTC
TTCCAGGAGGGGAAGGACATCCACACCCAGACCGCAAGCTGGATGTTCCGGTGTCCCCCGGAGGCCGTGGACCCCC
TGATGCGCCGGGCGCCAAAGACGGTGAACCTCGGCGTCTCTACGGCATGTCCGCCATAGGCTCTCCAGGAGCT
TTCCATCCCTACGAGGAGGGGTGGCTTCATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGATT
GAGAAAGCCCTGGAGGAGGGCAGGAGGCCGGGGTACGTGGAGACCCCTTTCGGCCGCCCGCTACGTGCCCGAC
CTCAACGCCCGGATGAAGAGCGTCAAGGGGGCCGGAGCGCATGGCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCC
GCCGACCTCATGAAGCTCGCCATGTTGAAGCTCTTCCCGCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCTCCAGG
TCCACGACGAGCTCTCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTTGGCCAAGGAGGCCATGG
AGAAAGCCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGT
GA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGLTTSRGEVQVYVYGFSAKSLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRHKAY
EAYRAGRPTQDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLAFLAKKAEKEGYEVRLTADRGLYQLVSDRVAVLH
PEGLHITPBWLWEKYGLRPEQVWDFRALVGDPSDNLPGVKIGEKALKLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKKA
HLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDREGLRAFLERLEBFSLLHEFGLLESFKALBEPWPPPEGAFVGFVLSRKE
PMWADLLALAAARGRRVHQAPFPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVAR
RYGGEWTEBAGERAAALSERLFANLWGRLEBGERLLWLYREVERPLSAVLAHMBTTGVRLDVAYLRLSLEVAEBIARL
EAEVFRLAGRPFNLNSRDQLERLVFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAALBREALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYIDPLPDL
IHPRTGRLHTRFNQTATA TGRLLSSDNLQNPVRLPLGQRIRRAFLAEBGWLLVVDLDSQMBLRLVLAHLSGDENLRVVFQ
EGKDIHTQTASWFMFGVPEAVDPLMRRAAKTVNFGVLYGMSAHRLSQELSIPIYEEAVAFIERYFQSFPKVRAWIEKTL
EGRRRGYVETLFGRRRYVVDLNRMKSVRGAERMAFNMPVQGTAAADLMKLAMVKLFPRLREMGARMMLLQVHDBLL
LEAPQARAEVAALAKBAMEKAYPLAVPLEVEVGGEDWLSAKE*

3B5

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGTGCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACTCCT
TCGCCCTGAAGGGCCCCACCGAGCCGGGGCGAACCGGTGCAAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTCAAGG
CCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGCTCTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCCATTCGCCACAAGGCCTACG
AGGCCTACAGGGCGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCGGCAGCTCGCCCTCGTCAAGGAGCTGGTGGACC
TCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCGGCTACGAGGGCGGACGACTTCTCGCCACCTTGCCCAAGAAGGGCGAAA
AGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGGGCTTACCAACTCGTCTCTGACCGCGTCCCGTCTCCCA
CCCCGAGGCCACCTCATCACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGAGCAGTGGGTGGACTTCCG
CGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCGCCCTCAAGCTCTCAA
GGAGTGGGAAGCCTGGA AAAACCTCTCAAGAACCTGGACCGGTAAGGCCAGAAAACGTCCGGGAGAAATCAAGG
CCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGTGCGCACCGACCTCCCCCTGGAGGTGGACCTCGCCCA
GGGCGGGGACCCGACCGGAAAAGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGCTTGAGTTTGGCAGCCTCTCCATGAGTTCGG
CCTTCTGAAAAGCCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTTGGCCCGCCGGAAGGGGCTTCTGGTGGCTTTGTGCTTCC
CGCAAGGGCCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCGCCAGGGGTGGTGGGTCTACCGGGCCCCGAGCCT
TATAAGCCCTCAGGGACTTGAAGGAGGGCGGGGGCTTCTCGCCAAAAGACCTGAGCGTCTTGGCCCTAAGGGAAGGC
CTTGGCCTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCTCTCGCTACCTCTGGACCTTCCAACACCACCCCGGGGGGTGG
CCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGAGGAGCGGGGAGCGGGCCGCTTCCGAGAGCTCTCGCCAAAGCTTGA
CCCCTTGCCGACCTCATCCACCCAGGACGGCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGACG
GCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAATCCCGTCCGACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCCGGGGCTTCTC
GCCGAGGAGGGGTGGCTACTGGTGGTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCTCACCTCTCCGGCGAC
GAAAACCTGATCAGGGTCTTCCAGGAGGGGGCGGACATCCACAGGAGACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGG
GAGGCCGTGACCCCTGATGCGCCGGGCGGCCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCACCGC
CTCTCCAGGAGCTAGCCA TCCCTTACGAGGAGGCCAAGCCCTTCAATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGGTGC
GGCCCTGGATTGAGAAGGCCCTGGAGGAGGCCAGGAGCGGGGGTACGTGGAGACCTTCTCGGAAGAAGGCCTAC
GTGCCGACCTCAACGCCCGGGTGAAGAGTGTCAAGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTCAACATGCCCGTCCAGGCC
ACCGCCCGGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTTCCCCCGCTCCGGGAGATGGGGCCCGCATGCTCCTCC
AGGTCACGACGAGCTCCTCCTGGAGGCCCCCCAAGCCGCGGGCCGAGGAGGTGGCCGCTTTGGCCAAGGAGGCCATG
GAGAAGGCCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA
MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTSFAKGLTTSRGEVQVYVYGFSAKSLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRHKAYEA
YRAGRPTPEDFRQLALVLIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLAFLAKKAEKEGYEVRLTADRGLYQLVSDRVAVLHPEGL
LITPBWLWEKYGLRPEQVWDFRALVGDPSDNLPGVKIGEKALKLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKKAHLEDLRL
SLELSRVRTDLPLEVDLAQGREPDREGLRAFLERLEBFSLLHEFGLLESFKALBEPWPPPEGAFVGFVLSRKE
AAARGRRVYRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARYGGBWTEBAGE
RAALSBRFLFANLWGRLEBGERLLWLYREVDRLSAVLAHMBTGVRLDVAQLALSLELABEIRREBEEVFRLAGHTFNLN
SRDQLERLVFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAALBREALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYIDPLPDLIHPRTGRLHTRFNQTATA
TGRLLSSDNLQNPVRLPLGQRIRRAFLAEBGWLLVVDLDSQMBLRLVLAHLSGDENLRVVFQEBGRDIHTETASWFMFGVPEA
VDPLMRRAAKTVNFGVLYGMSAHRLSQELSIPIYEEAVAFIERYFQSFPKVRAWIEKALEEGRRRGYVETLFGRRRYVVDLNA
RVKSVREAAERMAFNMPVQGTAAADLMKLAMVKLFPRLREMGARMMLLQVHDBLLEAPQARAEVAALAKBAMEKAYPL
AVPLBVKVGGEDWLSAKE*

3B6

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCAAAGGGCCGCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCCTTCT
TCGCCCTGAAGGGCCTCACCACGAGCCGGGGCGAACCCTGTCAGGCGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTCAAGG
CCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCCTTCGCCACGAGGCCTACG
AGGCCTACAAGGGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCOCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGACC
TCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCAAGGCTACGAGGCGGACGACGTCTCGCCACCCTGGCCAAGAAGGGGAAA
AAGAAGGGTACGAGGTGGCCTACCTCACCGCCGACCGGGACCTTACCAGCTCGTCTCCGACCGCTCGCCCTCTCC
ACCCCGAGGGCCACCTCATACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCAGTGGGTGGACTTCC
GCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCAACAACCTCCCGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGAACCCTCAAGCTCTCA
AGGAGTGGGGAAGCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAACCTCGGGGAGAAGTCAAG
GCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGGTGGCACCAGCTCCCCCTGGAGGTGGACCTCGCC
AGGGCGGGGAGCTCGACCGGGGAGAGGCTTAGGGCTTCTGGAGAGGCTTGGTTTGGCGGCTCTCCACGAGTTCG
GCCTTCTGAAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTGGCCCCCGCGAAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTC
CCGCAAGGAGCCCATGTGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCCGCCAGGGGTGGTTCGGTCCACCGGGCCCCGAGCC
TTATAAGCCCTCAGGACTTGAAGGAGGCGCGGGGCTTCTGCCAAGACCTGAGCGTCTGGCCCTAAGGGAAAGG
CCTTGGCCCTCCGCGCCGGCAGACCCCATGCTCCTCGCTACCTCTGGACCTTCCAACACCGCCCCGAGGGGGTG
GCCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGGGGAGCGGGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCT
GTGGGGGAGGCTTGAAGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTACCGGGAGTGGATAGGCCCTTTCGGCTGTCTGGC
CCACATGGAGGCCACAGGGGTACGGCTGGACGTGGCTATCTCAGGGCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGC
GCGCTCGAGGGCGAGGTCTTCCGCTGGCCGGCCACCCTTCAACCTCAACTCCCGAGACCAGCTGGAAAGGGTCTC
TTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCTCTGGAG
GCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAGATCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACCTACATT
GACCCCTTGGCAACCTCATCCATCCAGGACGGCCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGC
AGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACAATCCCATGCGACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCCGCCGGCTTC
ATCGCCGAGGAGGGGTGGCTTTGGTGGTCTCGACTGGACTAGCGAGATAGAGCTCAGGGTGGCCACCTCTCCGGC
GACGAGAACCTGATCCGGGTCTTCCAGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCC
CGGGAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGGCGGCAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGGCCAC
CGCCTTCCCAGGAGCTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGGCTTCAATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGG
TGCGGGCTGGATAGAAAAGACCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGGCTACGTGGAAACCTCTTCGGAAGAAGGCGC
TACGTCCCGGACCTCAACGCCCGGTGAAGGCGCTCAGGGAGCCCGGGAGCGCATGGCCCTCAACATGCCCGTCCAG
GGCACCGCCGCCACTCATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTTTCGCCCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTC
CTCCAGGTCCACGACGAGCTCCTCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGGGAGGTGGCGGCTTGGCCAAGGAGGCC
ATGGAGAAGGCCTATCCCTCGCGTACCCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAG
TGA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHLAYRAFFALKGLTTSRGEVQAVYGFASLLKALKEDGYKAVFVFDKAPSRHEAYEA
YKAGRAPTEPDEFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVQGYBADDVLATLAKKAEKBYEVRILTADRDLVQLVSDRVAVLHPBGH
LITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSNPLPGVKIGEKALTKLLKEWGSLENLKNLDRVKNPENVRKIKAHLEDLRL
SLELSRVRTDPLVLEVDLQGRELDRERLRAFLERLFGLLHEFLGLLESPKALEEAPWPPPEGAFVGFVLSRKEPMWADLLA
LAAARGRRVHRAPFYKALRDLKBARGLLAKDLSVLALREGLGLPDDPMLLAYLLDPSNTAPEGVARRYRWBWITBAG
ERAALESERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVDRLPSAVLAHMEATGVRLDVAYLRLSLEVAEBIARLEAEVFRLAGHPENL
NSRDQLERVLFDELGLPAIGKTEKTKRSTSAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKS TYIDPLPNLHPRTGR LHTRFNQTA
TATGRLSSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVLDYSQIBLRVLAHLSGDNLRVFEGRDIHTETASWMFGVPRE
AVDPLMRRAAKTTNFGVLYGMSAHRLSQELAIPEYBAQAFIERFYQSFPKVRAWIBKLEGRKRGYVETLFGRRRYVPDLN
ARVKGVREAAERMAFNMPVQGTAAADLMKLAMVKLFPRLREMGARMLLQVHDEBLLLEAPQARAGEVAALAKBAMEKAY
PLAVPLEVKVIGEDWLSAKB*

3B8

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCAAAGGGCCGGTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTTCT
TCGCCCTGAAGGGCCTCACCACGAGCCGGGGCGAACCCTGTCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTCAAGG
CCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCCTTCGCCACGAGGCCTACG
AGGCCTACAAGGGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCTCGGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGACC
TCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCAAGGCTACGAGGCGGACGACGTCTCGCCACCCTGGCCAAGAAGGGGAAA
AAGAAGGGTACGAGGTGGCCTACCTCACCGCCGACCGGGACCTTACCAGCTCGTCTCCGACCGCTCGCCCTCTCC
ACCCGAGGGCCACCTCATCACCCTGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGAGCAGTGGAGTGGACTCC
GCGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCCCTCAAGCTCCTCA
AGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGCTGAAGCCCGCCATCCGGGAGAAGATCTGGCC
CACATGGACGATCTGAAGCTCTCCTGGGACTGGCCAAGGTGCGCACCGACCTGCCCTAGAGGTGGACTTCGCCAAA
AGGGGGAGCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGCTTGGAGCTTGGCAGCTCTCCACGAGTTCGGC
CTTCTGAAAAGCCCAAGACCTGGAGGAGGCTCTGGCCCCCGGAAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTC
GCAAGGAGCCCATGTGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCCGCCAGGGGGGGCCGGTCCACGGGGCCCCGAGCCTT
ATAAAGCCCTCAGGGACCTGAAGGAGGCGGGGGCTTCTGCCAAAAGACCTGAGCGTCTGGCCCTAAGGGAAAGGCC
TTGGCCTCCCGCCGGCAGCACCCCATGCTCCTCGCTACCTTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGTGGC
CCGGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGAAGGAGGCGGGGGTACCGGGAGGTGGATAGCCCTTTCGGCTGTCTGGCC
ACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCTTGGACGTGGCCTATCTCAGGGCTTGTCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCC
GCCTCGAGGGCGAGGCTTCCGCTGGCCGCCATCCCTTCAACCTCAACTCCCGGACCGCTGGAAAGGGTCTCTT
TGACGAGCTAGGGCTTCCCGCATCGGCAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCCGCTCTGGAGGC
CCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAGATCTTCGAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGA
CCCCTTGGCGACCTCATCCACCCAGGACGGCCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAG
GCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACAATCCCGTCCGACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCCGGGCTTCGT

GCCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTGGTCTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCGGCGAC
GAGAACCTGACCCGGGTCTTCTGGAGGGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCGTCCCCCGG
GAGGCCGTGACCCCTGATGCGCCGGGGGGCCAAAGACCATCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCGGCCACCCG
CTCTCCACGAGCTGGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCCAAGGTGC
GGCCTGGATAGAAAAGACCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGGCTACGTGGAACCCCTCTTGGGAAGAAGGCGCTAC
GTGCCCGACCTCAACGCCCGGTGAAGAGTGTACGGAAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGC
ACCGCCGCGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTTCTCCCCCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCTCC
AGGTCCACGACGAGCTCCTCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTGGCCAAGGAGGCCATG
GAGAAGGCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGAAGGAGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCCAAGGAGTG
A

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGLTTSRGPVQVYVYGFASLLKALKEDGYKAVFVVFDAKAPSLRHBAEYEA
YKAGRAPTPEDFLRQLALIKELVDLLGFTRLBVQGYEADDVLA TLAKKAEKEGYEVRLTADRDLYQLVSDRVA VLHPEGH
LITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIKTALKLLKEWGSLENLLKNLDRKPAIREKILAHMDDLKLS
WDLAKVRTDPLLEVDFAKRREPDRERLRAFLERLBELGSLHHEFGLLESPKTLLEEASWPPPEGAFVGFVLSRKEPMMWADLLAL
AAARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLA LREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARRYGGEWTEKAGE
RAALSERLFANLWRLEGBERLLWLYREVDRLSAVLAHMBATGVRLDVAYLRALSLEVABBIARLEAEVFLAGHPFNLN
SRDQLBRVLFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTCLKSTYIDPLPDLIHPRTGRLHTRFNQTAT
ATGRILSSDPNLQNPVTRPLGQRIRRAFVABEGWLLVVDYSQIELRVLAHLSGDNLTRVFLBGRDIHTETASWFMFGVPRE
AVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAPYEEAQA FIERVYFQSFPKVRA WIEKTLBGRKRKYVETLFGRRRYVPDLN
ARVKSVRLEAERMAFNMPVQGTAAADLMKLAMVKLFPRLREMGARMLLQVHDELLEAPQARAEVVAALAKBAMEKAYP
LAVPLEVKVIGEDWLSAKE*

3B10
ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCAAAGGGCCGCTCCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCTACCGCACCTTCT
TCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCCTGTCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCTCAAGG
CCCTGAAGAGGACGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGAGCCAAAGGCCCTCATTCGCCACAAGGCCCTACG
AGGCTACAGGGCGGGAGGGCCCCGACCCCGGAGGACTCCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGAC
TCCTGGGGTTTACCCGCTCAGGTCGCCGCTACGAGCGGACGACGTTCTCGCCACCCTGGCCAAAGAGGGCGAAA
AGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCCTCACCGCCAGCCGCGCTTACCAACTCGCTCTCTGACCCGCTGAGGGCCTCCA
CCCCGAGGGCCACCTCATCACCCCGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCTCAGGCCGGAGCAGTGGGTGGACTTCCG
CGCCTCGTGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCCGCTCAAGCTCTCAA
GGAGTGGGAAGCTGGAAAACCTCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAACCTCGGGGAGAAGATCAAGG
CCACCTGAAGAAGCTCAGGCTCTCTCTGGAGCTCTCCGGCTCGCACCCGACCTCCCCCTGAGGGGAGGAGCCCA
GGGGCGGAGCCCGACCGGAGAGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGCTTGAGTTTGGCGGCTCTCTCACGAGTTCGG
CCTTCTGAAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTTGGCCCCCGCCGGAAGGGGCTTCTGGGGCTTTGTGCTTCC
CGCAAGGAGCCCATGTTGGGCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCGCCAGGGGTGGTTCGGGTCCACCGGGCCCTGAGCT
TATAAAGCCCTCAGGGACTTGAAGGAGGGCGGGGCTTCTCGCCAAAGACCTGAGCGTTCTGGCCCTGAGGGAAGGC
CTTGGCCTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCTACCTCTGGACCCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTGG
CCCGCCCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGGGGAGCGGGCCGCTTTCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGT
GGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTACCGGGAGGTGGAGAGACCCCTTTCCGTGTCTGGCCC
ACATGGAGGCCACGGGGTGGCCTGGACCTGGCCCTTCAAGGCTTTCCTCCGAGAGCTGGAGGAGGATGCGCCC
GCCTCGAGCCGAGGTCTTCGCTGGCCGGCCACCCCTTCAACCTCAACTCCCGAGACGAGCTGGAAAGGGTCTCTT
TGACGAGCTAGGGCTTCCCGCATCGGCAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCTCTGGAGGC
CCTCCGCGAGGCCACCCATCGTGGAGAAGATCTCTGAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGACCTACATTGA
CCCTTGGCGACCATCCACCCAGGACGGCCCTCCACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGACGAG
GCTAAGTACGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACATCCCGCTCGCACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCCGCGCCCTTCA
GCCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTGGTCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCGGCGAC
GAGAACCTGACCCGGTCTTCCAGGAGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCGTCCCCCG
GAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGGGCGCCAAAGACCACTCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCGGCCACCCG
CTCTCCAGGAGCTGGCCATCCCTTACGAGGAGGGCCAGCCCTTCAATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCCAAGGTG
GGCCTGGATAGAAAAGACCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGGCTACGTGGAACCCCTCTTGGGAAGAAGGGCTAC
GTGCCCGACCTCAACGCCCGGGTGAAGAGTGTACGGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGC
ACCGCCGCGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTTCAACCCCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCTCC
AGGTCCACGACGAGCTCCTCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGAGGAGGTGGCGGCTTGGCCAAGGAGGCCATG
GAGAAGGCTATCCCTCGCCGTACCCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTG
AGTCGACCTGCAGGCAGCGCTTGGCGTACCCGAGTTCGGTGGTTAA

MAMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGPTTSRGPVQVYVYGFASLLKALKEDGYKAVFVVFDAKAPSRHKAHYEA
YRAGRAPTPEDFLRQLALIKELVDLLGFTRLBVQGYEADDVLA TLAKKAEKEGYEVRLTADRGLYQLVSDRVA VLHPEGH
ITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKIGIKTALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIKAHLEDLRLS
LELSRVRTDPLLEVDLAQQREPDRERLRAFLERLBELGSLHHEFGLLESPKALEBAPWPPPEGAFVGFVLSRKEPMMWADLLAL
AAARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLA LREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARRYGGEWTEBAGE
RAALSERLFANLWRLEGBERLLWLYREVERPLSAVLAHMBATGVRLDVAYLRALSLEVABBIARLEAEVFLAGHPFNLN
SRDQLBRVLFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTCLKSTYIDPLPDLIHPRTGRLHTRFNQTAT
ATGRILSSDPNLQNPVTRPLGQRIRRAFVABEGWLLVVDYSQIELRVLAHLSGDNLTRVFLBGRDIHTETASWFMFGVPRE
AVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAPYEEAQA FIERVYFQSFPKVRA WIEKTLBGRKRKYVETLFGRRRYVPDLN
ARVKSVRLEAERMAFNMPVQGTAAADLMKLAMVKLFPRLREMGARMLLQVHDELLEAPQARAEVVAALAKEAMEKAYP
LAVPLEVKVIGEDWLSAQVSRPAGSAWRHPQFG*

3C12

ATGGCGATGCTTCCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTTCT
TCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCTCAAGG
CCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCATTCGCCACAAGGCCCTACG
AGGCCTACAGGGCGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGACC
TCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCGGTACGAGGGCGACGACGTCTCGCCACCCTGGCCAAGAAGGGCGAAA
AGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGGGCTCTACCAACTCGTCTCTGACCGCGTCCGGTCTCCA
CCCCGAGGGCCACCTCATCACCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGGAGCAGTGGGTAGACTTCCG
CGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCGCCCTCAAGCTCTCAA
GGAGTGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAACGTCCGGGAGAAGATCAAGG
CCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGTGCGCACCCGACCTCCCCCTGGAGGTGGACCTCGCCCA
GGGGCGGGAGCCCGACCGGGAGGGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGGCTTGAGTTTGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGG
CCTTCTGGAAGCCCCAAGGCCCTGGAGGAGGGCCCTTGGCCCCCGCCGGAAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTCA
CGAAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCGCCAGGGGTGGTCCGGGTCCACCGGCCCCCGAGCCT
TATAAAGCCCTCAGGACTTGAAGGAGGGCGGGGGCTTCTGCCAAAGACCTGAGCGTCTGGCCCTAAGGGAAGGC
CTTGGCTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCTACTCTGGACCCCTCCAAACACCCGCCCGAGGGGTGG
CCCGGCCGTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGCGGGGGAGCGGGCCGCCCTTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGT
GGGGGAGGCTTAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTACCGGGAGGTGGATAGGCCCTTTCCGCTGTCTGGCCC
ACATGGAGGCCACAGGGGTACGGCTGGACGTGGCCTGCCTGCAGGCCCTTTCCCTGGAGCTTCCGGAGGAGATCCGCC
GCCTCGAGGAGGAGTCTTCCGCTTGGCGGGCCACCCTTCAACCTCAACTCCCGGGACCAGTGGAAAAGGGTCCCTTT
TGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACGGAGAAGACCCGCAAGCGCTCCACCAGCCCGCCATCTGGAGGC
CCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAGATCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGA
CCCCTTGGCGGACCTCATCCACCCAGGACGGCCCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAG
GCTAAGTAGCTCCGGTCCCAACCTCCAGAACATCCCCGTCCGACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCGGGCCCTTCGTC
GCCGAGGAGGGGTGGCTATTGGTGGTCTTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTTCCGGCGAC
GAGAACCTGACCCGGTCTTCCCTGGAGGGGGGACATCCACACGAAAACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGG
GAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGGGCCCAAGACCACTCAACTTCGGGGTCTCTACGGCATGTCCGCCACC GC
CTCTCCAAGGAGCTGGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCATAGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCAAGGTGC
GGGCTGGATAGAAAAGACCCCTGGAGGAGGGGAGGAAGCGGGGCTACGTGGAACCCCTCTTCGGAAGAAGGGCGTAC
GTGCCGACCTCAACGCCCGGGTGAAGAGTGTACGGGAGCCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGC
ACCGCCGCCGACCTTATGAAGCTCGCCATGGTGAAGCTCTTCCCCCGCTCCGGGAGATGGGGGCCCGCATGCTCCTCC
AGGTCCACGACGAGCTCCTCCTGGAGGCCCCCAAGCGCGGGCCGAGGAAGTGGCGGCTTTGGCCAAGGAGGCATG
GAGAAGGCCTATCCCCTCGCCGTACCCTGGAGGTGAAGGTGGGGATCGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

MAMFLPFBPKGRVLLVDGHHLAYRFFALKGFTTSRGPVQVVYGFAKSLLKALKEDGYKAVFVFDAPKAPSRHKAYEA
YRAGRAPTPEDFRQLALIKELVDLLGFTRLEVPGYEADDVLATLAKKAEKBYEVRI LTADRGLYQLVSDRVAVLHPEGLH
ITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKHGIEKTKALKLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIKAHLEDLRLS
LELSRVRTLPLEVDLAQGREPDREGLRAFLEFGLSLLHEFGLLLESPKALEBAPWPPPEGAFVGFVLSRKEPMWADLLAL
AAARGGRVHRAPEYKALRDLKEARGLLAKDLVLAALREGLLPPGDDPMLLA YLLDPSNTAPEGVARRYGGEBWTBEAGB
RAALSERLFANLWRYLEGEERLLWLRYEVDRLSAVLAHMEATGVRLDVAQLALSLELABEIRLLEEVEFRLAGHPFNLN
SRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTSAAILBALREAHPIVEKILQYRBLTKLSTYIDPLDLIHPRTRGLHTRFNQTATA
TGRLSSSGNLQNPVRIPLGQRRRAFVAEBGWLLVLDYSQIBLRVLAHLSGDNLTRVLEGRDIHTETASWMFGVPREA
VDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPEBAQAFIBRYFQSFVKVRAWIEKTLBEGRKRGRYVETLFGRRRYVPDLNA
RVKSVREAAERMAFNMPVQGTAAADLMKLA MVKLFPRLEMGARMLLQVHDBLLEAPQARAEBVAALAKEBAMEKAYPL
AVPLEVKVGIGEDWLSAKB*

3D1

ATGGCGATGCTTCCCCTCTTTGAGCCCAAGGGCCGCGTCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTACCGCACCTTCT
TCGCCCTGAAGGGCCCCACCACGAGCCGGGGCGAACCCGGTGCAGGTGGTCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCTCAAGG
CCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAGGCCCCCTCATTCGCCACAAGGCCCTACG
AGGCCTACAGGGCGGGGAGGGCCCCGACCCCGAGGACTTCCCCGGCAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGACC
TCCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCCGGTACGAGGGCGGACGACGTCTCGCCACCCTGGCCAAGAAGGGCGAAA
AGGAGGGGTACGAGGTGCGCATCTCACCGCCGACCGGGCCTTACCAACTCGTCTCTGACCGCTCGCCGTCCGCCA
CCCCSAGGGCCACCTCATCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCCGGAGCAGTGGGTGGACTTCCG
CGCCCTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCGCCCTCAAGCTCTCAA
GGAGTGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAACGTCCGGGAGAAGATCAAGG
CCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGTGCGCACCCGACCTCCCCCTGGAGGTGGACCTCGCCCA
GAGCGGGAGCCCGACCGGGAGGGCTTAGGGCCTTCTGGAGAGGCTTGAGTTTGGCAGCCTTCCACGAGTTCGG
CCTTCTGGAAGGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCCGGAAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTC
CGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCCCTGGCCGCGCCAGGGGTGGTTCGAGTCCACCGGGCCCCCGAGCCT
TATAAAGCCCTCAGGACCTGAAGGAGGGCGGGGGCTTCTCGCCAAAAGACCTGAGCGTCTTGGCCCTAAGGGAAGGC
CTTGGCTCCCGCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCTACTCTGGACCCCTTCCAAACACCACCCCGAGGGGGTGG
CCCGCGCTACCGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGGCGGGGAGCGGGGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAAGCTGT
GGGGAGGCTTAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCCGCTGTCTGGCCC
ACATGGAGGCCACGGGGTGCCTTGCAGTGGCTATCTCAGGGCTTGTCCCTGGAAGTGGCCGAGGAGATCGCCC
GCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTTGGCCGGCCACCCTTCAACCTCAACTCCCGGGACAGCTGGAATGGTGTCTT
TGACGAGCTTAGGGCTTCCCCTTGGGGAAGACGCAAAAGACGGGCAAGCGCTCCACCAGCCCGCGCTCTGGAGGC
CCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAGATCCTGCAAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAAGACCTACATTGA
CCCCTTGTGGACCTCATCCACCCAGGACGGGGCGCTCCACACCCGCTTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAG
GCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACATCCCCTCCGACCCCGCTTGGGAGAGGATCCGCCGGGCTTTCATC
GCCGAGGAGGGGTGGCTACTGGTGGTCTTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTTCCGGCGAC
GAAAACCTGATCAGGGTCTTCCAGGAGGGGGGACATCCACACGGAGACCGCCAGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGG

GAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGCGGCCAAGACCATCAACTTCGGGGTCCTCTACGGCATGTCGGCCACCCGCTCTCCCAGGAGCTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCATGAGCGCTACTTTCAGAGCTCCCCAAGGTGCGGCCTGGATTGAGAAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGGGGGTACGTGGAGACCCTCTTCGGCCGCCCGCTACGTGCCAGACCTAGAGGCCCGGTGAAGAGCGTGCGGGAGGGCGCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCCGCCGACCTCATGAAGCTGCTATGGTGAAGCTCTTCCCCAGGCTGGGAGAAAACGGGGGCCAGGATGCTCCTTCAGGTCCACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAGGAGGCCATGGAGGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGGTTAG

MAMLPLFBPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGPTTSRGPVQVYGFSAKSLKALKEDGYKAVFVVDKAPSRHKAYEAYRAGRAPTPEDFRQLALIKBLVDLLGFTRLEVPGYEADDVLA TLAKKAEKEGYEVRLTADRGLYQLVSDRVA VLHPBGHLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGVKGIGEKALLLKEWGSLENLLKNLDRVKPENVREKIKAHLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDLAQRREPDREGLRAFLERFGLSEFGLLESPKALEBAPWPPPEGA FVGFVLSRKEP MWADLLALA AARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARRYGGEWTEEAGERAAISERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRALSLEVABBIARLBAEVFRLAGHPFNLSRDQLEMVLFDELRLPALGKTQKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYIDPLSDLIHPRTGRLHTRFNQTATATGRLSSSDPNLQNPVRTPLGQRIRRAFIABEGWLLVVDYSQIELRVLAHLSG DENLRV FQEGRDIHTETASWMFGVPREAVDPLMRRAAKTINFGVLYGMSAHLRSQELAIPEYEAQAFIERYFQSFPPKVRAWIEKTLBEGRRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKS VREAAERMAFNMPVQGTAAADLMKCLAMVKLFPRLGETGARMMLQVHDELVLBAPKERRA BAVARLAKEAMEGVYPLAVPLEVEVGIGEDWLSAKG*

Ejemplo 11: Evitación del sitio abásico por el clon de extensión de desapareamientos en la PCR

- 5 Se ensayó la capacidad de una lista de polimerasas seleccionadas por extender cuatro desapareamientos para extender los sitios abásicos en la PCR (Figura 10). C12 y D1, que también pueden extender cuatro cebadores desapareados en la PCR, así como A10, B6 y B8, que no pueden, todos ellos generaron un producto de amplificación.

10 Ejemplo 12: Evitación del sitio abásico por el clon de extensión de desapareamientos en la PCR

- 15 Se ensayó la capacidad de una lista de polimerasas seleccionadas por extender cuatro desapareamientos para extender los sitios abásicos en la PCR (Figura 10). C12 y D1, que también pueden extender cuatro cebadores desapareados en la PCR, así como A10, B6 y B8, que no pueden, todos ellos generaron un producto de amplificación.

Ejemplo 13: Actividad de síntesis translesión por el clon de extensión de desapareamientos determinado mediante ensayos de extensión de cebadores

- 20 Se ensayaron siete polimerasas para determinar su capacidad de evitar los sitios abásicos en un ensayo de extensión de cebadores (Figura 11).

Los ensayos de extensión de cebadores fueron esencialmente como se describe en (Ghadessy *et al.*, 2004). En resumen, los oligonucleótidos intactos y un 51-mero que contenía un sitio abásico sintético fueron sintetizados por los laboratorios Lofstrand (Gaithersburg, MD) usando técnicas convencionales, y se purificaron en gel antes de su uso. Se marcó en 5' un cebador 20-mérico (LES_20P) con la secuencia 5'-CGTGGTCGCGACGGATGCCG-3' con [³²P]ATP (5.000 Ci/mmol; 1 Ci = 37 GBq) (Farmacia) usando la quinasa polinucleotídica T4 (Invitrogen, Carlsbad CA). Se prepararon ADN de cebador-molde marcados radiactivamente mediante la hibridación del cebador 20-mérico marcado en 5' con [³²P] a uno de los dos siguientes moldes 51-méricos (en una proporción molar de cebador con respecto al molde de 1:1,5). 1) ADN intacto (UNDT51T); 5 -AGC TAC CAT GCC TGC ACG AAT TCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG GTC GCA GCG-3'; 2) un oligo (LABA51T) que contenía un sitio abásico sintético (indicado como una X en negrita); 5'-AGC TAC CAT GCC TGC ACG ACA XCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG GTC GCA GCG-3'. Las reacciones de replicación convencionales de 10 µl contenían Tris•HCl 40 mM a pH 8,0, MgCl₂ 5 mM, 100 µM de cada dNTP ultrapuro (Amersham Pharmacia Biotech, NJ), DTT 10 mM, 250 µg/ml de BSA, glicerol al 2,5 %, ADN de cebador-molde marcado en 5' con [³²P] 10 nM y 0,1 unidades de polimerasa. Tras la incubación a 60 °C durante varios periodos de tiempo, se terminaron las reacciones mediante la adición de 10 µl de formamida al 95 %/EDTA 10 mM, y se calentaron las muestras a 100 °C durante 5 min. Se sometieron las mezclas de reacción (5 µl) a electroforesis en gel de poliacrilamida al 20 %/urea 7 M, y los productos de la replicación se visualizaron mediante análisis de PhosphorImager.

40 La polimerasa A10 fue la más activa, y se seleccionó para su posterior análisis (nomenclatura 26JRF en la figura) en sitios abásicos y dímeros de ciclobutano timina-timina (CPD). A10 fue claramente mejor, tanto en la evitación del sitio abásico como en la extensión de CPD que tanto el tipo silvestre como M1.

45

Ejemplo 14: Examen de la tasa de error de los clones de extensión de desapareamientos determinados por ELISA de MutS (solo como referencia)

5 Cabría esperar que se alcanzara una especificidad relajada a costa de una menor fidelidad. Se usó un ELISA de MutS para investigar esta posibilidad.

10 MutS es una proteína de unión a desapareamientos derivada de *E. coli* que se une a desapareamientos de un solo par de bases, o a adiciones o supresiones pequeñas (1-4 bases). Se puede usar para monitorizar la fidelidad de la PCR en un ensayo basado en ELISA (Debbie *et al.*, 1997).

15 Se usaron placas de proteínas de unión a desapareamientos inmovilizadas (Genecheck, Fort Collins, EE.UU.) para las mediciones de la fidelidad según las instrucciones del fabricante, esencialmente como se describe en (Debbie *et al.*, 1997).

20 Se comparó la tasa de mutación de D1 con la de *Taq* de tipo silvestre, y ya se sabía que M1 tuvo un aumento modesto de la tasa de mutación (de aproximadamente el doble) (Ghadessy *et al.*, 2004). Los datos aquí presentados sugieren que D1 tiene un aumento de la tasa de error del doble en comparación con M1, y un aumento de la tasa de error de cuatro veces en comparación con la *Taq* de tipo silvestre. Esto corresponde aproximadamente a una tasa de error de 1 a 2.500, y es suficientemente baja como para no dar problemas para muchas aplicaciones.

Ejemplo 15: Examen de los clones de extensión de desapareamientos para la amplificación del ADN dañado tal como se encuentra en muestras antiguas

25 El ADN recuperado de muestras antiguas está invariablemente dañado, lo que limita la información que puede proporcionar. Por lo tanto, las polimerasas que pueden evitar los daños (tales como el sitio abásico o las hidantoínas) pueden ser útiles para aumentar la información que se puede obtener de muestras antiguas de ADN.

30 Experimento 1: Una polimerasa que extiende desapareamientos puede amplificar ADN de hiena cavernaria que antes no se podía amplificar

35 Se extrajeron varias muestras de hiena cavernaria (*Crocota spelaea*) y se analizaron. Entre ellas, siete muestras (véase la Figura 12 para la lista) no produjeron ninguna vez un producto de amplificación.

Estas muestras se seleccionaron para ensayar la eficacia de las polimerasas de espectro ampliado de sustratos.

40 M1 tiene una k_{cat}/K_m ligeramente reducida, el 14 % de *Taq* de tipo silvestre, y, por lo tanto, es un poco menos eficaz en la PCR. Por lo tanto, se combinó M1 con una preparación comercial de *Taq* (SuperTaq (HT Biotechnology Ltd)) en una proporción de 1 unidad a 10, y se comparó con *Taq* en ausencia de M1. Se esperaba que si M1 podría evitar las lesiones de bloqueo, entonces la *Taq* de tipo silvestre amplificaría el producto de la síntesis translesión resultante. En dos ocasiones separadas, la mezcla de M1/SuperTaq fue capaz de producir un producto de amplificación mientras que SuperTaq solo no pudo (véase la Figura 12 para un ejemplo)

45 Se clonó y se secuenció el ADN, y se encontró que difería en dos posiciones (A71 \rightarrow G, 77A \rightarrow G) de la secuencia esperada. Esto podría ser bien una lesión de codificación errónea procedente de una desaminación de C o una variante de secuencia de la población no vista previamente en aADN. De hecho, ambas mutaciones existen en la hiena manchada moderna (*Crocota crocuta*), lo que argumenta a favor de la segunda interpretación. De las 10 secuencias obtenidas a partir de la misma PCR exitosa, dos de cada tuvo una sola mutación única adicional, una de A a G en diferentes lugares. Estos son los errores más probables incurridos durante la amplificación. Dichos errores se ven con frecuencia en la PCR de aADN, y explican por qué es necesario obtener múltiples secuencias del mismo producto de PCR.

50 Los problemas de contaminación impidieron un análisis exhaustivo de los beneficios de la polimerasa M1. Sin embargo, este resultado sugirió con fuerza que se podría aplicar una polimerasa modificada adecuada de manera útil a aADN.

55 Experimento 2: Una mezcla de falta de coincidencia de la polimerasa extiende necesita menos ADN antiguo para una PCR éxito

60 Se purificaron las polimerasas que mostraron propiedades interesantes: B5, B8, C12 y D1, que pueden extender desapareamientos, así como A10, B6 y B10, que son competentes en la evitación del sitio abásico. Para mantener un número de experimentos práctico, se combinaron en volúmenes iguales con M1, SuperTaq y *Taq* de tipo silvestre purificada con heparina. Esta mezcla de polimerasas se usó en casi todos los experimentos posteriores y se conoce como la combinación.

65 Para asegurarse de que ninguna polimerasa afectara negativamente a la PCR a través de su actividad mutante, se combinó cada una individualmente con SuperTaq, y se usó para realizar una PCR de aADN con una muestra

antigua conocida que contenía ADN amplificable. Todas las PCR dieron resultados (datos no presentados), lo que indica que era poco probable que alguna de las enzimas mutantes fuera un pasivo en la combinación.

5 Se verificó la actividad de la combinación frente a la actividad de SuperTaq mediante una serie de dilución de la actividad PCR. Mediante esta medida, la combinación fue menos activa que SuperTaq, en un factor de dos.

10 Las condiciones que se usan normalmente en PCR de aADN no se transfirieron fácilmente a la combinación o a SuperTaq, pues se habían optimizado para AmpliTaqGold (Applied Biosystems), una versión modificada químicamente de Taq que permite un arranque en caliente y la liberación lenta de enzimas a través de la activación por calor. Los arranques en caliente manuales no son aconsejables en el análisis del aADN, porque la apertura del tubo de PCR fuera de la sala limpia antes del termociclado conlleva un alto riesgo de contaminación. Además, tampoco se pudieron usar técnicas de arranque en caliente alternativas: los anticuerpos usados para inactivar la Taq de tipo silvestre a bajas temperaturas no se pudieron unir a las proteínas quiméricas seleccionadas de la genoteca Molecular Breeding y los tampones de arranque en caliente demostraron ser ineficaces (datos no mostrados). Se usó una nueva estrategia de PCR anidada de dos etapas. En la primera etapa, el aADN se amplifica durante más de 15 28 ciclos, ya sea con SuperTaq o con la combinación. En la segunda etapa, se diluye la primera PCR 20 veces en una sala limpia secundaria y se amplifica con SuperTaq usando cebadores anidados. Esta es la metodología usada posteriormente para comparar SuperTaq y la combinación

20 En resumen, se añadieron 2 μ l de muestra antigua a una PCR de 20 μ l en tampón SuperTaq (HT Biotech) con 1 μ M de los cebadores apropiados (véase la Figura 13), 2 μ M de cada desoxirribonucleósido trifosfato (dNTP), así como 0,1 μ l de SuperTaq o un volumen igual de polimerasas mutantes, y se amplificó durante 28 ciclos. Se estableció esta PCR en una sala limpia siguiendo las precauciones adecuadas para el aADN. A continuación, se diluyó la PCR de la primera etapa 1 a 20 en una sala limpia secundaria y se termocicló durante otros 32 ciclos con las mismas 25 condiciones de tampón y dNTP, usando cebadores anidados y SuperTaq. No se usaron controles de molde para analizar la contaminación.

30 Se realizó una serie de dilución del doble de aADN con volúmenes iguales de SuperTaq y la combinación (y, por lo tanto, actividades aproximadamente iguales, con la combinación ligeramente menos activa) y se repitió cuatro veces

Este experimento demostró que la combinación era más propensa a producir una banda a una menor concentración de aADN que SuperTaq. Por lo tanto, esto representaba el segundo experimento, que indicaba que las polimerasas de extensión de desapareamientos eran más eficaces en amplificar aADN que la Taq de tipo silvestre.

35 Experimento 3: Las polimerasas de extensión de desapareamientos funcionan de una manera sistemáticamente mejor en la PCR de ADN antiguo

40 La heterogeneidad de las muestras y la estocasticidad inherente del análisis de aADN hacen problemática la interpretación de una sola PCR positiva o negativa. Para abordar esto, se realizaron múltiples PCR de una misma muestra y se contó el número de amplificaciones de PCR con éxito a una dilución limitante de la muestra. La comparación de SuperTaq con la combinación permitiría un análisis estadístico. Como la cantidad de aADN necesaria para este tipo de metodología es elevada, se seleccionaron muestras que previamente habían demostrado ser de alta calidad, y se ensayaron en diluciones limitantes para aumentar la cantidad de material disponible para el análisis. Se seleccionó una secuencia diana corta para permitir las diluciones máximas. 45

Esto tiene la ventaja adicional de que, a una dilución suficientemente alta, se habrá diluido el ADN intacto, dejando solo molde dañado. En dichas condiciones, la diferencia entre una polimerasa que puede evitar las lesiones de bloqueo y una que no puede se debe hacer claramente evidente.

50 Se realizó un total de nueve experimentos en cantidades limitantes de aADN, donde el PCR solo sería estocásticamente exitosa (Figuras 14 y 15). En ocho de los nueve experimentos, la combinación dio lugar a PCR mejores que SuperTaq. La probabilidad de que esto ocurra por casualidad es del 1,76 %, determinada mediante el análisis de la distribución binomial. Comúnmente, se acepta que se puede descartar el azar como explicación cuando se espera que un acontecimiento se produzca a una probabilidad del 5 % inferior. 55

Por lo tanto, se puede afirmar que este efecto no se debe al azar, y que la combinación funciona repetidamente mejor que SuperTaq en las condiciones del experimento. Esto demuestra más allá de toda duda razonable que las polimerasas de extensión de desapareamientos son una herramienta más sensible para la obtención de secuencias de ADN antiguo. 60

Ejemplo 16: Selección de polimerasas capaces de replicar el análogo de base artificial 5-nitroindol (5NI) (solo como referencia)

65 Se seleccionaron para la extensión y la evitación de 5NI directamente de la genoteca de quimeras de polimerasa descrita en el Ejemplo 8 usando una estrategia análoga a la selección de desapareamientos usando cebadores flanqueantes (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACA AAA ATC TAG ATA ACG AGG GCA 5N-3', 5'-GTA AAA CGA CGG

CCA GTA CCA CCG AAC TGC GGG TGA CGC CAA GC5NI-3') que comprendían 5NI (o un derivado) en sus extremos 3'. Tras la serie 3, se usaron cebadores flanqueantes (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACA AAA ATC TAG ATA 5NICG AGG GCA 5NI-3', 5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTA CCA C5NIG AAC TGC GGG TGA CGC CAA GC5NI-3') que comprendían 5NI interno (o un derivado), así como 5NI en el extremo 3' (o un derivado) para aumentar la presión de selección para la replicación de 5NI.

5

Cinco series de selección produjeron una serie de clones con una capacidad mucho mayor para replicar 5NI. Entre los mejores clones estaban el clon de la serie 4 4D11 y el clon de la serie 5 5D4:

4D11: 5' -

ATGGCGATGCTTCCCCCTCTTTGAGCCCAAAGGCCGGGTCTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTAC
 CGCACCTTCTTCGCCCTGAAGGGCCTCACCACGAGCCGGGGCGAACCGGTGCAGGCGGTTTACGGCTTC
 GCCAAGAGCCTCCTCAAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCGTCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAG
 GCCCCCTCCTTCCGCCACGAGGCCTACGAGGCCTACAAGGCCGGGGAGGGCCCCGACCCCCGAGGACTTC
 CCCCAGGAGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGACCTCCTGGGGTTTACCCGCCTCGAGGTCCAAGGC
 TACGAGGCGGACGACCTCCTCGCCACCTTGGCCAAGAAGGCCGAAAGAAGGGTACGAGGTGCGCATC
 CTCACCGCCGACCGGGACCTCTACCAGCTCGTCTCCGACCGCGTCGCCGTCTCCAACCCGAGGGCCAC
 CTCATCACCCCGGAGTGGCTTTGGGAGAAGTACGGCCTCAGGCCGAGCAGTGGGTGGACTTCCGCGCC
 CTCGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGATCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCCCTCAAGCTC
 CTCGAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGGTAAAGCCAGAAAATGTCCGG
 GAGAAGATCAAGGCCACCTGGAAGACCTCAGGCTCTCCTTGGAGCTCTCCCGGGTCCGACCCGACCTC
 CCCCTGGAGGTGGACTTCGCCAAAAGGCCGGGAGCCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCCTTCTTGAGAGG
 CTTGAGTTTGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAAGCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCC
 TGCCCCCGCCGGAAGGGGCCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTT
 CTGGCCCTGGCCCGCCCAAGGGTGGCCGGTCCACCGGGCCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGGGAC
 TTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCCAAAGACCTGAGCGTCTTGGCCCTAAGGGAAGGCCTTGGCCTC
 CCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGGGGTG

10

GCCCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGGGGGAGCGGGCCGCCCTTTCCGAGAGGCTCTTC
 GCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGAGAGGCTCCTTTGGCTTTACCGGGAGGTGGAGAGGCC
 CTTTCCGCTGTCTTGGCCACATGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATCTCAGGGCCTTG
 TCCCTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCGCCCTGGCCGGCCACCCCTTC
 AACCTCAACTCCCGAGACCAGCTGGAAAAGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAG
 ACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCCGCTCCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATC
 GTGGAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACCTACATTGACCCCTTGCCGGAC
 CTCATCCACCCAGGACGGGCCCGCTCCAACCCGCTTCAACCAGACGGCCAAGGCCACGGGCAGGCTA
 AGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACATCCCGTCCGCACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCCGGGCC
 TTCATCGCCGAGGGGGGGTGGCTATTTGGTGGTCTTGGACTATAGCCAGATGGAGCTCAGGGTGGTGGCC
 CACTCTCCGGCGACGAGAACCTGATCCGGGTCTTCCAGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCC
 AGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGGCGGCCAAGACCATCAAC
 TTCGGGGTTCTCTACGGCATGTCCGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCC
 CAGGCCTTCATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGATTGAGAAGACCCTGGAG
 GAGGGCAGGAGGCGGGGGTACGTGGAGACCCTCTTCGGCCGCGCCGCTACGTGCCAGACCTAGAGGCC
 CGGGTGAAGAGCGTGGGGAGGCGGCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCGCC
 GACCTCATGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTCTTCCCGAGGCTGGAGGAAAACGGGGGCCAGGATGCTCCTT
 CAGGTCCACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTTGGCCCGGCTGGCCAAG
 GAGGTTCATGGAGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGG
 CTCTCCGCCAAGGAGTGA-3'

Secuencia de aminoácidos de 4D11:

MAMLPFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFFALKGLTTSRGEVQAVYGFAKSLLKALKEDGYKAVFVVFDAK
 APSFRHEAYEAYKAGRPTPEDFPRQLALIKELVDLLGFTRLEVQGYEADDVLATLAKKAEKEGYEVRI
 LTADRDLYQLVSDRVAVLHPEGLITPEWLWEKYGLRPEQWVDFRALVGDPSDNLPGIKGIGKLTALKL
 LKEWGSLENLLKNLDRVKPENVRKIKAHLEDLRLSLELSRVRTDLPLEVDFAKRREPDRERLRAFLEK
 LEFGSLHHEFGLLES PKALEEAPWPPPEGA FVGFVLSRKEPMWADLLALAAAKGGRVHRAPEPYKALRD
 LKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPGDDPMLLAYLLDPSNTTPEGVARRYGGEWTEEAGERAAALSERLF
 ANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVRLDVAYLRLALSLEVAEEIARLEAEVFRLAGHPF
 NLNSRDQLERVLFDLGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLEALREAHPIVEKILQYRELTKLKSTYIDPLPD
 LIHPRTRGLHTRFNQTATATGRLLSSDPNLQNI PVRTPLGQIRRAFIAEGGWLLVVDYSQMELRVLA
 HLSGDENLIRVFQEGRD IHTETASWMMFGVPREAVDPLMRRRAKTINFGVLYGMSAHRLSQELAIPEEA
 QAFIERYFQSF PKVRAWIEKTL EEGRRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKS VREAAERMAFNMPVQGTAA
 DLMKIAMVKLFRLEETGARMLLQVHDELVLEAPKERABAVARLAKEVMEGVYPLAVPLEVEVGI GEDW
 LSAKE*

5D4 :

5' -

ATGGCGATGCTTCCCTCTTTGAGCCCAAAGGCCGGGTCTCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCTAC
 CGCACCTTCTTCGCCCTGAAGGCCCTCACCACGAGTCGGGGCGAACCGGTGCAGGCGGTCTACGGCTTC
 GCCAAGAGCCTCCTCAAGGCCCTGAAGGAGGACGGGTACAAGGCCATCTTCGTGGTCTTTGACGCCAAG
 GCCCCTCCTTCGCCACGAGGCCACGAGGCCACAAGGCCGGGAGGGCCCCGAGCCCCGAGGACTTC
 CCCCAGGCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGGACCTCTGGGGTTTACCCGCTCGAGGTCCAAGGC
 TACGAGGCGGACGACGTCCTCGCCACCTGGCCAAGAAGGCCGAAAAGAAGGGTACGAGGTGCGCATC
 CTCACCGCCGACCGGGACCTCTACCAGCTCGTCTCGACCGCTCGCCGTCTCACCCGAGGGCCAC
 CTCATCACCCCGAGTGGCTTFFGGGAGAAGTACGGCCCTCAGGCCGAGCAGTGGGTGGACTTCCGCGCC
 CTGGTGGGGGACCCCTCCGACAACCTCCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACCCCTCAAGCTC
 CTCAAGGAGTGGGGAAGCCTGGAAAACCTCCTCAAGAACCTGGACCGGTGAAGCCCGCCATCCGGGAG
 AAGATCCTGGCCACATGGACGATCTGAAGCTCTCCTGGGACCTGGCCAAGGTGCGCACCGACCTGCCC
 CTGGAGGTGGACTTCGCCAAAAGGCCGGGAGTCCGATCGGGAGAGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGCTT
 GAGTTTGGCAGCCTCCTCCACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTGG
 CCCC CGCCGTTAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTG
 GCCCTGGCCGCGCCAGGGGTGGTCCGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGAGACCTG
 AAGGAGGCGCGGGGCTTCTCGCCAAAGACCTGAGCGTCTTGGCCCTGAGGGAAGGCCCTGGCCTCCCG
 CCCGGCGACGACCCCATGCTCTCGCCTACCTCCTGGACCTTCCAACACCACCCCGAGGTGGTGGCC

5

CGCGCCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGCGGGGGAGCGGGCCGCTTTCCGAGAGGCTCTTCGCC
 AACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAGGGGAGGCTCCTTTGGCTTTACCGGGGGTGGAGAGGCCCTT
 TCCGCTGTCTGGCCACATGGAGGCCACAGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATCTCAGGGCCTTGTCC
 CTGGAGGTGGCCGAGGAGATCGCCCGCTCGAGGCCGAGGTCTTCGCTGGCCGGCCACCCCTTCAAC
 CTCAACTCCCGGACGAGCTGGAAAGGCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATCGGCAAGACG
 GAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCCGCTCCTGGAGGCCCTCCGCGAGGCCACCCCATCGTG
 GAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAGCACTTACATTGACCCCTTGCCTGGACCTC
 ATCCACCCAGGACGGGCCCGCTCCACACCCGCTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGT
 AGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACATCCCCGTCCGCACCCCGCTCGGGCAGAGGATCCGCCGGGCTTC
 ATCGCCGAGGGGGGTGGCTATTGGTGGTCTTGGACTATAGCCAGATGGAGCTCAGGGTGTGGCCAC
 CTCTCCGGGACGAGAACC TGATCCGGGTCTTCCAGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAAACCGCCAGC
 TGGATGTTCCGGCTCCCCGGGAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGGCGGCCAAGACCATCAACTTC
 GGGGTTCTTACGGCATGTCCGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTAGCCATCCCTTACGAGGAGGCCAG
 GCCTTCATTGAGCGCTACTTCCAAAGCTTCCCAAGGTGCGGGCCTGGATAGAAAAGACCCCTGGAGGAG
 GGGAGGAAGCGGGCTACGTGGAACCTCTTCGGAAGAAGGCGCTACGTGCCCGACCTCAACGCCCGG
 GTGAAGAGCGTCAGGGAGGCCGCGGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCGCGGAC
 CTCACGAAGCTGGCTATGGTGAAGCTCTTCCCAGGCTGGAGGAAACGGGGGCCAGGATGCTCCTTCAG
 GTCCACGACGAGCTGGTCTTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGCCAAGGAG
 GTCATGGAGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGATAGGGGAGGACTGGCTT
 TCCGCCAAGGGTTAG - 3'

Secuencia de aminoácidos de 5D4:

MAMLP L F E P K G R V L L V D G H H L A Y R T F F A L K G L T T S R G E P V Q A V Y G F A K S L L K A L K E D G
 Y K A I F V V F D A K A P S F R H E A H E A Y K A G R A P S P E D F P R Q L A L I K E L V D L L G F T R L E V Q G Y
 E A D D V L A T L A K K A E K E G Y E V R I L T A D R D L Y Q L V S D R V A V L H P E G H L I T P E W L W E K Y G L
 R P E Q W V D F R A L V G D P S D N L P G V K G I G E K T A L K L L K E W G S L E N L L K N L D R L K P A I R E K I
 L A H M D D L K L S W D L A K V R T D L P L E V D F A K R R E S D R E R L R A F L E R L E F G S L L H E F G L L E S
 P K A L E E A P W P P P V G A F V G F V L S R K E P M W A D L L A L A A A R G G R V H R A P E P Y K A L R D L K E A
 R G L L A K D L S V L A L R E G L G L P P G D D P M L L A Y L L D P S N T T P E V V A R R Y G G E W T E E A G E R A
 A L S E R L F A N L W G R L E G E G R L L W L Y R G V E R P L S A V L A H M E A T G V R L D V A Y L R A L S L E V A
 E E I A R L E A E V F R L A G H P F N L N S R D Q L E R V L F D E L G L P A I G K T E K T G K R S T S A A V L E A L
 R E A H P I V E K I L Q Y R E L T K L K S T Y I D P L P D L I H P R T G R L H T R F N Q T A T A T G R L S S S D P N
 L Q N I P V R T P L G Q R I R R A F I A E G G W L L V V L D Y S O M E L R V L A H L S G D E N L I R V F Q E G R D I
 H T E T A S W M F G V P R E A V D P L M R R A A K T I N F G V L Y G M S A H R L S Q E L A I P Y E E A Q A F I E R Y
 F Q S F P K V R A W I E K T L E E G R K R G Y V E T L F G R R R Y V P D L N A R V K S V R E A A E R M A F N M P V Q
 G T A A D L T K L A M V K L F P R L E E T G A R M L L Q V H D E L V L E A P K E R A E A V A R L A K E V M E G V Y P
 L A V P L E V E V G I G E D W L S A K G *

5 Ejemplo 17: Espectro más amplio de polimerasas seleccionadas para la replicación de 5NI (solo como referencia)

Se ensayó la actividad de las polimerasas de la serie 5 seleccionadas por la replicación de 5NI con una selección de sustratos usando el ensayo ELISA de tipo horquilla descrito en el Ejemplo 8. tUTP y ceATP fueron amablemente obsequiados por el laboratorio de P. Herdewijn, Rega Institute, Katholieke Universiteit Leuven, Bélgica. Los resultados se muestran en la Figura 14

1. ELISA con tUTP:

Se ensayó la capacidad de los clones de la serie 5 seleccionados por la extensión de replicación de 5NI para incorporar secuencialmente 2 o 3 del derivado de UTP TNA (3', 2')-β-L-treoniil-UTP usando los cebadores de horquilla (ELISA2p: 5'-TAG CTC GGT AA CGC CGG CTT CCG TCG CGA CCA CGT TX TTC GTG GTC GCG ACG GAA GCC G-3', ELISA3p: 5'-TAG CTC GGT AAA CGC CGG CTT CCG TCG CGA CCA CGT TX TTC GTG GTC GCG ACG GAA GCC G-3' (X = dU-biotina (Glen Research))). Los lisados usados se concentraron 4 veces. El protocolo de ELISA fue como el descrito, a excepción de que el dUTP marcado con DIG en la reacción de extensión fue reemplazado por fluoresceína 12-dATP (Perkin-Elmer) (al 3 % de dATP) y la incorporación de fluoresceína 12-dATP se detectó mediante fragmentos Fab de POD anti-fluoresceína (Roche).

2. ELISA con ceATP:

Se ensayó la capacidad de los clones de la serie 5 seleccionados por la extensión de replicación de 5NI para incorporar secuencialmente el derivado de ciclohexenil-ATP ceATP usando los cebadores de horquilla (ELISA2p: 5'-TAG CTC GGA TTTT CGC CGG CTT CCG TCG CGA CCA CGT TX TTC GTG GTC GCG ACG GAA GCC G-3', (X = dU-biotina (Glen research))). Los lisados usados se concentraron 4 veces.

3. ELISA con CyDye 5-dCTP y CyDye 3-dCTP:

Se ensayó la capacidad de los clones de la serie 5 seleccionados por la extensión de replicación de 5NI para incorporar secuencialmente los nucleótidos marcados con colorante fluorescente Cy5-dCTP y Cy3-dCTP (Amersham Biosciences) usando los cebadores de horquilla (ELISA2p: 5'-TAG CTA CCA GGG CTC CGG CTT CCG TCG CGA CCA CGT TXT TCG TGG TCG CGA CGG AAG CCG -3', (X = dU-biotina (Glen research))). Los lisados usados se concentraron 4 veces.

4. ELISA de evitación de sitios abásicos

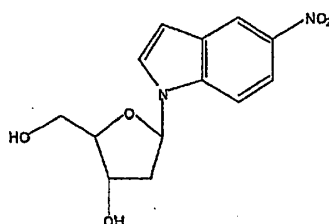
Se ensayó la capacidad de los clones de la serie 5 seleccionados por la extensión de replicación de 5NI para evitar un sitio abásico usando el cebador de horquilla (PScreen1abas: 5'-AGG TAC CAT GCC TGC ACG CAG YCG GCA TCC GTC GCG ACC ACG TTX TTC GTG GTC GCG ACG GAT GCC G -3', (X = dU-biotina, Y = sitio abásico (Glen research))). Los lisados usados se concentraron 4 veces.

Ejemplo 18: Reacción de extensión de cebadores con polimerasas 4D11 y 5D4 (solo como referencia)

1: Extensión del 5-nitroindol opuesto

5 Cebador 5'-TAATACGACTCACTATAGGGAGA
 Molde 3'-ATTATGCTGAGTGATATCCCTCT5ATCGAT

5 = 5-Nitroindol



10

Las reacciones de extensión de cebadores se llevaron a cabo de la siguiente manera:

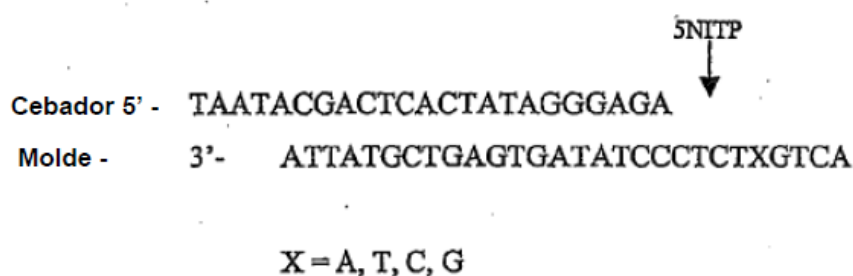
15

Se hibridaron 50 pmol de cebador marcado con ³²P y 100 pmol de molde en un volumen de 44 μl en 1 x tampón de Taq. Se añadió polimerasa 4D11 o 5D4 en forma de lisado celular (6 μl), y se incubaron las reacciones a 50 °C durante 15 minutos, seguido de la adición de un dNTP (1 μl en el volumen total de 50 μl, concentración final de dNTP de 40 μM). Se extrajeron muestras de 8 μl en varios puntos temporales y se añadieron a 8 μl de solución de detención (urea 7 M, EDTA 100 mM que contenía xileno cianol F). Al final del curso temporal, se añadieron los 3 dNTP restantes (concentración final de cada dNTP de 40 μM) y se incubaron las reacciones a 50 °C durante otros 30 minutos. Se separaron las muestras de reacción por electroforesis usando geles de poliacrilamida al 20 % a 25 W durante 4 horas. Se secaron los geles resultantes y se escanearon usando un PhosphorImager (Molecular Dynamics). Los datos se procesaron mediante el programa ImageQuant (Molecular Dynamics). Los resultados se muestran en las Figuras 35, 36: Las reacciones similares usando polimerasas de tipo silvestre Taq, Tth y Tfl en condiciones idénticas conducen a reacciones de extensión casi indetectables (datos no mostrados).

20

25

2. Incorporación y extensión de 5-nitroindol-5'-trifosfato (5NITP).



30

Las reacciones de extensión de cebadores se llevaron a cabo de la siguiente manera:

35

Se hibridaron 50 pmol de cebador marcado con ³²P y 100 pmol de molde en un volumen de 44 μl en 1 x tampón de Taq. Se añadió polimerasa 4D11 o 5D4 en forma de lisado celular (6 μl), y se incubaron las reacciones a 50 °C durante 15 minutos, seguido de la adición de d5NITP (1 μl en el volumen total de 50 μl, concentración final de dNTP de 40 μM). Se extrajeron muestras de 8 μl en varios puntos temporales y se añadieron a 8 μl de solución de detención (urea 7 M, EDTA 100 mM que contenía xileno cianol F). Al final del curso temporal, se añadieron los 4 dNTP nativos (concentración final de cada dNTP de 40 μM) y se incubaron las reacciones a 50 °C durante otros 30 minutos. Se separaron las muestras de reacción por electroforesis usando geles de poliacrilamida al 20 % a 25 W durante 4 horas. Se secaron los geles resultantes y se escanearon usando un PhosphorImager (Molecular Dynamics). Los datos se procesaron mediante el programa ImageQuant (Molecular Dynamics). Los resultados se muestran en las Figuras 17, 18:

40

45

El auto-par NI-NI también se forma excepcionalmente bien, aunque la extensión adicional se reduce (datos no mostrados). Las reacciones similares usando polimerasas de tipo silvestre Taq, Tth y Tfl en condiciones idénticas conducen a reacciones de extensión casi indetectables (datos no mostrados).

Ejemplo 19: Fabricación e hibridación de matrices usando M1 (solo como referencia)

Se prepararon dianas mediante amplificación por PCR del gen *Taq* de 2,5 kb usando los cebadores 29, 28 o de 2 kb del gen *pol* del VIH usando los cebadores 30, 31. Se preparó ADN de esperma de salmón (Invitrogen) a 100 ng/ul en DMSO al 50 %. Se prepararon sondas de FITC y Cy5 mediante amplificación por PCR de un fragmento de 0,4 kb de *Taq* usando los cebadores 8, 28, ya sea con 100 % (FITC100_{M1}) o 10 % de dATP (FITC100_{M1}, FITC10_{Taq}) reemplazado por FITC-12-dATP o 10 % de dCTP reemplazado por Cy5-dCTP (Cy5_{Taq}). Se usaron 20-meros aleatorios de Cy5 y Cy3 (MWG) a 250 nM. Se purificaron las dianas usando el kit de purificación de PCR (Qiagen) y se prepararon en DMSO al 50 % y se salpicaron en portaobjetos de vidrio recubiertos con GAPSII aminosilano (Corning) usando un MicroGrid (BioRobotics). Las hibridaciones de la matriz se realizaron de acuerdo con protocolos convencionales:

Se cocieron portaobjetos impresos durante 2 horas a 80 °C, se incubaron con agitación durante 30 minutos a 42 °C en 5 x SSC/Fracción V de BSA al 0,1 % (Roche)/SDS al 0,1 %, se hirvieron durante 2 minutos en agua ultrapura, se lavaron 20 veces en agua ultrapura a temperatura ambiente (TA), se enjuagaron en propan-2-ol y se secaron en una corriente de aire limpio. Se prepararon 50 ng de sondas marcadas con FITC y Cy5 en 20 µl de tampón de hibridación (Tris-HCl 1 mM, pH 7,4, pirofosfato tetrasódico 50 mM, 1 x solución de Denhardt, formamida desionizada al 40 %, SDS al 0,1 %, 100 µg/ml de ADN de esperma de salmón cortado). Se calentó cada muestra a 95 °C durante 5 min, se centrifugó durante 2 minutos, se aplicó a la superficie de una matriz y se cubrió con un 22 x 22 mm de HybriSlip (Sigma). Las hibridaciones se realizaron a 48 °C durante 16 horas en una cámara de hibridación (Corning). Las matrices se lavaron una vez con 2 x SSC/SDS al 0,1 % a 65 °C durante 5 min, una vez con 0,2 x SSC a TA durante 5 minutos y dos veces con 0,05 x SSC a TA durante 5 min. Se secaron los portaobjetos en una corriente de aire limpio, se escanearon con un cargador automático ArrayWoRx (Applied Precision Instruments) y se analizaron las imágenes de la matriz usando el rastreador SoftWoRx (Molecularware).

La sustitución completa de los nucleótidos naturales con sus homólogos artificiales modifica las propiedades de los productos de amplificación resultantes. Por ejemplo, el ADN sustituido completamente por α S fue totalmente resistente a la digestión con nucleasa (no mostrado).

El fragmento de 0,4 kb, en el que todas las adeninas (dA) de ambas cadenas se habían reemplazado por FITC-12-dAMP (FITC100_{M1}), muestra una fluorescencia extremadamente brillante. La frecuencia de incorporación de fluoróforo por cada 1.000 nucleótidos (FOI) se usa comúnmente para especificar la intensidad de fluorescencia de una sonda. Las FOI de las sondas de micromatrices comúnmente varían de 10 a 50, mientras que FITC100_{M1} tiene una FOI de 295. Para investigar si dicho alto nivel de sustitución con fluoróforo afectaría a las características de hibridación, se realizó una serie de experimentos de micromatrices. Se comparó la señal fluorescente generada por FITC100_{M1} con sondas equivalentes generadas usando bien *Taq* de tipo silvestre o *M1* y la sustitución de solo un 10 % de dAMP con FITC-12-dAMP (FITC10_{Taq}, FITC10_{M1} (FOI = 30)). En cohibridación competitiva con una sonda marcada con Cy5 convencional (Cy5_{Taq}), FITC100_{M1} solo se hibridó específicamente con su secuencia diana de polimerasa *Taq* afin, y no con ningún ADN de control no afin. La hibridación de FITC100_{M1} generó una señal específica hasta 20 veces superior que las cantidades equimolares de las sondas FITC10 (Fig. 20) sin mostrar el aumento de la unión de fondo (Fig. 19, 21).

Ejemplo 20: Tasas de mutación y espectros de polimerasas M1 y M4 seleccionadas (solo como referencia)

Las tasas de mutación se determinaron usando el ensayo de ELISA de mutS²⁶ (Genecheck, Ft. Colfins, CO) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Como alternativa, se clonaron los productos de amplificación derivados de 2 x 50 ciclos de PCR de 2 dianas con diferente contenido de GC (*pol* del VIH (38 % de GC), *Taq* (68 % de GC)), se secuenciaron 40 clones (800 pb cada uno) y se analizaron las mutaciones (*Taq* de tipo silvestre (51), *M1* (75)).

Cabría esperar que se produjera la extensión promiscua de los desapareamientos a costa de una reducción de la fidelidad, pues la incorporación errónea ya no conduce a la terminación. Sin embargo, la medición de la tasa global de mutación, usando tanto el ensayo de MutS (Fig 22A) como la secuenciación directa de los productos de amplificación, indicó solo un aumento modesto (1,6 veces) de la tasa de mutación en *M1* (o *M4*). No obstante, *M1* muestra un espectro de mutaciones modificado de manera significativa en comparación con *Taq* de tipo silvestre, con una tendencia claramente superior a las transversiones, en particular, a las transversiones G/C→C/G (Fig 22B).

Ejemplo 21: capacidad de procesamiento (solo como referencia)

En su mayoría, las polimerasas translesión naturales tienen una mala capacidad de procesamiento. Por ello, los presentes inventores investigaron si la capacidad de procesamiento de *M1* y *M4* sería igualmente reducida, pero encontraron que, incluso a las concentraciones más bajas de enzimas, las probabilidades de extensión y terminación de cebadores por parte de *M1* y *M4* coincidieron estrechamente con las de *Taq* de tipo silvestre (Fig. 23), lo que indica que tanto *M1* como *M4* presentan una capacidad de procesamiento igual (o superior) a la de *Taq* de tipo silvestre. Esto también se refleja en la sorprendente competencia de *M1* en la PCR de largo alcance (véase el Ejemplo 6).

Se midió la capacidad de procesamiento usando un ensayo de extensión de cebadores en presencia y en ausencia de ADN trampa. Las probabilidades de terminación se calcularon de acuerdo con el método de Kokoska *et al.*

Se marcó el cebador oligonucleotídico 32 (5'-GCG GTG TAG AGA CGA GTG CGG AG-3') con ^{32}P y se hibridó al molde 33 (5'-GTC TCA CAA GCA GCC AGG CAA GCT CCG CAC TCG TCT CTA CAC CGC TCC GC-3') (en una proporción molar de cebador/molde de 1/1,5). Se incubaron previamente *Taq* de tipo silvestre (0,0025 nM; 0,025 nM; 0,25 nM), *M1* (0,05 nM; 0,5 nM; 5 nM) y *M4* (0,05 nM; 0,5 nM; 5 nM) con los sustratos de ADN de cebador-molde (10 nM) en Tris-HCl 10 mM a pH 9,0, MgCl_2 5 mM, KCl 50 mM, Triton X 100 al 0,1 % a 25 °C durante 15 min. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de dNTP 100 μM con o sin ADN de trampa (un exceso de 1.000 veces de cebador-molde no marcados). Las reacciones se realizaron a 60 °C durante 2 min. La preincubación de las polimerasas con el sustrato de ADN trampa y cebador-molde marcado antes de la adición de dNTP inhibió completamente la extensión de los cebadores (no mostrado), lo que demuestra la eficacia de la trampa. Así pues, en presencia de ADN trampa, toda la síntesis de ADN se produjo a partir de una sola unión de ADN. Las intensidades de las bandas del gel se calcularon usando un Phosphoimager y el programa ImageQuant (ambos de Molecular Dynamics). El porcentaje de moléculas de polimerasa que extendieron cebadores hasta el extremo del molde se calculó usando la fórmula: $\text{In} \times 100 \% / (\text{I}_1 + \text{I}_2 + \dots + \text{I}_n)$, donde In es la intensidad de la banda en la posición 22 o 23; $\text{I}_1, \text{I}_2, \dots$ es la intensidad de la banda en la posición 1, 2... Las probabilidades de terminación (τ) se calcularon de acuerdo con el método de Kokoska *et al.*¹, en el que τ en una determinada posición del molde se calculó como la intensidad de la banda en esa posición dividida entre la suma de la intensidad de esta banda y las intensidades de las bandas de todos los productos más largos.

Referencias

1. Schaaper, R. M. (1993) *J. Biol. Chem.* 268, 23762-23765.
2. Li, Y., Korolev, S. y Waksman, G. (1998) *Embo J.* 17, 7514-7525.
3. Doublíé, S., Tabor, S., Long, A. M., Richardson, C. C. y Ellenberger, T. (1998) *Nature* 391, 251-258.
4. Johnson, S. J., Taylor, J. S. y Beese, L. S. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 100, 38895-38900.
5. Li, Y., Mitaxov, V. y Waksman, G. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 96, 9491-9496.
6. Astatke, M., Ng, K., Grindley, N. D. y Joyce, C. M. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 95, 3402-3407.
7. Patel, P. H. y Loeb, L. A. (2000) *J. Biol. Chem.* 275, 40266-40272.
8. Jestin, J. L., Kristensen, P. y Winter, G. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed.* 38, 1124-1127.
9. Xia, G., Chen, L., Sera, T., Fa, M., Schultz, P. G. y Romesberg, F. E. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 99, 6597-6602.
10. Ghadessy, F. J., Ong, J. L. y Holliger, P. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 98, 4552-4557.
11. Tawfik, D. S. y Griffiths, A. D. (1998) *Nature Biotechnol.* 16, 652-656.
12. Huang, M.-M., Arnheim, N. y Goodman, M. F. (1992) *Nucleic Acids Res.* 20, 4567-4573.
13. Kool, E. T. (2000) *Curr. Op. Chem. Biol.* 4, 602-608.
14. Kwok, S., Kellogg, D. E., McKinney, N., Spasic, D., Goda, L., Levenson, C. y Sninsky, J. J. (1990) *Nucleic Acids Res* 18, 999-1005.
15. Eom, S. H., Wang, J. y Steitz, T. A. (1996) *Nature* 382, 278-281.
16. Creighton, S., Bloom, L. B. y Goodman, M. F. (1995) *Meth. Enzymol.* 262, 232-56.
17. Mendelman, L. V., Petruska, J. y Goodman, M. F. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 2338-2346.
18. Boudsocq, F., Iwai, S., Hanaoka, F. y Woodgate, R. (2001) *Nucleic Acids Res* 29, 4607-4616.
19. Verma, S. y Eckstein, F. (1998) *Annu. Rev. Biochem.* 67, 99-134.
20. Loakes, D. (2001) *Nucleic Acids Res* 29, 2437-2447.
21. Berger, M., Wu, Y., Ogawa, A. K., McMinn, D. L., Schultz, P. G. y Romesberg, F. E. (2000) *Nucleic Acids Res*, 2911-2914.
22. Barnes, W. M. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 91, 2216-2220.
23. Goodman, M. F. (2002) *Annu. Rev. Biochem.* 71, 17-50.
24. Kunkel, T. A. & Bebenek, K. (2000) *Annu. Rev. Biochem.* 69, 497-529.
25. Patel, P. H., Suzuki, M., Adman, E., Shinkai, A. y Loeb, L. A. (2001) *J. Mol. Biol.* 18, 823-837.
26. Lawyer, F. C., Stoffel, S., Saiki, R. K., Chang, S. Y., Landre, P. A., Abramson, R. D. y Gelfand, D. H. (1993) *PCR Meth. Appl.* 2, 275-87.
27. Tada, M., Omata, M., Kawai, S., Saisho, H., Ohto, M., Saiki, R. K. y Sninsky, J. J. (1993) *Cancer Res* 53, 2472-2474.
28. Ling, H., Boudsocq, F., Woodgate, R. y Yang, W. (2001) *Cell* 107, 91-102.
29. Trincao, J., Johnson, R. E., Escalante, C. R., Prakash, S., Prakash, L. y Aggarwal, A. K. (2001) *Mol. Cell* 8, 417-426.
30. Cho, Y. S., Zhu, F. C., Luxon, B. A. y Gorenstein, D. G. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 11, 685-702.
31. Eigen, M. (1971) *Naturwissenschaften* 58, 465-523.
32. Engelke, D. R., Krikos, A., Bruck, M. E. y Ginsburg, D. (1990) *Anal. Biochem.* 191, 396-400.
33. Zhao, H., Giver, L., Shao, Z., Affholter, J. A. y Arnold, F. H. (1998) *Nature Biotechnol.* 16, 258-61.
34. Murata, T., Iwai, S. y Ohtsuka, E. (1990) *Nucleic Acids Res* 18, 7279-7286.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Medical Research council
- 5 <120> Polimerasa
- <130> P017236WO CJS
- 10 <140> PCTGB/2004/004643
- <141> 05-11-2004
- <150> GB0325650.0
- <151> 03-11-2003
- 15 <150> GB0410871.8
- <151> 14-05-2004
- <160> 120
- 20 <170> PatentIn versión 3.0
- <210> 1
- <211> 832
- <212> PRT
- 25 <213> Artificial
- <220>
- <223> ADN polimerasa modificada por ingeniería genética
- 30 <400> 1

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

50					55					60					
Val 65	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala 70	Pro	Ser	Phe	Arg	His 75	Glu	Ala	Tyr	Gly	Gly 80
Tyr	Lys	Ala	Ala	Arg 85	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu 90	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln 95	Leu
Ala	Leu	Ile	Lys 100	Glu	Leu	Val	Asp	Leu 105	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg 110	Leu	Glu
Val	Pro	Gly 115	Tyr	Glu	Ala	Asp	Asp 120	Val	Leu	Ala	Ser	Leu 125	Ala	Lys	Lys
Ala	Glu 130	Lys	Glu	Gly	Tyr	Glu 135	Val	Arg	Ile	Leu	Thr 140	Ala	Asp	Lys	Gly
Leu 145	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser 150	Asp	Arg	Ile	His	Val 155	Leu	His	Pro	Glu	Gly 160
Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro 165	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu 170	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg 175	Pro
Asp	Gln	Trp	Ala 180	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu 185	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser 190	Asp	Asn
Leu	Pro	Gly 195	Val	Lys	Gly	Ile	Gly 200	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg 205	Lys	Leu	Leu
Glu 210	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu 215	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn 220	Leu	Asp	Arg	Leu
Lys 225	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu 230	Lys	Ile	Leu	Ala	His 235	Met	Asp	Asp	Leu	Lys 240
Leu	Ser	Trp	Asp	Leu 245	Ala	Lys	Val	Arg	Thr 250	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu 255	Val
Asp	Phe	Ala	Lys 260	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp 265	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg 270	Ala	Phe
Leu	Glu	Arg 275	Leu	Glu	Phe	Gly 280	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe 285	Gly	Leu	Leu
Glu 290	Ser	Pro	Lys	Ala	Leu	Glu 295	Glu	Ala	Pro	Trp	Pro 300	Pro	Pro	Glu	Gly
Ala 305	Phe	Val	Gly	Phe	Val 310	Leu	Ser	Arg	Arg	Glu 315	Pro	Met	Trp	Ala	Asp 320
Leu	Leu	Ala	Leu	Ala 325	Ala	Ala	Arg	Gly	Gly 330	Arg	Val	His	Arg	Ala 335	Pro
Glu	Pro	Tyr	Lys 340	Ala	Leu	Arg	Asp	Leu 345	Lys	Glu	Ala	Arg	Gly 350	Leu	Leu
Ala	Lys	Asp 355	Leu	Ser	Val	Leu	Ala 360	Leu	Arg	Glu	Gly	Leu 365	Gly	Leu	Pro
Pro	Gly 370	Asp	Asp	Pro	Met	Leu 375	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu 380	Asp	Pro	Ser	Asn
Thr 385	Thr	Pro	Glu	Gly	Val 390	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly 395	Gly	Glu	Trp	Thr	Glu 400
Glu	Ala	Gly	Glu	Arg 405	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu 410	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn 415	Leu

Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu
 420 425 430
 Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly
 435 440 445
 Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala
 450 455 460
 Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His
 465 470 475 480
 Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp
 485 490 495
 Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg
 500 505 510
 Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Gly Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile
 515 520 525
 Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr
 530 535 540
 Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu
 545 550 555 560
 His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser
 565 570 575
 Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln
 580 585 590
 Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Val
 595 600 605
 Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly
 610 615 620
 Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr
 625 630 635 640
 Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro
 645 650 655
 Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly
 660 665 670
 Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu
 675 680 685
 Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg
 690 695 700
 Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val
 705 710 715 720
 Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg
 725 730 735
 Val Lys Ser Val Arg Gly Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro
 740 745 750
 Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu
 755 760 765
 Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His
 770 775 780

Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala
 785 790 795 800
 Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro
 805 810 815
 Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu
 820 825 830

<210> 2
 <211> 832
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> ADN polimerasa artificial

10

<400> 2

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

Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu Lys
 225 230 235
 Leu Ser Trp Asp Arg Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu Val
 245 250 255
 Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala Phe
 260 265 270
 Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu Leu
 275 280 285
 Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu Gly
 290 300
 Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala Asp
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala Pro
 325 330 335
 Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Gly Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu Leu
 340 345 350
 Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu Pro
 355 360 365
 Pro Asp Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser Asn
 370 375 380
 Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn Leu
 405 410 415
 Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu
 420 425 430
 Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly
 435 440 445
 Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala
 450 455 460
 Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His
 465 470 475 480
 Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp
 485 490 495
 Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg
 500 505 510
 Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Gly Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile
 515 520 525
 Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr
 530 535 540
 Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu
 545 550 555 560
 His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser
 565 570 575
 Ser Asp Pro Asn Leu Gln Ser Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln
 580 585 590

Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala
 595 600 605
 Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly
 610 615 620
 Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr
 625 630 635 640
 Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro
 645 650 655
 Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly
 660 665 670
 Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu
 675 680 685
 Ala Gln Ala Phe Ile Lys Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg
 690 695 700
 Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val
 705 710 715 720
 Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg
 725 730 735
 Val Lys Ser Val Arg Glu Pro Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro
 740 745 750
 Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu
 755 760 765
 Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His
 770 775 780
 Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala
 785 790 795 800
 Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro
 805 810 815
 Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu
 820 825 830

<210> 3
 <211> 2490
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Polimerasa modificada por ingeniería genética

<400> 3

atgctccctc tttttgagcc caaaggccgc gtctctctgg tggacggcca ccacctggcc 60
 taccgcacct tccacgccct gaagggcctc accaccagcc ggggggagcc ggtgcaggcg 120
 gtctacggct tcgccaagag cctcctcaag gccctcaagg aggacgggga cgcggtgatc 180
 gtggtctttg acgccaaggc cccctccttc cgccacgagg cctacggggg gtacaaggcg 240

5

10

gcccgggccc ccacgccgga ggactttccc cggcaactcg cccatcaaa ggagctgggt 300
 gatctcctgg ggctggcgcg cctcgaggtc cggggctacg aggcggacga cgtcctggcc 360
 agcctggcca agaaggcggga aaaggagggc tacgaggctc gcacccctac cggcgacaaa 420
 ggcccttacc agctcctttc cgaccgcac cactcctcc accccgaggg gtacctcatc 480
 accccggcct ggctttggga aaagtacggc ctgaggcccc accagtgggc cgactaccgg 540
 gccctgaccg gggacgagtc cgacaacctt cccggggctca agggcatcgg ggagaagacg 600
 gcgaggaagc ttctggagga gtgggggagc ctggaagccc tcctcaagaa cctggaccgg 660
 ctgaagcccc ccatccggga gaagatcctg gccacatgg acgatctgaa gctctcctgg 720
 gatctggcca aggtgcgcac cgacctgcc ctggaggctg acttcgcaa aaggcgggag 780
 cccgaccggg agaggcttag ggcccttctg gagaggcttg agtttggcag cctcctccac 840
 gagttcggcc ttctggaaag cccaaggcc ctggaggagg cccctggcc cccgccgga 900
 ggggccttcg tgggctttgt ctttcccgc agggagccca tgtgggccga tcttctggcc 960
 ctggccgccg ccaggggggg ccgggtccac cgggcccccg agcctataa agccctcagg 1020
 gacctgaagg aggcgcgggg gcttctcgc aaagacctga gcgttctggc cctgagggaa 1080
 ggccctggcc tcccggccgg cgaccgccc atgctcctcg cctacctct ggaccttcc 1140
 aacaccacc ccgagggggg gggccgccc tacggcgggg agtggacgga ggaggcgggg 1200
 gagcgggccg cctttccga gaggtcttc gccaacctgt gggggaggct tgagggggag 1260
 gagaggctcc tttggcttta ccgggaggtg gagaggcccc tttccgctgt cctggcccac 1320
 atggaggcca cgggggtgcg cctggacgtg gcctatctca gggccttgtc cctggagggtg 1380
 gccgaggaga tcgcccgcct cgaggccgag gtcttccgcc tggccggcca cccctcaac 1440
 ctcaactccc gggaccagct ggaaagggtc ctctttgacg agctagggtc tcccgccatc 1500
 ggcaagacgg agaagaccgg caagcgtcc accagcggcg ccgtcctggg ggcctccgc 1560
 gaggccacc ccatcgtaga gaagatcctg cagtaccggg agctaccaaa gctgaagagc 1620
 acctacatg accccttacc ggacctcatc caccagga cggccgcct ccacaccgc 1680
 ttcaaccaga cggccacggc cacgggcagg ctaagtagct ccgatccaa cctccagaac 1740
 atccccgtcc gcaccccgct tgggcagagg atccgccggg cttcatcgc cgaggagggg 1800
 tggctattgg tggctcctgga ctatagccag atagagctca ggggtgctggc ccacctctc 1860
 ggcgacgaga acctgatccg ggtcttccag gaggggcccg acatccacac ggagaccgcc 1920
 agctggatgt tcggcgtccc ccgggagggc gtggaccccc tgatgcgccg ggcggccaag 1980
 accatcaact tcggggctct ctacggcatg tcggcccacc gcctctccca ggagctagcc 2040
 atcccttacg aggaggccca ggccctcatt gagcgtact ttcagagctt cccaagggtg 2100
 cgggcctgga ttgagaagac cctggaggag ggcaggaggc gggggtagct ggagaccctc 2160
 ttcggccgcc gccgctacgt gccagacctg gaggccccgg tgaagagcgt gcggggggcg 2220
 gccgagcgca tggccttcaa catgcccgtc cagggcaccg ccgccacct catgaagctg 2280

ES 2 546 945 T3

gctatggtga agctcttccc caggctggag gaaatggggg ccaggatgct ccttcaggtc 2340
cacgacgagc tggctctcga ggccccaaaa gagagggcgg aggccgtggc ccggctggcc 2400
aaggaggtca tggagggggg gtatccccctg gccgtgcccc tggaggtgga ggtggggata 2460
ggggaggact ggctctccgc caaggagtga 2490

<210> 4
<211> 2490
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Polimerasa modificada por ingeniería genética

<400> 4

atgctccctc tttatgagcc caagggccgc gtcctcctgg tggacggcca ccacctggcc 60
taccgcacct tccacgccct gaagggcctc accaccagcc ggggggagcc ggtgcagggc 120
gtctacggct tcgccaagag cctcctcaag gccctcaagg agggcgggga cgcggtgatc 180
gtggtctttg acgccaaggc cccctccttc ccccatgagg cctacggggg gtacaaggcg 240
ggccgggccc ccacgccgga ggactttccc cgacaactcg ccctcatcaa ggagctggtg 300
gacctcctgg ggctgacgcg cctcgaggtc ccgggctacg aggcggacga cgtcctggcc 360
agcctggcca agaaggcggga aaaggagggc tacgaggtcc gcatectcac cgccgacaaa 420
gacctttacc agctcctttc cgaccgcac cacgtcctcc accccgaggg gtacctcatc 480
accccggcct ggctttggga aaagtacggc ctgaggcccc accagtgggc cgactaccgg 540
gccctgaccg gggacgagtc cgacaacctt cccggggtca agggcatcgg ggagaagacg 600
gcgaggaagc ttctggagga gtgggggagc ctggaagccc tcctcaagaa cctggaccgg 660
ctgaagcccc ccatccggga gaagatcctg gccacatgg acgatctgaa gctctcctgg 720
gaccgggcca aggtgcgcac cgacctgcc ctggaggtgg acttcgcaa aaggcgggag 780
cccgaccggg agaggcttag ggcctttctg gagaggcttg agtttggcag cctcctccac 840
gagttcggcc ttctggaaag cccaaggcc ctggaggagg cccctggcc cccgccggaa 900
ggggccttcg tgggctttgt gctttccgc aaggagcca tgtgggccga tcttctagcc 960
ctggccgccc ccaggggggg ccgggtccac cgggcccccg agccttataa agccctcggg 1020
gacctgaagg aggcgcgggg gcttctcgcc aaagacctga gcgttctggc cctgagggaa 1080
ggccttggcc tcccgccga cgacgacccc atgctcctcg cctacctct ggacccttc 1140
aacaccaccc ccgagggggg gggccggcgc tacggcgggg agtggacgga ggaggcaggg 1200
gagcgggccc cctttccga gaggtcttc gccaacctgt gggggaggct tgagggggag 1260
gaaaggctcc tttggcttta ccgggaggtg gagaggcccc tttccgctgt cctggccccac 1320

ES 2 546 945 T3

atggaggcca cgggggtgcg cctggacgtg gcctatctca gggccttgtc cctggagggtg 1380
 gccgaggaga tcgcccgcct cgaggccgag gtcttccgcc tggccggcca ccccttcaac 1440
 ctcaactccc gggaccagct ggaaagggtc ctctttgacg agctagggct tcccgccatc 1500
 ggcaagacgg agaagaccgg caagcgctcc accagcgccg ccgtcctggg ggccttccgc 1560
 gaggcccacc ccatcgtgga gaagatcctg cagtaccggg agctcaccaa gctgaagagc 1620
 acctacattg accccttgcc ggacctcatc caccccagga cgggcccgcct ccacaccgc 1680
 ttcaaccaga cggccacggc cacgggcagg ctaagtagct ccgatcccaa cctccagagc 1740
 atccccgtcc gcaccccgt tgggcagagg atccgccggg ccttcatcgc cgaggagggg 1800
 tggtattgg tggccctgga ctatagccag atagagctca gggtgctggc ccacctctcc 1860
 ggcgacgaga acctgatccg ggtcttccag gaggggcggg acatccacac ggagaccgcc 1920
 agctggatgt tcggcgtccc ccgggaggcc gtggacccc tgatgcgccg ggcggccaag 1980
 accatcaact tcggggtcct ctacggcatg tcggcccacc gcctctccca ggagctagcc 2040
 atcccttacg aggaggccca ggccttcatt aagcgctact ttcagagctt cccaagggtg 2100
 cgggcctgga ttgagaagac cctggaggag ggcaggaggc gggggtacgt ggagaccctc 2160
 ttcggccgcc gccgctacgt gccagaccta gggcccggg tgaagagcgt gcgggagccg 2220
 gccgagcgca tggccttcaa catgccctc cagggtagcc ccgccgacct catgaagctg 2280
 gctatggtga agctcttccc caggctggag gaaatggggg ccaggatgct ccttcaggtc 2340
 cacgacgagc tggctctcga ggccccaaaa gagagggcgg aggccgtggc ccggctggcc 2400
 aaggagggtca tggagggggg gtatcccctg gccgtgcccc tggagggtgga ggtggggata 2460
 ggggaggact ggctctccgc caaggagtga 2490

5 <210> 5
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Cebador

<400> 5
 caggaaacag ctatgacaaa aatctagata acgaggga 38

15 <210> 6
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Cebador

<400> 6
 gtaaaacgac ggccagtacc accgaactgc gggtagcgc aagcc 45

25 <210> 7
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Cebador

ES 2 546 945 T3

<400> 7
 aaaaatctag ataacgaggg caa 23
 5 <210> 8
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> Cebador
 <400> 8
 15 accaccgaac tgcggtgac gccaaagc 28
 <210> 9
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 9
 25 gaactgcggg tgacccaag cgca 24
 <210> 10
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> Cebador
 <400> 10
 35 ccgaactgcg ggtgaccca agcgg 25
 <210> 11
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 11
 45 gaactgcggg tgacccaag cgcg 24
 <210> 12
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> Cebador
 <400> 12
 55 aaaaatctag ataacgaggg caa 23
 <210> 13
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> Cebador
 65

ES 2 546 945 T3

	<400> 13 ccgactggcc aagattagag agtatgg	27
5	<210> 14 <211> 27 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> Cebador	
15	<400> 14 gattccacg gataagactc cgcatcc	27
20	<210> 15 <211> 27 <212> ADN <213> Artificial	
25	<220> <223> Cebador	
30	<400> 15 ggcagacgat gatgcagata accagag	27
35	<210> 16 <211> 27 <212> ADN <213> Artificial	
40	<220> <223> Cebador	
45	<400> 16 gccgatagat agccacggac ttcgtag	27
50	<210> 17 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
55	<220> <223> Cebador	
60	<400> 17 ggagtagatg ctgctttc tgagcc	26
65	<210> 18 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
70	<220> <223> Cebador	
75	<400> 18 gagttcgtgc ttaccgcaga atgcag	26
80	<210> 19 <211> 25 <212> ADN <213> Artificial	
85	<220> <223> Cebador	

ES 2 546 945 T3

<400> 19
 accgaactgc gggtagcgc aagcg 25

 5 <210> 20
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial

 10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 20
 accgaactgc gggtagcgc aagcc 25

 15 <210> 21
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial

 20 <220>
 <223> Cebador

 <400> 21
 accgaactgc gggtagcgc aagca 25

 25 <210> 22
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Artificial

 30 <220>
 <223> Cebador

 <400> 22
 aaacagcgc tggcgtcacc cgcagtcgg t 31

 35 <210> 23
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Artificial

 40 <220>
 <223> Cebador

 45 <400> 23
 aaacaggcgc tggcgtcacc cgcagtcgg t 31

 50 <210> 24
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Artificial

 55 <220>
 <223> Cebador

 <400> 24
 aaacagagcgc tggcgtcacc cgcagtcgg t 31

 60 <210> 25
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Artificial

 65 <220>
 <223> Cebador

ES 2 546 945 T3

<400> 25
 aaacaccgct tggcgtcacc cgcagttcgg t 31

5 <210> 26
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Cebador

<400> 26
 agctaccatg cctgcacgaa ttcggcatcc gtcgcgacca cggtcgcagc g 51

15 <210> 27
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Cebador

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> N es un sitio abásico

<400> 27
 agctaccatg cctgcacgac ancggcatcc gtcgcgacca cggtcgcagc g 51

30 <210> 28
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Cebador

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (21)..(22)
 <223> N es un dímero cpd

<400> 28
 agctaccatg cctgcacgaa nncggcatcc gtcgcgacca cggtcgcagc g 51

50 <210> 29
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador

55 <400> 29
 cgtggtcgcg acggatgccg 20

60 <210> 30
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador

65 <400> 30

ES 2 546 945 T3

	taatacgact cactataggg aga	23	
5	<210> 31 <211> 28 <212> ADN <213> Artificial		
10	<220> <223> Cebador		
15	<220> <221> misc_feature <222> (5)..(5) <223> N es 5NI		
	<400> 31 actgntctcc ctatagtgg tcgtatta	28	
20	<210> 32 <211> 40 <212> ADN <213> Artificial		
25	<220> <223> Cebador		
	<400> 32 caggaaacag ctatgacaaa aatctagata acgagggcaa	40	
30	<210> 33 <211> 45 <212> ADN <213> Artificial		
35	<220> <223> Cebador		
40	<400> 33 gtaaaacgac ggccagtacc accgaactgc gggtagcgc aagcg	45	
45	<210> 34 <211> 36 <212> ADN <213> Artificial		
50	<220> <223> Cebador		
	<400> 34 gtaaaacgac ggccagtta ttaaccaccg aactgc	36	
55	<210> 35 <211> 41 <212> ADN <213> Artificial		
60	<220> <223> Cebador		
	<400> 35 caggaaacag ctatgactcg acaaaaatct agataacgac c	41	
65	<210> 36 <211> 17 <212> ADN <213> Artificial		

ES 2 546 945 T3

	<code><220></code>		
	<code><223> Cebador</code>		
5	<code><400> 36</code> gtaaaacgac ggccagt	17	
	<code><210> 37</code> <code><211> 17</code> <code><212> ADN</code> <code><213> Artificial</code>		
10			
	<code><220></code> <code><223> Cebador</code>		
15	<code><400> 37</code> caggaaacag ctatgac	17	
	<code><210> 38</code> <code><211> 44</code> <code><212> ADN</code> <code><213> Artificial</code>		
20			
	<code><220></code> <code><223> Cebador</code>		
25	<code><400> 38</code> caggaaacag ctatgacaaa agtgaaatga atagttcgac tttt	44	
	<code><210> 39</code> <code><211> 43</code> <code><212> ADN</code> <code><213> Artificial</code>		
30			
	<code><220></code> <code><223> Cebador</code>		
35	<code><400> 39</code> gtaaaacgac ggccagtctt cacaggtcaa gcttattaag gtg	43	
	<code><210> 40</code> <code><211> 44</code> <code><212> ADN</code> <code><213> Artificial</code>		
40			
	<code><220></code> <code><223> Cebador</code>		
45	<code><400> 40</code> caggaaacag ctatgaccat tgatagagtt atttaccac aggg	44	
	<code><210> 41</code> <code><211> 43</code> <code><212> ADN</code> <code><213> Artificial</code>		
50			
	<code><220></code> <code><223> Cebador</code>		
55	<code><400> 41</code> gtaaaacgac ggccagtctt cacaggtcaa gcttattaag gtg	43	
	<code><210> 42</code> <code><211> 38</code> <code><212> ADN</code> <code><213> Artificial</code>		
60			
	<code><220></code> <code><223> Cebador</code>		
65			

ES 2 546 945 T3

<220>
 <223> Cebador

 <400> 42
 5 caggaaacag ctatgacaaa aatctagata acgagggga 38

 <210> 43
 <211> 45
 <212> ADN
 10 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 43
 15 gtaaaacgac ggccagtacc accgaactgc gggtagcgc aagcc 45

 <210> 44
 <211> 41
 <212> ADN
 20 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 44
 25 caggaaacag ctatgactcg acaaaaatct agataacgac c 41

 <210> 45
 <211> 36
 <212> ADN
 30 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 45
 35 gtaaaacgac ggccagttta ttaaccaccg aactgc 36

 <210> 46
 <211> 67
 <212> ADN
 40 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (45)..(45)
 <223> n es du-biotina

 <400> 46

agctaccatg cctgcacgca gtcggcatcc gtcgcgacca cgttnttcgt ggtcgcgacg 60
gatgccg 67
 55

 <210> 47
 <211> 67
 <212> ADN
 60 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> N es un sitio abásico
 5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> n es dU- biotina
 10

<400> 47

agctaccatg cctgcacgca gncggcatcc gtcgcgacca cgttnttcgt ggtcgcgacg 60
gatgccg 67

<210> 48
 <211> 67
 <212> ADN
 <213> Artificial
 15

<220>
 <223> Cebador
 20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> n es hidantoina
 25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> n es biotina-du
 30

<400> 48

agctaccatg cctgcacgca gncggcatcc gtcgcgacca cgttnttcgt ggtcgcgacg 60
gatgccg 67

<210> 49
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35

<220>
 <223> Secuencia clonada
 40

<400> 49
 45

ES 2 546 945 T3

atggcgatgc	ttccccctctt	tgagcccaag	ggccgcgtcc	tcctggtgga	cgccaccac	60
ctggcctacc	gcaccttctt	cgccctgaag	ggccccacca	cgagccgggg	cgaaccggtg	120
caggtggtct	acggcttcgc	caagagcctc	ctcaaggccc	tgaaggagga	cgggtacaag	180
gccgtcttcg	tggtctttga	cgccaaggcc	ccctcattcc	gccacaaggc	ctacgaggcc	240
tacagggcgg	ggagggcccc	gacccccgag	gacttcccc	ggcagctcgc	cctcatcaag	300
gagctggtgg	acctcctggg	gtttaccgc	ctcgaggctc	ccggctacga	ggcggacgac	360
gttctcgcca	ccgtggccaa	gaaggcgaa	aaggaggggt	acgaggtggg	catcctcacc	420
gccgaccgcg	gcctctacca	actcgtctct	gaccgcgtcg	ccgtcctcca	ccccgagggc	480
cacctcatca	ccccggagtg	gctttgggag	aagtacggcc	tcaggccgga	gcagtgggtg	540

ES 2 546 945 T3

gaattccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccgggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggcccacct ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggaggt ggacctcggc 780
 caggggaggg agcccgaccg ggaggggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctcctcc acgagttcgg ccttctggaa agcccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggg ggccgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gagacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gaggcttctg 1080
 gccctgaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggtctc tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc ctttccggt 1320
 gtcttgcccc acatggaggc cacaggggtg cgctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccctggagg tggccgagga gatcgcccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
 cttcccgccca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgtc ccaccggcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc acgaggccca cccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccctg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
 ctccacaccc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcacccag cttgggcaga ggatccgccg ggcccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
 acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccaggagg ccgtggacc cctgatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtt ctctacggca tgtcggccta ccgcctctcc 2040
 caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgtta ctttcagagc 2100
 ttcccccaagg tgcgggcctg gattgggaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagacct tcttcggccg ccgccgtac gtgccagacc tagaggcccc ggatgaagagc 2220
 gtgcgggagg cggccgagcg catggccttc aacacgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaagc tagctatggt gaagctctc cccaggettg aggaaatggg ggccaggatg 2340
 ctcttccagg tccacgacga gctggtcctc gaggccccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
 gcccggtctg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gagggtgggga taggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 50
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

ES 2 546 945 T3

<220>

<223> Secuencia clonada

5

<400> 50

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

275				280				285							
Leu	Glu	Ser	Pro	Lys	Ala	Leu	Glu	Glu	Ala	Pro	Trp	Pro	Pro	Pro	Glu
	290					295					300				
Gly	Ala	Phe	Val	Gly	Phe	Val	Leu	Ser	Arg	Lys	Glu	Pro	Met	Trp	Ala
305				310						315					320
Asp	Leu	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly	Gly	Arg	Val	His	Arg	Ala
				325					330					335	
Pro	Glu	Pro	Tyr	Lys	Ala	Leu	Arg	Asp	Leu	Lys	Glu	Ala	Arg	Gly	Leu
			340					345					350		
Leu	Ala	Lys	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gly	Leu
		355					360					365			
Pro	Pro	Gly	Asp	Asp	Pro	Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser
	370					375					380				
Asn	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr
385					390					395				400	
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn
				405					410					415	
Leu	Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg
			420					425				430			
Glu	Val	Glu	Arg	Pro	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr
		435					440					445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val
	450					455					460				
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly
465				470						475					480
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe
			485						490					495	
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505					510		
Arg	Ser	Thr	Gly	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	His	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535					540				
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545				550						555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Gln	Leu	Gly
			580					585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser
	610					615					620				
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His
625					630					635				640	

Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Gln Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala Tyr Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Gly Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Thr
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 51
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 51

atgcgtggta tgcctcctct ttttgagccc aagggccgcg tcctcctggt ggacggccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 caggcggctc acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cctcctctcc gccacgaggc ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc ccggctacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420

gccgaccgcg acctctacca actcgtctcc gaccgcgctc cegtctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg ccctcgtggg ggaccctcc gacaacctcc ccggggtaa gggcatcggg 600
 gagaggaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggtctctct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc ccctggaggt ggacctcgc 780
 cagggcggg agctcgaccg ggagaggctt agggcctttc tggagaggt tgagtttggc 840
 agctctctcc acgagttcgg ccttctggaa agccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 ccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggccc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctcccgccc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggaag 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggataggcc ctttccgct 1320
 gtcttgccc acatggaggc cacaggggtg cgcctggacg tggcctatct cagggcctcg 1380
 tccctggagg tggccgagga gatcggccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccctca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tctctttga cgagctaggg 1500
 cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccttg ccggacctca tccaccccag gatgggcccgc 1680
 ctccacacc gttcaacca gacggccacg gccacaggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctcaga acatccccgt ccgcaccccg cttgggcaga ggatccgccc ggccttcatc 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggcctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggagggcg ggacatccac 1920
 acggagaccg ccagttggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacce cctgatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgcggcccg ccgctctcc 2040
 caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctttcagagc 2100
 ttccccaagg tcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagacc tcttcggccg ccgccgctac gtgccagacc tagaggcccg ggtgaagagc 2220
 gtgcgggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccg tcaggggcac cgcccccac 2280
 ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc ccaggctgg aggaaatggg ggccaggatg 2340
 ctcttcagg tccacgacga gctggtcctc gaggcccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
 gccggctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gccaggagt ga 2502

<210> 52
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 5

10

```

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

260				265				270							
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu
		275					280					285			
Leu	Glu	Ser	Pro	Lys	Ala	Leu	Glu	Glu	Ala	Pro	Trp	Pro	Pro	Pro	Glu
	290					295					300				
Gly	Ala	Phe	Val	Gly	Phe	Val	Leu	Ser	Arg	Lys	Glu	Pro	Met	Trp	Ala
305					310					315					320
Asp	Leu	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly	Gly	Arg	Val	His	Arg	Ala
				325					330					335	
Pro	Glu	Pro	Tyr	Lys	Ala	Leu	Arg	Asp	Leu	Lys	Glu	Ala	Arg	Gly	Leu
			340					345					350		
Leu	Ala	Lys	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gly	Leu
		355					360					365			
Pro	Pro	Gly	Asp	Asp	Pro	Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser
	370					375					380				
Asn	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr
385					390					395					400
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn
				405					410					415	
Leu	Trp	Gly	Lys	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg
			420					425					430		
Glu	Val	Asp	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr
		435					440					445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	Val
	450					455					460				
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly
465					470					475					480
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe
				485					490					495	
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505					510		
Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535					540				
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly
			580					585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			
Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser
	610					615					620				

Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala Arg Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830
 Glu

<210> 53
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 53

atgcgtggtgta tgcatectct ttttgagccc aagggccgcg tctcctggt ggacggccac 60
 cacctggcct accgcacctt ccacgccctg aaggggctca ccaccagccg gggggagccg 120
 gtgcggggcgg tccacggctt cgccaagagc ctctcaagg ccctgaagga ggacgggtac 180
 aagggcgtct tcgtggtctt tgacgccaaag gccccctct tccgccacga ggcctacgag 240
 gcctacaagg cggggagggc cccgaccccc gaggacttcc cccggcagct cgcctcatc 300
 aaggagctgg tggacctctt ggggtttacc cgcctcgagg tccccggcta cgaggcggac 360

gacgttctcg	ccaccctggc	caagaaggcg	gaaaaggagg	ggtacgaggt	gcgcatcctc	420
accgccgacc	gcgaccteta	ccaactcgtc	tccgaccgcg	tcgccgtcct	ccaccccag	480
ggccacctca	tcaccccgga	gtggctttgg	gagaagtacg	gcctcaggcc	ggagcagtgg	540
gtggacttec	gcgccctcgt	gggggacccc	tccgacaacc	tccccggggt	caagggcatc	600
ggggagaaga	ccgccctcaa	gctcctcaag	gagtggggaa	gcctggaaaa	cctcctcaag	660
aacctggacc	ggctgaagcc	cgccatccgg	gagaagatcc	tggccccacat	ggacgatctg	720
aagctctcct	gggacctggc	caaggtgcgc	accgacctgc	ccctagagggt	ggacttcgcc	780
aaaaggcggg	agcccgaccg	ggagaggctt	agggccttte	tggagaggct	tgagcttggc	840
agcctcctec	acgagttcgg	ccttctggaa	agccccaaaga	ccctggagga	ggcctcctgg	900
ccccgccgg	aaggggcctt	cgtgggcttt	gtgctttccc	gcaaggagcc	catgtgggcc	960
gatcttctgg	ccctggccgc	cgccaggggg	ggccgggtcc	accgggcccc	cgagccttat	1020
aaagccctca	gagacctgaa	ggaggcgcgg	gggcttctcg	ccaaagacct	gagcgttctg	1080
gccctgaggg	aaggccttgg	cctcccggcc	ggcgacgacc	ccatgctcct	cgctacctc	1140
ctggaccctt	ccaacaccac	ccccgagggg	gtggcccggc	gctacggcgg	ggagtggacg	1200
gaggaggcgg	gggagcgggc	cgccctttcc	gagaggctct	tcgccaacct	gtgggggagg	1260
cttgaggggg	aggagaggct	cctttggctt	taccgggagg	tggagaggcc	cctttccggt	1320
gtcctggccc	acatggaggc	cacaggggtg	cgctggacg	tggcctatct	cagggccttg	1380
tccctggagg	tggccgagga	gatcgcccgc	ctcgaggccc	aggtcttccg	cctggcccggc	1440
caccccttca	acctcaactc	ccgggaccag	ctggaagggg	tcctctttga	cgagctaggg	1500
cttcccgcc	tcggcaagac	ggagaagacc	ggcaagcgtc	ccaccggcgc	cgccgtcctg	1560
gaggccctcc	gcgaggccca	ccccatcgtg	gagaagatcc	tgcagtaccg	ggagctcacc	1620
aagctgaaga	gcacctacat	tgacccttg	ccggacctca	tccaccccag	gacgggccgc	1680
ctccacacc	gcttcaacca	gacggccacg	gccacgggca	ggctaagtag	ctccgatccc	1740
aacctccaga	acatccccgt	ccgcacccag	cttgggcaga	ggatccgccg	ggccttcatc	1800
gccgaggagg	ggtggctatt	ggtggtcctg	gactatagcc	agatagagct	caggggtgctg	1860
gcccacctct	ccggcgacga	gaacctgatc	cgggtcttcc	aggagggggc	ggacatccac	1920
acggaaaccg	ccagctggat	gttcggcgtc	cccaggagg	ccgtggaccc	cctgatgcgc	1980
cgggcgcca	agaccatcaa	cttcgggggt	ctctacggca	tgtcggccta	ccgctctcc	2040
caggagctag	ccatecctta	cgaggaggcc	caggccttca	ttgagcgtta	ctttcagagc	2100
ttccccaagg	tgcgggcctg	gattgggaa	accctggagg	agggcaggag	gcgggggtac	2160
gtggagacc	tcttcggccc	ccgccgctac	gtgccagacc	tagaggcccc	ggtgaagagc	2220
gtgcgggagg	cggccgagcg	catggccttc	aacacgccc	tccagggcac	cgccgccgac	2280
ctcatgaagc	tggctatggt	gaagctcttc	cccaggctgg	aggaatggg	ggccaggatg	2340
ctccttcagg	tccacgacga	gctagtcctc	gaggcccca	aagagagggc	ggaggccgtg	2400

gccccgctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 54
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 54

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

245					250					255					
Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala
			260					265					270		
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Leu	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu
		275					280					285			
Leu	Glu	Ser	Pro	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Ala	Ser	Trp	Pro	Pro	Pro	Glu
	290					295					300				
Gly	Ala	Phe	Val	Gly	Phe	Val	Leu	Ser	Arg	Lys	Glu	Pro	Met	Trp	Ala
305					310					315					320
Asp	Leu	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly	Gly	Arg	Val	His	Arg	Ala
				325					330					335	
Pro	Glu	Pro	Tyr	Lys	Ala	Leu	Arg	Asp	Leu	Lys	Glu	Ala	Arg	Gly	Leu
			340					345					350		
Leu	Ala	Lys	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gly	Leu
		355					360					365			
Pro	Pro	Gly	Asp	Asp	Pro	Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser
	370					375					380				
Asn	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr
385					390					395					400
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn
				405					410					415	
Leu	Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg
			420					425					430		
Glu	Val	Glu	Arg	Pro	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr
		435					440					445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val
	450					455					460				
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly
465					470					475					480
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe
			485						490					495	
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505					510		
Arg	Ser	Thr	Gly	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535					540				
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Gln	Leu	Gly
			580					585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			

Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Gln Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala Tyr Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Gly Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Thr
 740 745
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 55
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 55

atgcgtggta tgcttctct ttttgagccc aagggccgcg tcttcttggg ggacggccac 60
 cacctggcct accgcacctt cttcgccctg aagggcctca ccacgagccg gggcgaaccg 120
 gtgcaggcgg tctacggctt cgccaagagc ctcctcaagg ccctgaagga ggacgggtac 180
 aaggccgtct tcgtggtctt tgacgccaag gccccctccc tccgccacga ggcctacgag 240

5

10

gcctacaagg cggggagggc cccgaccccc gaggacttcc cccggcagct cgcctcctc 300
aaggagctgg tggacctcct ggggtttacc cgcctcgagg tccccggcta cgaggcggac 360
gacgttctcg ccaccctggc caagaaggcg gaaaaggagg ggtacgaggt gcgcatcctc 420
accgccgacc gcgaccteta ccaactcgtc tccgaccgcg tcgccgtcct ccaccccgag 480
ggccacctca tcaccccgga gtggctttgg gagaagtacg gcctcaggcc ggagcagtgg 540
gtggacttcc gcgccctcgt gggggacccc tccgacaacc tccccgggt caagggcatc 600
ggggagaaga ccgccctcaa gtcctcaag gagtggggaa gcctggaaaa cctcctcaag 660
aacctggacc ggctgaagcc cgccatccgg gagaagatcc tggcccacat ggacgatctg 720
aagctctcct gggacctggc caaggctgc accgacctgc ccctggaggt ggacttcgcc 780
aaaaggcggg agcccgaccg ggagaggctt agggcctttc tggagaggct tgagcttggc 840
agcctcctcc acgagttcgg ccttctggaa agccccaagg ccctggagga ggcctcctgg 900
cccccgccgg aaggggctt cgtgggcttt gtgcttacc gcaaggagcc catgtgggcc 960
gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggg gggcgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
aaagccctca gggacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
gccctgaggg aaggccttgg cctccccccc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagagacc cttttcgcct 1320
gtcctggccc acatggaggc cacgggggtg cgcctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
tcctggagg tggccgagga gatcgcccg ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
cacccttca acctcaactc ccgagaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
gaggccctcc gcgaggcca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccc cttgggcaga ggatccgccg ggccttcatc 1800
gccgaggagg ggtggctatt ggtggccctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga gaacctgat cgggtcttcc aggagggcg ggacatccac 1920
acggagaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacc cctgatgcgc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgcggccca ccgctctcc 2040
caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctttcagagc 2100
ttcccgaagg tgcgggctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
gtggagacc tcttcggccg ccgccgtac gtgccagacc tagaggccc ggtgaagagc 2220
gtgcgggagg cggccgagcg catggcctt aacatgccc tccagggcac cgccgccgac 2280

cttatgaagc tcgccatggt gaagctcttc ccccgctcc gggagatggg ggccccgatg 2340
 ctctccagg tccacgacga gctcctcctg gaggcccccc aagcgcgggc cgaggagggtg 2400
 gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggagggtg 2460
 aaggtgggga tcggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 56
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 56

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

225					230					235				240	
Lys	Leu	Ser	Trp	Asp 245	Leu	Ala	Lys	Val	Arg 250	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu 255	Glu
Val	Asp	Phe	Ala 260	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro 265	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu 270	Arg	Ala
Phe	Leu	Glu 275	Arg	Leu	Glu	Leu	Gly 280	Ser	Leu	Leu	His	Glu 285	Phe	Gly	Leu
Leu	Glu 290	Ser	Pro	Lys	Ala 295	Leu	Glu	Glu	Ala	Ser	Trp 300	Pro	Pro	Pro	Glu
Gly 305	Ala	Phe	Val	Gly	Phe 310	Val	Leu	Thr	Arg	Lys 315	Glu	Pro	Met	Trp	Ala 320
Asp	Leu	Leu	Ala	Leu 325	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly 330	Gly	Arg	Val	His	Arg 335	Ala
Pro	Glu	Pro	Tyr 340	Lys	Ala	Leu	Arg	Asp 345	Leu	Lys	Glu	Ala	Arg 350	Gly	Leu
Leu	Ala	Lys 355	Asp	Leu	Ser	Val	Leu 360	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly 365	Leu	Gly	Leu
Pro	Pro 370	Gly	Asp	Asp	Pro	Met 375	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu 380	Leu	Asp	Pro	Ser
Asn 385	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly 390	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr 395	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr 400
Glu	Glu	Ala	Gly 405	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser 410	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala 415	Asn
Leu	Trp	Gly	Arg 420	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu 425	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu 430	Tyr	Arg
Glu	Val	Glu 435	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala 440	Val	Leu	Ala	His	Met 445	Glu	Ala	Thr
Gly 450	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala 455	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu 460	Ser	Leu	Glu	Val
Ala 465	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg 470	Leu	Glu	Ala	Glu	Val 475	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly 480
His	Pro	Phe	Asn 485	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln 490	Leu	Glu	Arg	Val	Leu 495	Phe
Asp	Glu	Leu	Gly 500	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly 505	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr 510	Gly	Lys
Arg	Ser	Thr 515	Ser	Ala	Ala	Val	Leu 520	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu 525	Ala	His	Pro
Ile	Val 530	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln 535	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr 540	Lys	Leu	Lys	Ser
Thr 545	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu 550	Pro	Asp	Leu	Ile	His 555	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg 560
Leu	His	Thr	Arg	Phe 565	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr 570	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu 575	Ser
Ser	Ser	Asp	Pro 580	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile 585	Pro	Val	Arg	Thr	Pro 590	Leu	Gly

Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Ala Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Arg Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Leu Leu Glu Ala Pro Gln Ala Arg Ala Glu Glu Val
 785 790 800
 Ala Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Lys Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 57
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 57

atggcgatgc ttcccccttt tgagcccaag ggccgcgtcc tcttggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 caggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180

gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cctcattcc gccacaaggc ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc ccggctacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctatacca actcgtctat gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggtctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggagggt ggacctcggc 780
 caggggcggg agcccgaccg ggaggggctt agggccttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctcctcc acgagttcgg ccttctggaa agcccaagg ccctggagga ggcctcctgg 900
 cccccggg aaggggcctt cgtgggctt gtgcttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcaggtcc accgggccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacctgaa ggagggcggg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctcccggc ggcgacgacc ccatgctcct cgctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc cctttccgct 1320
 gtccctggccc acatggaggc cacgggggtg cgctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccttggagg tggccgagga gatcggccgc ctcgagggcg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaatgg tgctcttga cgagcttagg 1500
 cttcccgcct tggggaagac gcaaaagacg ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca cccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccttg tcggacctca tccaccagc gacgggcccg 1680
 ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctcaga acatccccgt ccgacccccg cttgggcaga ggatccgccc ggcttctc 1800
 gccgaggagg ggtggctact ggtggctctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga aaacctgatc aggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
 acggagaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggaccc cctgatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgcggccca ccgcctctcc 2040
 caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgtta ctttcagagc 2100
 ttcccgaagg tgcgggctg gattgagaag acctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagacc tcttcggccg ccggcgtac gtgccagacc tagaggccc ggtgaagagc 2220

gtgctgggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccc tccagggcac cgccgcccac 2280
 ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc cccaggctgg aggaaatggg ggccaggatg 2340
 ctccttcagg tccacgacga gctggtcctc gaggccccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
 gcccggctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 58
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 58

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

210					215					220					
Lys 225	Pro	Glu	Asn	Val	Arg 230	Glu	Lys	Ile	Lys	Ala 235	His	Leu	Glu	Asp	Leu 240
Arg	Leu	Ser	Leu	Glu 245	Leu	Ser	Arg	Val	Arg 250	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu 255	Glu
Val	Asp	Leu	Ala 260	Gln	Gly	Arg	Glu	Pro 265	Asp	Arg	Glu	Gly	Leu	Arg	Ala
Phe	Leu	Glu 275	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly 280	Ser	Leu	Leu	His	Glu 285	Phe	Gly	Leu
Leu	Glu 290	Ser	Pro	Lys	Ala	Leu 295	Glu	Glu	Ala	Pro	Trp 300	Pro	Pro	Pro	Glu
Gly 305	Ala	Phe	Val	Gly	Phe 310	Val	Leu	Ser	Arg	Lys 315	Glu	Pro	Met	Trp	Ala 320
Asp	Leu	Leu	Ala	Leu 325	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly 330	Gly	Arg	Val	His	Arg 335	Ala
Pro	Glu	Pro	Tyr 340	Lys	Ala	Leu	Arg	Asp 345	Leu	Lys	Glu	Ala	Arg 350	Gly	Leu
Leu	Ala	Lys 355	Asp	Leu	Ser	Val	Leu 360	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly 365	Leu	Gly	Leu
Pro	Pro 370	Gly	Asp	Asp	Pro	Met 375	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu 380	Leu	Asp	Pro	Ser
Asn 385	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly 390	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr 395	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr 400
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu 405	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser 410	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala 415	Asn
Leu	Trp	Gly	Arg 420	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu 425	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr 430	Arg
Glu	Val	Glu 435	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala 440	Val	Leu	Ala	His	Met 445	Glu	Ala	Thr
Gly 450	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala 455	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu 460	Ser	Leu	Glu	Val
Ala 465	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg 470	Leu	Glu	Ala	Glu	Val 475	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly 480
His	Pro	Phe	Asn 485	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln 490	Leu	Glu	Met	Val	Leu 495	Phe
Asp	Glu	Leu	Arg 500	Leu	Pro	Ala	Leu	Gly 505	Lys	Thr	Gln	Lys	Thr 510	Gly	Lys
Arg	Ser	Thr 515	Ser	Ala	Ala	Val	Leu 520	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
Ile	Val 530	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln 535	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr 540	Lys	Leu	Lys	Ser
Thr 545	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu 550	Ser	Asp	Leu	Ile	His 555	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg 560
Leu	His	Thr	Arg	Phe 565	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr 570	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser 575

Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 59
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 59

atggcgatgc ttccctctt tgagcccaag ggccgcgtcc tctggtgga cggccaccac 60

ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 cagggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggcttttga cgccaaggcc cctcattcc gccacaaggc ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggctc ccggctacga ggcgacgac 360
 gttctcgcca ctttcgcca gaaggcggaa aaggaggggt acgagggtgc catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg cctcgtggg gaaccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg cctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggtctctct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc cctggagggt ggacctcgc 780
 caggggcggg agccccaccg ggaggggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctctcc acgagttcgg ctttctggaa agccccagg cctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccttgccgc cgccaggggt ggtcgagtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct ctttggtt taccgggagg tggagaggcc ctttccgct 1320
 gtcctggccc acatggagge cacgggggtg cgcctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccctggagg tggccgagga gatcgcccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
 cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcgc cgcctcctg 1560
 gaggcctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccag gacgggccgc 1680
 ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcaccccc ctcgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggctctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
 gcccacctct ccggcgacga gaacctgate cgggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
 acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacc cctaatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgtcggccc cgcctctcc 2040
 caggagctag ccatcccta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgtc ctttcagagc 2100

ES 2 546 945 T3

ttccccaagg tgcgggctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagacc tcttcggccg ccgcccgtac gtgccagacc tagaggcccg ggtgaagagc 2220
 gtgccccagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccc tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc cccaggctgg aggaaatggg ggccaggatg 2340
 ctccttcagg tccacgacga gctggtcctc gaggcccca aagagagggc ggaggccgtg 2400
 gccccgctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gaggtgggga taggggagga ctggctttcc gcccaagggtt ag 2502

<210> 60
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 60

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

5

10

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

Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser
 565 570 575
 Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala Arg Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Gly

<210> 61
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 61

ES 2 546 945 T3

atggtgatgc ttcccccttt tgagcccaag ggccgcgtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggcctcacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 caggcgggtet acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc tcctccttcc gccacgaggc ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc cccagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggctc ccggctacga ggtggacgac 360
 gtcctggcca gcctggccaa gaaggtggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg acctctacca actcgtctcc gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg cctcgtggg ggaccccccc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg cctcaagct cctcaaggag tggggaggcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggcccacct ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc ccctggaggt ggacctcgc 780
 caggggcggg aacccgaccg ggagaggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctctctc acgagttcgg ccttctggaa agccccagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggccc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accggacccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggagggcggg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctccccccc ggcgacgacc ccattgctct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggccccgc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggataggcc cctttccgct 1320
 gtcttgccc acatggaggc cacaggggtg cgcttgacg tggcctacct cagggccttg 1380
 tccttgagg tggccgagga gatcggccc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tcctcttga cgagctaggg 1500
 ctcccccca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
 ctccacacc gttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatagagct caggggtctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
 acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacct cctaatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcgggggt ctctacggca tgtcggccca ccgcctctcc 2040

ES 2 546 945 T3

caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctttcagagc 2100
 ttccccaagg tgcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagaccc tcttcggccg ccgtcgtac gtgccagacc tagaggcccg ggtgaagagc 2220
 gtgcggggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc cccaggctgg aagaaacggg ggccaggatg 2340
 ctccttcagg tccacgacga gctggtcctc gaggcccca aagagagggc ggaggccgtg 2400
 gcccgctgg ccaaggaggc catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 62
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 62

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

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

Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg
 545 550 555 560
 Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser
 565 570 575
 Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Thr Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 63
 <211> 2550
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 63

5

10

ES 2 546 945 T3

atggtgatgc ttcccccttt tgagcccaag ggccgcgtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggctcacca cgagccgggg cgaaccgggtg 120
 caggcggctt acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc tcctccttcc gccacgaggc ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggctc ccggctacga ggtggacgac 360
 gtcttgcca gcctggccaa gaaggtggaa aaggaggggt acgaggtgc catctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg ccgtctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggtctctct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc ccctggaggt ggacctcgcc 780
 caggggcggg agccccgacc ggagaggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctctcc acgagttcgg ccttctggaa agcccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccc gcgccgggtt ggtcgggtcc accggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctccccccc ggcgacgacc ccatgctct cgctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggataggcc cctttccgct 1320
 gtctggccc acatggaggc cacaggggtg cgctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tcctggagg tggccgagga gatcggccc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaagg tcctcttga cgagctaggg 1500
 cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcg cgccatcctg 1560
 gaggccctcc gcgagggcca ccccatcgtg gagaagatcc tgagtagcc ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccctt cggacctca tccacccag gacgggccgc 1680
 ctccacacc gcttcaacca gacggccac gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcacccc ctcgggcaga ggatccgccc ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgacc cgggtcttcc aggagggggc ggacatccac 1920

acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg cctgggaccc cctgatgctc 1980
 cgggaggcca agaccatcaa cttcgggggtt ctctacggca tgtcggccca ccgcctctcc 2040
 caggagctgg ccattccctta cgaggaggcc caggccttca tagagcgcta cttccaaagc 2100
 ttccccaagg tgcgggcctg gatagaaaag accttgagg aggggaggaa gcggggctac 2160
 gtggaaaccc tcttcggaag aaggcgctac gtgcccgacc tcaacgcccg ggtgaagagt 2220
 gtcaggagg cgcgggagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 cttatgaagc tcgccatggt gaagctcttc ccccgctctc gggagatggg ggcccgcctg 2340
 ctctccagg tccacgacga gctcctctg gaggcccccc aagcgcgggc cgaggaggtg 2400
 gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggaggtg 2460
 aagggtggga tcggggagga ctggctctcc gcccaaggag tgagtcgacc tgcaggcagc 2520
 gcttggcgtc acccgcagtt cggtggttaa 2550

<210> 64
 <211> 849
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 64

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

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

		515					520					525				
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	
	530					535					540					
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	
545					550					555					560	
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	
				565					570					575		
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	
			580					585					590			
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	
		595					600					605				
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser	
	610					615					620					
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Thr	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His	
625					630					635				640		
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp	
				645					650					655		
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	
			660					665					670			
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	
	675						680					685				
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val	
	690					695					700					
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly	Tyr	
705					710					715				720		
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn	Ala	
				725					730					735		
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met	
			740					745					750			
Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys	
		755					760					765				
Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val	
	770					775					780					
His	Asp	Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Pro	Gln	Ala	Arg	Ala	Glu	Glu	Val	
785					790					795					800	
Ala	Ala	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Met	Glu	Lys	Ala	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val	
				805					810					815		
Pro	Leu	Glu	Val	Lys	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Gln	
			820					825					830			
Gly	Val	Ser	Arg	Pro	Ala	Gly	Ser	Ala	Trp	Arg	His	Pro	Gln	Phe	Gly	
		835					840					845				
Gly																

<210> 65
 <211> 2505
 <212> ADN
 <213> Artificial

ES 2 546 945 T3

<220>

<223> Secuencia clonada

<400> 65

5

```

atgCGtgGta tgcttCctct tttTgagccc aagggccGcg tcctcctggt ggacggccac      60
cacctggcct accgcacctt ctteGecctg aagggcccca ccacgagccg gggcgaaccg      120
gtgCaggcgg tctacggctt cgccaagagc ctctcaagg ccctgaagga ggacgggtac      180
aagggccgct tcgtggcttt tgacgccaag gccccctcct tccgccacga ggcttacgag      240
gcctacaagg cgggggagggc cccgaccccc gaggacttcc cccggcagct cgccctcatc      300
aaggagctgg tggacctcct ggggtttacc cgctcgagg tccttggtta cgaggcggac      360
gacgtcctcg ccacctggc caagaaggcg gaaaaggagg ggtacgaggt ggcctcctc      420
accgccgacc gcgacctcta ccaactcgtc tccgaccgcg tcgccgtcct ccaccccgag      480
ggccacctca tcaccccgga gtggctttgg gagaagtacg gcctcaggcc ggagcagtgg      540
gtggacttcc gcgccctcgt gggggacccc tccgacaacc tccccggggt caagggcatc      600
ggggagaaga ccgccctcaa gtcctcaag gagtggggaa gcctggaaaa cctcctcaag      660
aacctggacc gggtaaagcc agaaaacgtc cgggagaaga tcaaggccca cctggaagac      720
ctcaggctct ccttggagct ctcccgggtg cgcaccgacc tccccctgga ggtggacctc      780
gcccaggggc gggagctcga ccgggagagg cttagggcct ttctggagag gcttgagttt      840
ggcggcctcc tccacgagtt cggccttctg gaaagcccca aggcctgga ggaggccccc      900
tgccccccgc cggaaggggc cttegtgggc tttgtgcttt cccgcaagga gcccatgtgg      960
gccgatcttc tggccctggc cgccgccagg ggtggtcggg tccaccgggc ccccgagcct      1020
tataaagccc tcagggactt gaaggaggcg cgggggcttc tcgccaaaga cctgagcgtt      1080
ctggccctaa ggggaaggcct tggcctcccg cccggcgacg accccatgct cctcgectac      1140
ctcctggacc ctccaacac cgcccccgag ggggtggccc ggcgctacgg cggggagtgg      1200
acggaggagg cgggggagcg ggccgccctt tccgagaggc tcttcgcaa cctgtggggg      1260
aggcttgagg gggaggagag gtccttttg gtttaccggg aggtggatag gccccttcc      1320
gctgtcctgg cccacatgga ggccacaggg gtacggctgg acgtggcctg cctgcaggcc      1380
ctttccctgg agcttgcgga ggagatccgc cgctcgagg aggaggtctt ccgcttggcg      1440
ggccaccctt tcaacctcaa ctcccgggac cagctggaaa gggtcctctt tgacgagcta      1500
gggcttcccc ccatcgcaa gacggagaag accggcaagc gctccaccag cgccgccatc      1560
ctggaggccc tccgcgaggc ccaccccatc gtggagaaga tcctgcagta cggggagctc      1620
accaagctga agagcaccta cattgacccc ttgccggacc tcatecacc caggacgggc      1680

```

cgctccaca cccgcttcaa ccagacggcc acggccacgg gcaggctaag tagctccgat 1740
 cccaacctcc agaacatccc cgtccgcacc ccgctcgggc agaggatccg ccgggccttc 1800
 gtcgccgagg aggggtggct attggtggtc ctggactata gccagataga gctcagggtg 1860
 ctggcccacc tctccggcga cgagaacctg acccgggtct tcttgagggg gcgggacatc 1920
 cacacggaaa ccgccagctg gatgttcggc gtccccggg aggccgtgga cccctgatg 1980
 cgccggggcgg ccaagaccat caacttcggg gttctctacg gcatgtcggc ccaccgcctc 2040
 tcccaggagc tggccatccc ttacgaggag gcccaggcct tcatagagcg ctacttccaa 2100
 agcttccccca aggtgcgggc ctggatagaa aagaccctgg aggaggggag gaagcggggc 2160
 tacgtggaaa ccctcttcgg aagaaggcgc tacgtgcccg acctcaacgc ccgggtgaag 2220
 agtgtcaggg aggccgcgga gcgcatggcc ttcaacatgc ccgtccaggg caccgccgcc 2280
 gaccttatga agctcgccat ggtgaagctc tcccccgcc tccgggagat gggggcccgc 2340
 atgctctctc aggtccacga cgagctcctc ctggaggccc cccaagcgcg ggccgaggag 2400
 gtggcggctt tggccaagga ggccatggag aaggcctatc ccctcgccgt acccctggag 2460
 gtgaaggtgg ggatcgggga ggactggctc tccgccaagg agtga 2505

<210> 66
 <211> 834
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 66

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

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg
 130 135 140
 Asp Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu
 145 150 155 160
 Gly His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg
 165 170 175
 Pro Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp
 180 185 190
 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu
 195 200 205
 Leu Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg
 210 215 220
 Val Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp
 225 230 235 240
 Leu Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu
 245 250 255
 Glu Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Leu Asp Arg Glu Arg Leu Arg
 260 265 270
 Ala Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Gly Leu Leu His Glu Phe Gly
 275 280 285
 Leu Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro
 290 295 300
 Glu Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp
 305 310 315 320
 Ala Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg
 325 330 335
 Ala Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly
 340 345 350
 Leu Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly
 355 360 365
 Leu Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro
 370 375 380
 Ser Asn Thr Ala Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp
 385 390 395 400
 Thr Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala
 405 410 415
 Asn Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr
 420 425 430
 Arg Glu Val Asp Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala
 435 440 445
 Thr Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Cys Leu Gln Ala Leu Ser Leu Glu
 450 455 460
 Leu Ala Glu Glu Ile Arg Arg Leu Glu Glu Glu Val Phe Arg Leu Ala
 465 470 475 480
 Gly His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu

				485					490					495			
Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly		
			500					505					510				
Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Ile	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His		
		515					520					525					
Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys		
	530					535					540						
Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly		
545					550					555					560		
Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu		
				565					570					575			
Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu		
			580					585					590				
Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Val	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu		
		595					600					605					
Val	Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu		
	610					615					620						
Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Thr	Arg	Val	Phe	Leu	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile		
625					630					635					640		
His	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val		
				645					650					655			
Asp	Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu		
			660					665					670				
Tyr	Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr		
		675					680					685					
Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys		
	690					695					700						
Val	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly		
705					710					715					720		
Tyr	Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn		
				725					730					735			
Ala	Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn		
			740					745					750				
Met	Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val		
		755					760					765					
Lys	Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln		
	770					775					780						
Val	His	Asp	Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Pro	Gln	Ala	Arg	Ala	Glu	Glu		
785					790					795				800			
Val	Ala	Ala	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Met	Glu	Lys	Ala	Tyr	Pro	Leu	Ala		
				805					810					815			
Val	Pro	Leu	Glu	Val	Lys	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala		
			820					825					830				
Lys	Glu																

ES 2 546 945 T3

<210> 67

<211> 2502

<212> ADN

<213> Artificial

5

<220>

<223> Secuencia clonada

10

<400> 67

```

atggcgatgc ttccctctt tgagcccaag ggcgcgtcc tcctggtgga cggccaccac      60
ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccggtg     120
cagggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag     180
gccgtcttcg tggcttttga cgccaaggcc ccctcattec gccacaaggc ctacgaggcc     240
tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggagctcgc cctcatcaag     300
gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc ccggctacga ggcggacgac     360
gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc     420
gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc     480
cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg     540
gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg     600
gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac     660
ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc     720
aggtctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggagggt ggacctcgcc     780
caggggcggg agcccgaccg ggaggggctt agggccttcc tggagaggct tgagtttggc     840
agcctcctcc acgagttcgg cttcttgaa agcccccaagg ccctggagga ggccccctgg     900
ccccgcccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgcttccc gcaaggagcc catgtgggcc     960
gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcaggtcc accgggcccc cgagccttat    1020
aaagccctca gggacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg    1080
gccctaaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc    1140
ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg    1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg    1260
cttgaggggg aggagaggct ctttggctt taccgggagg tggagaggcc ctttccgct    1320
gtcctggccc acatggaggc cacgggggtg cgctggacg tggcctatct cagggccttg    1380
tcctggagg tggccgagga gatcggccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc    1440
cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaatgg tgctctttga cgagcttagg    1500
cttccgcct tggggaagac gcaaaagacg ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg    1560
gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc    1620

```

aagctgaaga gcacctacat tgacccttg tcggacctca tccaccccag gacgggccgc 1680
ctccacaccc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg cttgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
gccgaggagg ggtggctact ggtggctctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga aaacctgatc agggctcttc aggaggggcg ggacatccac 1920
acggagaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgaggag ccgtggacc cctgatgcgc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgtcggcca ccgcctctcc 2040
caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctttcagagc 2100
ttccccaagg tgcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
gtggagacc tcttcggccg ccgccgctac gtgccagacc tagaggcccg ggtgaagagc 2220
gtcggggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
ctcatgaagc tggctatggt gaagctctc cccaggctgg aggaaacggg ggccaggatg 2340
ctccttcagg tccacgacga gctggtcctt gaggcccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
gcccggctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgtc cctggaggtg 2460
gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 68
<211> 833
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Secuencia clonada

10

<400> 68

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

Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Gly
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Gly Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr
 435 440 445
 Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val
 450 455 460
 Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly

ES 2 546 945 T3

465					470					475					480
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Met	Val	Leu	Phe
				485					490					495	
Asp	Glu	Leu	Arg	Leu	Pro	Ala	Leu	Gly	Lys	Thr	Gln	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505					510		
Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535					540				
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Ser	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly
			580					585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser
	610					615					620				
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His
625					630					635				640	
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp
				645					650					655	
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr
			660					665					670		
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu
		675				680						685			
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val
	690					695					700				
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr
705					710					715				720	
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Glu	Ala
				725					730					735	
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met
			740				745						750		
Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys
		755					760					765			
Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Thr	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val
	770					775					780				
His	Asp	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ala	Val
785					790					795				800	
Ala	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val
				805					810					815	
Ser	Leu	Glu	Val	Glu	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Lys
			820					825					830		

Glu

5 <210> 69
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 69

```

atggcgatgc ttcccctctt tgagcccaag ggccgcgtcc tcctggtgga cggccaccac      60
ctggcctacc gcaccttctt cgecctgaag ggccccaccg cgagccgggg cgaaccggtg     120
caggtggtct acggcttcgc caagagctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag     180
gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc ccctcattcc gccacaaggc ctacgaggcc     240
tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggagctcgc cctcatcaag     300
gagctggtgg acctcctggg gtttaaccgc ctcgaggtcc ccggctacga ggcggacgac     360
gttctcgcgc ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt tcgaggtgcg catcctcccc     420
gccgtccgcg gcctctgccc tctcgtctct gaccgcgtcg ccgtcctcct ccccgagggc     480
cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcagggcggg gcagtgggtg     540
gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtaaa gggcatcggg     600
aagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac     660
ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca agggccacct ggaagacctc     720
aggctctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggaggt ggaacctcgc     780
caggggcggg agcccgaccg ggaggggctt agggccttct tggagaggct tgagtttggc     840
agcctcctcc acgagttcgg cttcttgaa agccccaagg ccctggagga gggccccctg     900
ccccgcggg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc     960
gatcttctgg ccctggccgc cgcaggggt ggtcgggtcc accgggcccc cgagccttat    1020
aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg    1080
gccctaaggg aaggccttgg cctcccggcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc    1140
ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg    1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg    1260
cttgaggggg aggagaggct cctgtggctt taccgggagg tggataggcc cctttccgct    1320
gtcctggccc acatggaggc cacaggggta cggctggacg tggcctgect gcaggccctt    1380
tccttgagc ttgaggagga gatccgccgc ctcgaggagg aggtcttccg cttggcgggc    1440
cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaagg tcctctttga cgagctaggg    1500
    
```

cttcccccca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgct ccaccagcgc cgccatcctg 1560
gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccccag gacggggccg 1680
ctccacaccc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccc ggcccttcac 1800
gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga gaacctgacc cgggtcttcc aggaggggag ggacatccac 1920
acggaaaccg ccagctggat gtccggcgct ccccgggagg ccgtggaccc cctgatgcgc 1980
cgggcggcca agaccatcaa ctccggggtt ctctacggca tgcggccca ccgcctctcc 2040
caggagctgg ccatccctta cgaggaggcc caggccttca tagagcgcta cttccaaagc 2100
ttccccaagg tgcgggcttg gatagaaaag accctggagg aggggaggaa gcggggctac 2160
gtggaaacc tcttcggaag aaggcgctac gtgcccgacc tcaacgcccg ggtgaagagt 2220
gtcagggagg ccgcgagcgc catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgcccgccgac 2280
cttatgaagc tcgcatggt gaagctcttc ccccgctccc gggagatggg ggcccgcgac 2340
ctctccagg tccacgacga gctctctctg gaggcccccc aagcgcgggc cgaggaggtg 2400
gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggaggtg 2460
aaggtgggga tcggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 70
<211> 833
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Secuencia clonada

10

<400> 70

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

Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Pro Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Phe Glu Val Arg Ile Leu Pro Ala Val Arg Gly
 130 135 140
 Leu Cys Pro Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu Leu Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Lys Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Gly Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Asp Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr
 435 440 445
 Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Cys Leu Gln Ala Leu Ser Leu Glu Leu

450				455				460							
Ala 465	Glu	Glu	Ile	Arg	Arg 470	Leu	Glu	Glu	Glu	Val 475	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly 480
His	Pro	Phe	Asn 485	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln 490	Leu	Glu	Arg	Val	Leu 495	Phe
Asp	Glu	Leu	Gly 500	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly 505	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr 510	Gly	Lys
Arg	Ser	Thr 515	Ser	Ala	Ala	Ile	Leu 520	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu 525	Ala	His	Pro
Ile	Val 530	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln 535	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr 540	Lys	Leu	Lys	Ser
Thr 545	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu 550	Pro	Asp	Leu	Ile	His 555	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg 560
Leu	His	Thr	Arg 565	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr 570	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu 575	Ser
Ser	Ser	Asp	Pro 580	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile 585	Pro	Val	Arg	Thr	Pro 590	Leu	Gly
Gln	Arg 595	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile 600	Ala	Glu	Glu	Gly 605	Trp	Leu	Leu	Val
Val 610	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile 615	Glu	Leu	Arg	Val	Leu 620	Ala	His	Leu	Ser
Gly 625	Asp	Glu	Asn	Leu 630	Thr	Arg	Val	Phe	Gln 635	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His 640
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser 645	Trp	Met	Phe	Gly	Val 650	Pro	Arg	Glu	Ala	Val 655	Asp
Pro	Leu	Met	Arg 660	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr 665	Ile	Asn	Phe	Gly	Val 670	Leu	Tyr
Gly	Met	Ser 675	Ala	His	Arg	Leu	Ser 680	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile 685	Pro	Tyr	Glu
Glu	Ala 690	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu 695	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser 700	Phe	Pro	Lys	Val
Arg 705	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys 710	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly 715	Arg	Lys	Arg	Gly	Tyr 720
Val	Glu	Thr	Leu	Phe 725	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr 730	Val	Pro	Asp	Leu	Asn 735	Ala
Arg	Val	Lys	Ser 740	Val	Arg	Glu	Ala	Ala 745	Glu	Arg	Met	Ala	Phe 750	Asn	Met
Pro	Val	Gln 755	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp 760	Leu	Met	Lys	Leu	Ala 765	Met	Val	Lys
Leu 770	Phe	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu 775	Met	Gly	Ala	Arg	Met 780	Leu	Leu	Gln	Val
His 785	Asp	Glu	Leu	Leu 790	Leu	Glu	Ala	Pro	Gln 795	Ala	Arg	Ala	Glu	Glu	Val 800
Ala	Ala	Leu	Ala	Lys 805	Glu	Ala	Met	Glu	Lys 810	Ala	Tyr	Pro	Leu	Ala 815	Val

Pro Leu Glu Val Lys Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 71
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 71

atggcgatgc ttccccctctt tgagcccaaa ggcccgggtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccctcatca cgagccgggg cgaaccgggtg 120
 caggcgggtct acggtttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggcttttga cgccaaggcc ccctccttcc gccacgagge ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcaagctgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc aaggctacga ggcggacgac 360
 gtctctgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaagaagggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccggg acctctacca gctcgtctcc gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaatct cctcaagaac 660
 ctggatcggg taaagccgga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgctg accgacctcc ccctggaggt ggacctcgcc 780
 caggggtcgg agcccgaccg ggaagggtct agggccttcc tggagaggct ggagttcggc 840
 agcctcctcc atgagttcgg ccttctggaa agcccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctcccgcgc ggcgacgacc ccatgctcct cgctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cttttggctt taccgggagg tggataggcc cttttccgct 1320
 gtcttggccc acatggaggc cacaggggtg cgcctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccttggagg tggccgagga gatcgcgccg ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440

cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagttaggg 1500
 cttcccgccca tcggcaagac ggagaggacc ggcaagcgct ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccttg ccggacctca tccaccccag gacggggccgc 1680
 ctccacaccc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcacccccg cttgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggccctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
 acggagaccg ccagctggat gttcgggtgtc cccccggagg ccgtggaccc cctgatgcgc 1980
 cgggcggcca agacggtgaa cttcggcgtc ctctacggca tgtccgcca taggctctcc 2040
 caggagcttt ccatccccta cgaggaggcg gtggccttta tagagcgcta cttccaaagc 2100
 ttccccaaagg tgcgggcctg gatagaaaag accctggagg aggggaggaa gcggggctac 2160
 gtggaaaccc tcttcggaag aaggcgctac gtgcccgacc tcaacgcccg ggtgaagagc 2220
 gtcagggagg ccgcggagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaagc tcgccatggt gaagctcttc ccccgccctc gggagatggg ggcccgcacg 2340
 ctctccagg tccacgacga gctcctcctg gaggcccccc aagcgcgggc cgaggaggtg 2400
 gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggaggtg 2460
 gaggtgggga tcggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 72
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 72

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

Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Gln Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Asp
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Gly Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Asp Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr

			435					440						445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val		
	450					455					460						
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly		
465					470					475					480		
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe		
			485						490					495			
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Arg	Thr	Gly	Lys		
			500					505					510				
Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro		
		515					520					525					
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser		
	530					535					540						
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg		
545					550					555					560		
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser		
				565					570					575			
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly		
			580					585					590				
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val		
		595					600					605					
Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser		
	610					615					620						
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His		
625					630					635				640			
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Pro	Glu	Ala	Val	Asp		
				645					650					655			
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Val	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr		
			660					665					670				
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ser	Ile	Pro	Tyr	Glu		
		675					680					685					
Glu	Ala	Val	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val		
	690					695					700						
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly	Tyr		
705					710					715				720			
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn	Ala		
				725					730					735			
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met		
			740					745					750				
Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys		
		755					760					765					
Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val		
	770					775					780						
His	Asp	Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Pro	Gln	Ala	Arg	Ala	Glu	Glu	Val		
785					790					795					800		

Ala Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815

Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 73
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 73

atggcgatgc ttccccctctt tgagcccaag ggccgcgtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 caggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cctcattcc gccacaaggc ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcagetcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc ccggtacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg cctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccgggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg cctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggcccacct ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggaggt ggacctcgcc 780
 caggggcggg agcccgacc ggagaggctt agggccttc tggagaggct tgagtttggc 840
 ggcctcctcc acgagttcgg ccttctggaa agcccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgcttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccttggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctgaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc cctttccggt 1320

gtcctggccc acatggaggc cacaggggtg cgcttgacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccctggagg tggccgagga gatcgcccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
 ctcccccca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccggcgc cggcgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca cccaccgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
 ctccacacc gtttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgacccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggctctg gactatagcc agatagagct caggggtctg 1860
 gcccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
 acggaaaccc ccagctggat gttcggcgtc ccccgaggagg ccgtggaccc cctaattgcg 1980
 cgggcggcca agaccatcaa ctccgggggt ctctacggca tgcggccca ccgctctcc 2040
 caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta cattcagagc 2100
 ttccccaaagg tgcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagacc tcttcggccg ccgtcgtac gtgccagacc tagaggcccg ggtgaagagc 2220
 gtgcgggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaagc tggctatggt gaagctctc cccaggctgg aagaaacggg ggccaggatg 2340
 ctcttcagg tccacgacga gctggtctc gaggcccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
 gcccggtg ccaaggaggc catggagggg gtgtatccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
 gagggtgggga taggggagga ctggctctcc gcccaaggagt ga 2502

<210> 74
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 74

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

Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Lys Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Arg Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Gly
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Gly Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg

			420					425				430			
Glu	Val	Glu	Arg	Pro	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr
		435					440					445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val
	450					455					460				
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly
465					470					475					480
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe
			485						490					495	
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505					510		
Arg	Ser	Thr	Gly	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Thr	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535					540				
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly
			580					585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser
	610					615					620				
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His
625					630					635					640
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp
				645					650					655	
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr
			660					665					670		
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu
		675					680					685			
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Ile	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val
	690					695					700				
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr
705					710					715					720
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Glu	Ala
				725					730					735	
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met
			740					745					750		
Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys
		755					760					765			
Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Thr	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val
	770					775					780				

His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 75
 <211> 2505
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 75

atgcgtggta tgcttctct tttgagccc aagggccgcg tcctcctggt ggacggccac 60
 cacctggcct accgcacct ctctgccctg aagggcccca ccacgagccg gggcgaaccg 120
 gtgcagggcg tctacggctt cgccaagagc ctctcaagg ccctgaagga ggacgggtac 180
 aagggccct tcgtggtctt tgacgccaag gccccctct tccgccacga ggcctacgag 240
 gcctacaagg cggggagggc cccgaccccc gaggacttcc cccggcagct cgcctcacc 300
 aaggagctgg tggacctct ggggtttacc cgctcgagg tccttggtta cgaggcggac 360
 gacgtcctcg ccacctggc caagaaggcg gaaaaggagg ggtacgaggt gcgcatcctc 420
 accgccgacc ggcaccteta ccaactcgtc tccgaccgcg tcgccgtcct ccaccccag 480
 ggccacctca tcaccccgga gtggctttgg gagaagtacg gcctcaggcc ggagcagtgg 540
 gtggacttcc ggcacctcgt gggggacccc tccgacaacc tccccggggt caagggcatc 600
 ggggagaaga ccgccctcaa gctcctcaag gagtggggaa gcctggaaaa cctcctcaag 660
 aacctggacc gggtaaagcc agaaaacgtc cgggagaaga tcaaggcca cctggaagac 720
 ctgagctct ccttgagct ctcccgggtg cgcaccgacc tccccctgga ggtggacctc 780
 gccagggggc gggagcccga ccgggagagg cttagggcct ttctggagag gcttgagttt 840
 ggcggcctcc tccacgagtt cggccttctg gaaagcccca aggcctgga ggaggcccc 900
 tggccccgc cgaaggggc ctctgtggc tttgtgcttt cccgcaagga gcccatgtgg 960
 gccgatcttc tggccctggc cgcggccagg ggtggtcggg tccaccgggc ccccgagcct 1020
 tataaagccc tcagggactt gaaggaggcg cgggggcttc tcgccaaga cctgagcgtt 1080
 ctggccctaa ggaagggcct tggcctccc cccggcgacg accccatgct cctcgcctac 1140
 ctctggacc cttccaacac ccccccgag ggggtggccc ggcgctacgg cggggagtg 1200
 acggaggagg cgggggagcg ggccgccctt tccgagaggc tcttcgcca cctgtggggg 1260

aggcttgagg gggaggagag gctcctttgg ctttaccggg aggtggatag gcccctttcc 1320
 gctgtcctgg cccacatgga ggccacaggg gtacggctgg acgtggcctg cctgcaggcc 1380
 ctttccctgg agcttgcgga ggagatccgc cgcctcgagg aggaggtcct ccgcttgggc 1440
 ggccaccct tcaacctcaa ctcccgggac cagctggaaa gggtcctctt tgacgagcta 1500
 gggcttcccg ccatcggcaa gacggagaag accggcaagc gctccaccag cgccgccatc 1560
 ctggaggccc tccgcgaggc ccaccccatc gtggagaaga tcctgcagta ccgggagctc 1620
 accaagctga agagcaccta cattgacccc ttgccggacc tcatccacc caggacgggc 1680
 cgcctccaca cccgcttcaa ccagacggcc acggccacgg gcaggctaag tagctccgat 1740
 cccaacctcc agaacatccc cgtccgcacc ccgctcgggc agaggatccg ccgggccttc 1800
 atcgcgagg aggggtggct attggtggc ctggactata gccagataga gctcagggtg 1860
 ctggcccacc tctccggcga cgagaacctg acccgggtct tccaggaggg gcgggacatc 1920
 cacacggaaa ccgccagctg gatgttcggc gtccccggg aggccgtgga ccccctgatg 1980
 cgccgggagg ccaagaccat caacttcggg gttctctacg gcatgtcggc ccaccgcctc 2040
 tcccaggagc tggccatccc ttacgaggag gcccaggcct tcatagagcg ctacttccaa 2100
 agcttcccca aggtgcgggc ctggatagaa aagaccctgg aggaggggag gaagcggggc 2160
 tacgtgaaa cctcttcgg aagaaggcgc tacgtgcccg acctcaacgc ccgggtgaag 2220
 agtgtcaggg aggccgcgga gcgcatggcc ttcaacatgc ccgtccaggg caccgccgcc 2280
 gaccttatga agctcgccat ggtgaagctc ttccccgcc tccgggagat gggggccccg 2340
 atgtcctcc aggtccacga cgagctcctc ctggaggccc cccaagcgcg ggccgaggag 2400
 gtggcggctt tggccaagga ggccatggag aaggcctatc ccctcgccgt acccctggag 2460
 gtgaaggtgg ggatcgggga ggactggctc tccgccaagg agtga 2505

<210> 76
 <211> 834
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 76

Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu
 1 5 10 15
 Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly
 20 25 30
 Pro Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe Ala
 35 40 45

Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Ala Phe
 50 55 60
 Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Glu
 65 70 75 80
 Ala Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln
 85 90 95
 Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu
 100 105 110
 Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys
 115 120 125
 Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg
 130 135 140
 Asp Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu
 145 150 155 160
 Gly His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg
 165 170 175
 Pro Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp
 180 185 190
 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu
 195 200 205
 Leu Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg
 210 215 220
 Val Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp
 225 230 235 240
 Leu Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu
 245 250 255
 Glu Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg
 260 265 270
 Ala Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Gly Leu Leu His Glu Phe Gly
 275 280 285
 Leu Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro
 290 295 300
 Glu Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp
 305 310 315 320
 Ala Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg
 325 330 335
 Ala Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly
 340 345 350
 Leu Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly
 355 360 365
 Leu Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro
 370 375 380
 Ser Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp
 385 390 395 400
 Thr Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala

				405					410					415	
Asn	Leu	Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr
			420					425					430		
Arg	Glu	Val	Asp	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala
		435					440					445			
Thr	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Cys	Leu	Gln	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu
	450					455					460				
Leu	Ala	Glu	Glu	Ile	Arg	Arg	Leu	Glu	Glu	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala
465					470					475					480
Gly	His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu
				485					490					495	
Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly
			500					505					510		
Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Ile	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His
		515					520					525			
Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys
	530					535					540				
Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly
545					550					555					560
Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu
				565					570					575	
Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu
			580					585					590		
Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu
		595					600					605			
Val	Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu
	610					615					620				
Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Thr	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile
625					630					635					640
His	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val
				645					650					655	
Asp	Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu
			660					665					670		
Tyr	Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr
		675					680					685			
Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys
	690					695					700				
Val	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly
705					710					715					720
Tyr	Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn
				725					730					735	
Ala	Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn
			740				745						750		
Met	Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val
		755					760						765		

Lys Leu Phe Pro Arg Leu Arg Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln
 770 775 780
 Val His Asp Glu Leu Leu Leu Glu Ala Pro Gln Ala Arg Ala Glu Glu
 785 790 795 800
 Val Ala Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala
 805 810 815
 Val Pro Leu Glu Val Lys Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala
 820 825 830
 Lys Glu

<210> 77
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 77

atggcgatgc ttcccccttt tgagcccaag ggccgtgtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 cagggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cccccattcc gccacaaggc ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggctc ccggctacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg cctcctgagg ggacccctcc gacaacctcc cgggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagatctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggagggt ggacctcgcc 780
 caggggcggg agcccgaccg ggaggggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctcctcc acgagttcgg ccttctggaa agccccaaag ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgagtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaaggg aaggccttgg cctcccggcc ggcgacgacc ccatgctctt cgcctacctc 1140

ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
gaggagggcg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc cctttccgct 1320
gtcctggccc acatggaggc cacgggggtg cgctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
tccctggagg tggccgagga gatcgccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaatgg tgctctttga cgagcttagg 1500
cttcccgcct tggggaagac gcaaaagacg ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg tcggacctca tccaccccag gacgggcccg 1680
ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg cttgggcaga ggatccgccg ggcccttcatc 1800
gccgaggagg ggtggctact ggtggcctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga aaacctgatc aggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
acggagaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacc cctgatgcgc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgcggccca ccgcctctcc 2040
caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctttcagagc 2100
ttccccaagg tgcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
gtggagacc tcttcggccg ccgcccctac gtgccagacc tagaggcccg ggtgaagagc 2220
gtgcccggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc cccaggctgg aggaaatggg ggccaggatg 2340
ctccttcagg tccacgacga gctggcctc gagggcccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
gcccggctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggaggtg 2460
gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 78
<211> 833
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia clonada

<400> 78

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
1 5 10 15
Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly Pro
20 25 30

Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Val Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Pro Phe Arg His Lys Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Arg Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Gly
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Gly Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr

385					390					395					400
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn
				405					410					415	
Leu	Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg
			420				425						430		
Glu	Val	Glu	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr
		435					440					445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val
	450					455					460				
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly
465					470					475					480
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Met	Val	Leu	Phe
				485					490					495	
Asp	Glu	Leu	Arg	Leu	Pro	Ala	Leu	Gly	Lys	Thr	Gln	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505					510		
Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535					540				
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Ser	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly
			580					585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser
	610					615					620				
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His
625					630					635					640
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp
				645					650					655	
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr
			660					665					670		
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu
		675					680					685			
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val
	690					695					700				
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr
705					710					715					720
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Glu	Ala
				725					730					735	
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met
			740				745						750		

Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
 785 790 795 800
 Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 79
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 79

atggcgatgc ttccccctctt tgagcccaaa ggccgggtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccctacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 cagggtgtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cctcattcc gccacaaggc ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccag gacttcccc ggcagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc ccggctacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctcc gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg cctcgtggg ggaccctcc gacaacctcc ccgggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg cctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc ccctggaggt ggacctcgcc 780
 caggggcggg agcccgaccg ggaggggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctcctcc acgagttcgg ctttctggaa agccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgagtcc accaggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaagacct gagcgttctg 1080

ES 2 546 945 T3

gccctaaggg aaggccttgg cctccccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggetct tcgccaacct gtggggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc cctttccgct 1320
 gtcctggccc acatggagac cacgggggtg cgcttggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccctggagg tggccgagga gatcgcgccg ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cgccccctca acctcaactc ccgagaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
 cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccttg ccggacctca tccaccccag gacgggccgc 1680
 ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcacccccg cttgggcaga ggatccgccg ggcttctatc 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatggagct cagggtgctg 1860
 gcccacctct ccggcgacga gaacctgatc aggtcttcc aggaggggaa ggacatccac 1920
 acccagaccg caagctggat gttcgggtgc cccccggagg ccgtggacc cctgatgcgc 1980
 cgggcgggcca agacggtgaa cttcggcgtc ctctacggca tgtccgcca taggctctcc 2040
 caggagcttt ccatcccccta cgaggaggcg gtggccttca tagagcgcta cttccaaagc 2100
 ttccccaagg tcggggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
 gtggagacc tcttcggccg ccgccgctac gtgcccgacc tcaacgcccg gatgaagagc 2220
 gtcagggggg ccgaggagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaagc tcgcatggt gaagctcttc cccgcctcc gggagatggg ggcccgcag 2340
 ctctccagg tccacgacga gctcctcctg gagggcccc aagcgcgggc cgaggagggtg 2400
 gcggcttttg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggagggtg 2460
 gaggtgggga tcggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 80
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 80

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15

Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly Leu
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Val Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Lys Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Arg Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Gln Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Gly
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Gly Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Gln Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser

	370					375									380			
Asn 385	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly 390	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr 395	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr 400			
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu 405	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser 410	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala 415	Asn			
Leu	Trp	Gly	Arg 420	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu 425	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr 430	Arg			
Glu	Val	Glu 435	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala 440	Val	Leu	Ala	His	Met 445	Glu	Thr	Thr			
Gly	Val 450	Arg	Leu	Asp	Val	Ala 455	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu 460	Ser	Leu	Glu	Val			
Ala 465	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg 470	Leu	Glu	Ala	Glu	Val 475	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly 480			
Arg	Pro	Phe	Asn 485	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln 490	Leu	Glu	Arg	Val	Leu 495	Phe			
Asp	Glu	Leu	Gly 500	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly 505	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr 510	Gly	Lys			
Arg	Ser	Thr 515	Ser	Ala	Ala	Val	Leu 520	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu 525	Ala	His	Pro			
Ile	Val 530	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln 535	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr 540	Lys	Leu	Lys	Ser			
Thr 545	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu 550	Pro	Asp	Leu	Ile	His 555	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg 560			
Leu	His	Thr	Arg	Phe 565	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr 570	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu 575	Ser			
Ser	Ser	Asp	Pro 580	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile 585	Pro	Val	Arg	Thr	Pro 590	Leu	Gly			
Gln	Arg	Ile 595	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile 600	Ala	Glu	Glu	Gly 605	Trp	Leu	Leu	Val			
Val 610	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Met 615	Glu	Leu	Arg	Val	Leu 620	Ala	His	Leu	Ser			
Gly 625	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile 630	Arg	Val	Phe	Gln	Glu 635	Gly	Lys	Asp	Ile	His 640			
Thr	Gln	Thr	Ala	Ser 645	Trp	Met	Phe	Gly	Val 650	Pro	Pro	Glu	Ala	Val 655	Asp			
Pro	Leu	Met	Arg 660	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr 665	Val	Asn	Phe	Gly	Val 670	Leu	Tyr			
Gly	Met	Ser 675	Ala	His	Arg	Leu	Ser 680	Gln	Glu	Leu	Ser	Ile 685	Pro	Tyr	Glu			
Glu	Ala 690	Val	Ala	Phe	Ile	Glu 695	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser 700	Phe	Pro	Lys	Val			
Arg 705	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys 710	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly 715	Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr 720			
Val	Glu	Thr	Leu	Phe 725	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr 730	Val	Pro	Asp	Leu	Asn 735	Ala			

Arg Met Lys Ser Val Arg Gly Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Arg Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Leu Leu Glu Ala Pro Gln Ala Arg Ala Glu Glu Val
 785 790 795 800
 Ala Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 81
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 81

atggcgatgc ttccccctctt tgagcccaag ggccgtgtcc tcttgggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcacctcctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccgggtg 120
 cagggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cccccattcc gccacaaggc ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcagctcgc cctcgtcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc ccggctacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg ccctcgtggg ggaccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggcccacct ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc ccctggaggt ggacctcgcc 780
 caggggcggg agcccgaccg ggaaaggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctcctcc atgagttcgg cttctggaa agccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggcgc catgtgggcc 960

gatcttctg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtct accgggcccc cgagccttat 1020
aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
gccctaaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctctt cgccctacctc 1140
ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggataggcc cctttccgct 1320
gtcctggccc acatggaggc cacaggggta cggctggacg tggcctgcct gcaggccctt 1380
tccctggagc ttgcggagga gatccgccgc ctcgaggagg aggtcttccg cttggcgggc 1440
cacacctca acctcaactc ccgggaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
cttcccgcc tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgcct ccaccagcgc cgccatcctg 1560
gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg cttgggcaga ggatccgccg ggcccttcatc 1800
gccgaggagg ggtggctact ggtggctctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
gctcacctct ccggcgacga aaacctgatc agggcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
acggagaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacct cctgatgcgc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgtcggccca ccgcctctcc 2040
caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgtta ctttcagagc 2100
ttccccaaag tgcgggcctg gattgagaag gccctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
gtggagacct tcttcggaag aaggcgtac gtgcccgacc tcaacgcccg ggtgaagagt 2220
gtcagggagg ccgaggagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
cttatgaagc tcgccatggt gaagctctc ccccgcctcc gggagatggg ggcccgcagc 2340
ctcctccagg tccacgacga gctcctcctg gaggcccccc aagcgcgggc cgaggagggtg 2400
gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggagggtg 2460
aaggtgggga tcggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 82
<211> 833
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Secuencia clonada

10

<400> 82

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Ser Phe Ala Leu Lys Gly Pro
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Val Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Pro Phe Arg His Lys Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Arg Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Val Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Gly
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Ala Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val Tyr Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu

			355					360					365		
Pro	Pro	Gly	Asp	Asp	Pro	Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser
	370					375					380				
Asn	Thr	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr
385					390					395					400
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn
				405					410					415	
Leu	Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg
			420					425						430	
Glu	Val	Asp	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr
		435					440					445			
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Cys	Leu	Gln	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu
	450					455					460				
Ala	Glu	Glu	Ile	Arg	Arg	Leu	Glu	Glu	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly
465					470					475					480
His	Thr	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe
			485						490					495	
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys
			500					505						510	
Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Ile	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro
		515					520					525			
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser
	530					535						540			
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser
				565					570					575	
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly
		580						585					590		
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val
		595					600					605			
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser
	610					615					620				
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His
625					630					635					640
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp
				645					650					655	
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr
			660					665					670		
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu
		675					680					685			
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val
	690					695					700				
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Ala	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr
705					710					715					720

Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Asn Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Arg Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Leu Leu Glu Ala Pro Gln Ala Arg Ala Glu Glu Val
 785 790 795 800
 Ala Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Lys Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 83
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 83

atggcgatgc ttccctctt tgagcccaag ggccgcgtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcgccttctt cgccctgaag ggcctcacca cgagccgggg cgaaccgggtg 120
 caggcggtct acggttcgc caagagctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctttga cgccaaggcc cctccttcc gccacgaggc ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggcagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc aaggctacga ggcggacgac 360
 gtcctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaagaagggt acgaggtgcg cctcctcacc 420
 gccgaccggg acctctacca gctcgtctcc gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc aacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggcctctct tggagctctc ccgggtgctc accgaacctc ccctggaggt ggacctcgcc 780
 caggggcggg agctcgaccg ggagaggctt agggccttcc tggagaggct tgagtttggc 840
 ggccctctcc acgagttcgg ccttctggaa agcccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900

cccccgccg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttcttg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaagacct gagcgttctg 1080
 gccctaagg aaggccttgg cctcccgccc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccgc ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggataggcc cctttccgct 1320
 gtcctggccc acatggaggc cacaggggta cggctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccttgagg tggccgagga gatcgcgcgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgagaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
 cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgtc ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccttg ccgaacctca tccatccag gacgggcccgc 1680
 ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggagggcg ggacatccac 1920
 acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgaggagg ccgtggacc cctgatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcgggggt ctctacggca tgcggccca ccgcctctcc 2040
 caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctttcagagc 2100
 ttccccaagg tgcgggctg gatagaaaag accctggagg aggggaggaa gcggggctac 2160
 gtggaaacc tcttcggaag aaggcgtac gtgcccgacc tcaacgccg ggtgaagggc 2220
 gtcagggagg ccgaggagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 ctcatgaag tcgcatggt gaagctcttc cccgcctcc gggagatggg ggcccgcacg 2340
 ctctccagg tccacgacga gctcctcctg gaggcccccc aagcgcgggc cggggagggtg 2400
 gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgcccgtacc cctggagggtg 2460
 aagggtggga tcggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 84
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 84

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Ala Phe Phe Ala Leu Lys Gly Leu
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Gln Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Asp
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asn Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Leu Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Gly Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu

			340					345					350			
Leu	Ala	Lys	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gly	Leu	
		355					360					365				
Pro	Pro	Gly	Asp	Asp	Pro	Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser	
	370					375					380					
Asn	Thr	Ala	Pro	Glu	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr	
385					390					395					400	
Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn	
				405					410					415		
Leu	Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg	
			420					425						430		
Glu	Val	Asp	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr	
		435					440					445				
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val	
	450					455					460					
Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	
465					470					475					480	
His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe	
			485						490					495		
Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	
			500					505						510		
Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro	
		515					520					525				
Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	
	530					535					540					
Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asn	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	
545					550					555					560	
Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	
				565					570					575		
Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	
			580					585					590			
Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	
		595					600					605				
Val	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser	
	610					615					620					
Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His	
625					630					635					640	
Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp	
				645					650					655		
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	
			660					665					670			
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	
		675					680					685				
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val	
	690					695					700					

Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Lys Arg Gly Tyr
 705 710 715 720
 Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Asn Ala
 725 730 735
 Arg Val Lys Gly Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
 Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
 Leu Phe Pro Arg Leu Arg Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
 His Asp Glu Leu Leu Leu Glu Ala Pro Gln Ala Arg Ala Gly Glu Val
 785 790 795 800
 Ala Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
 Pro Leu Glu Val Lys Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Glu

<210> 85
 <211> 2499
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 85

atggcgatgc ttccctctt tgagcccaaa ggccgggtcc tcttgggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccctacca cgagccgggg cgaaccgggtg 120
 caggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc ccttccctcc gccacgagge ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttctctc ggcagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgac ctcgaggtcc aaggctacga ggcggacgac 360
 gtcctcgcca ccttggccaa gaaggcggaa aaagaagggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccggg acctctacca gctcgtctcc gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgcg cctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccgggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg cctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggc tgaagccgac catccgggag aagatcctgg ccacatgga cgatctgaag 720
 ctctcctggg acctggccaa ggtgcgcacc gacctgcccc tagaggtgga cttcgccaaa 780

aggcgggagc ccgaccggga gaggcttagg gcctttctgg agaggcttga gcttggcagc 840
 ctectccacg agttcggcct tctggaaagc cccaagaccc tggaggaggc ctcttggccc 900
 ccgccggaag gggccttcgt gggctttgtg ctttcccgca aggagcccat gtgggccgat 960
 cttctggccc tggccgccgc cagggggggc cgggtccacc gggcccccga gccttataaa 1020
 gccctcaggg acctgaagga ggcgcggggg cttctcgcca aagacctgag cgttctggcc 1080
 ctaaggggaag gccttggcct cccgcccggc gacgacccca tgctcctcgc ctacctcctg 1140
 gacccttcca acaccacccc cgaggggggtg gcccggcgct acggcgggga gtggacgaag 1200
 gaggcggggg agcgggccgc ctttccgag aggtcttcg ccaacctgtg ggggaggctt 1260
 gagggggagg agaggctcct ttggctttac cgggagggtg ataggccctt ttcctgtgc 1320
 ctggcccaca tggaggccac aggggtgcmc ttggacgtgg cctatctcag ggcttgtcc 1380
 ctggagggtg ccgaggagat cgcccgcctc gaggccgagg tcttccgctt ggccggccat 1440
 cccttcaacc tcaactcccg ggaccagctg gaaagggctc tctttgacga gctagggctt 1500
 cccgccatcg gcaagacgga gaagaccggc aagcgtcca ccagcgcccgc cgtcctggag 1560
 gccctccgcg agggccaccc catcgtggag aagatcctgc agtaccggga gctaccaag 1620
 ctgaagagca cctacattga ccccttgcg gacctcatcc accccaggac gggccgcctc 1680
 cacaccgct tcaaccagac ggccacggcc acgggcaggc taagtagctc cgatcccaac 1740
 ctccagaaca tccccgtccg cccccgctc gggcagagga tccgccgggc cttcgtcgcc 1800
 gaggaggggt ggctattggt ggtcctggac tatagccaga tagagctcag ggtgctggcc 1860
 cacctctccg gcgacgagaa cctgaccgag gtcttcttgg aggggcggga catccacacg 1920
 gaaaccgcca gctggatggt cggcgtcccc cgggaggccg tggacccctt gatgcgccgg 1980
 gcggccaaga ccatcaactt cggggttctc tacggcatgt cggcccaccg cctctcccag 2040
 gagctggcca tcccttacga ggaggcccag gccttcatag agcgtactt ccaaagcttc 2100
 cccaaggtgc gggcctggat agaaaagacc ctggaggagg ggaggaagcg gggctacgtg 2160
 gaaaccctct tcggaagaag gcgctacgtg cccgacctca acgcccgggt gaagagtgtc 2220
 agggaggccg cggagcgcag ggccttcaac atgcccgtcc agggcaccgc cgccgacctt 2280
 atgaagctcg ccatggtgaa gctcttcccc cgctccggg agatgggggc ccgcatgctc 2340
 ctccaggtcc acgacgagct cctcctggag gccccccaag cgcgggccga ggaggtggcg 2400
 gctttggcca aggaggccat ggagaaggcc tatcccctcg ccgtaccctt ggaggtgaag 2460
 gaggggatcg gggaggactg gctctccgcc aaggagtga 2499

<210> 86
 <211> 832
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 86

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly Leu
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Val Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Leu Arg His Glu Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Leu Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Gln Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Asp
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Leu
 210 215 220
 Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu Lys
 225 230 235 240
 Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu Val
 245 250 255
 Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala Phe
 260 265 270
 Leu Glu Arg Leu Glu Leu Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu Leu
 275 280 285
 Glu Ser Pro Lys Thr Leu Glu Glu Ala Ser Trp Pro Pro Pro Glu Gly
 290 295 300
 Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala Asp
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala Pro

				325						330				335			
Glu	Pro	Tyr	Lys	Ala	Leu	Arg	Asp	Leu	Lys	Glu	Ala	Arg	Gly	Leu	Leu		
			340					345					350				
Ala	Lys	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gly	Leu	Pro		
		355					360					365					
Pro	Gly	Asp	Asp	Pro	Met	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser	Asn		
	370					375					380						
Thr	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Gly	Gly	Glu	Trp	Thr	Lys		
385					390					395					400		
Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Phe	Ala	Asn	Leu		
				405					410					415			
Trp	Gly	Arg	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg	Glu		
			420					425					430				
Val	Asp	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr	Gly		
		435					440					445					
Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val	Ala		
	450					455					460						
Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	His		
465					470					475					480		
Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe	Asp		
				485				490						495			
Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg		
			500					505					510				
Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro	Ile		
		515					520					525					
Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	Thr		
	530					535					540						
Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	Leu		
545					550					555					560		
His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	Ser		
				565					570					575			
Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	Gln		
			580					585					590				
Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Val	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Val		
		595					600					605					
Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser	Gly		
	610					615					620						
Asp	Glu	Asn	Leu	Thr	Arg	Val	Phe	Leu	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His	Thr		
625					630					635					640		
Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp	Pro		
			645						650					655			
Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly		
			660					665					670				
Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	Glu		
		675					680					685					

Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg
 690 695 700
 Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Lys Arg Gly Tyr Val
 705 710 715
 Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Asn Ala Arg
 725 730 735
 Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro
 740 745 750
 Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu
 755 760 765
 Phe Pro Arg Leu Arg Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His
 770 775 780
 Asp Glu Leu Leu Leu Glu Ala Pro Gln Ala Arg Ala Glu Glu Val Ala
 785 790 795 800
 Ala Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Lys Ala Tyr Pro Leu Ala Val Pro
 805 810 815
 Leu Glu Val Lys Glu Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu
 820 825 830

<210> 87
 <211> 2550
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 87

atggcgatgc ttcccctctt tgagcccaag ggccgcgtec tcttgggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggccccacca cgagccgggg cgaaccgggtg 120
 caggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaagagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggctcttga cgccaaggcc cctcattcc gccacaagge ctacgaggcc 240
 tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgc ctcgaggtcc cggctacga ggcggacgac 360
 gttctcgcca ccttgccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc 420
 gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgctc ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtggggtg 540
 gacttccgcg cctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg cctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
 aggtctctct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc cctggaggt ggacctcgcc 780

ES 2 546 945 T3

caggggcggg agcccgaccg ggagaggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
 ggccctctcc acgagttcgg cttcttgaa agcccgaagg ccctggagga ggccccctgg 900
 cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
 gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accgggcccc tgagccttat 1020
 aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
 gccctgaggg aaggccttgg cctcccggcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
 ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtgagacg 1200
 gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggaggg 1260
 cttgaggggg aggagaggct cttttggctt taccgggagg tggagagacc cttttccgct 1320
 gtcctggccc acatggaggc cacgggggtg cgcctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
 tccctggagg tggccgagga gatcgcccgc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
 cacccttca acctcaactc ccgagaccag ctggaagggt tctctttga cgagctaggg 1500
 ctcccggcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgtc ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
 gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
 aagctgaaga gcacctacat tgacccttg ccggaccaca tccaccccag gacgggccgc 1680
 ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
 aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
 gccgaggagg ggtggctatt ggtggctctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
 gccacctct ccggcgacga gaacctgacc cgggtcttcc aggagggggc ggacatccac 1920
 acggaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacc cctgatgcgc 1980
 cgggcggcca agaccatcaa cttcgggggt ctctacggca tgtcggcca ccgcctctcc 2040
 caggagctgg ccatccctta cgaggaggcc caggccttca tagagcgta cttccaaagc 2100
 ttcccgaagg tgccggcctg gatagaaaag accctggagg aggggaggaa gcggggctac 2160
 gtggaacc tcttcggaag aaggcgtac gtgcccgacc tcaacgccc ggtgaagagt 2220
 gtcagggagg ccgaggagcg catggccttc aacatgcccg tccagggcac cgccgccgac 2280
 cttatgaagc tcgccatggt gaagctctac ccccgcctcc gggagatggg ggccccgatg 2340
 ctctccagg tccacgacga gctcctcctg gaggcccccc aagcgcgggc cgaggagggtg 2400
 gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggagggtg 2460
 aaggtgggga tcggggagga ctggctctcc gcccaaggag tgagtcgacc tgcaggcagc 2520
 gcttggcgtc acccgcagtt cggtggttaa 2550

<210> 88
 <211> 849
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 88

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly Pro
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Val Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Lys Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Arg Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Gly
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Leu Ala Gln Gly Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Gly Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320

Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr
 435 440 445
 Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val
 450 455 460
 Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly
 465 470 475 480
 His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe
 485 490 495
 Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys
 500 505 510
 Arg Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro
 515 520 525
 Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser
 530 535 540
 Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp His Ile His Pro Arg Thr Gly Arg
 545 550 555 560
 Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser
 565 570 575
 Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Thr Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu

	675		680		685														
	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val			
	690						695					700							
	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly	Tyr			
	705					710					715					720			
	Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn	Ala			
					725					730					735				
	Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met			
				740					745					750					
	Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys			
			755					760					765						
	Leu	Tyr	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val			
		770					775					780							
	His	Asp	Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Pro	Gln	Ala	Arg	Ala	Glu	Glu	Val			
	785					790					795					800			
	Ala	Ala	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Met	Glu	Lys	Ala	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val			
					805					810					815				
	Pro	Leu	Glu	Val	Lys	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Gln			
				820					825					830					
	Gly	Val	Ser	Arg	Pro	Ala	Gly	Ser	Ala	Trp	Arg	His	Pro	Gln	Phe	Gly			
		835						840					845						

Gly

<210> 89
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 89

```

atggcgatgc ttccctctt tgagcccaag ggccgcgtcc tctggtgga cggccaccac      60
ctggcctacc gcaccttctt cgcctgaag gccccacca cgagccgggg cgaaccggtg      120
caggtggtct acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag      180
gccgtcttcg tggcttttga cgccaaggcc cctcattcc gccacaaggc ctacgaggcc      240
tacagggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc ggagctcgc cctcatcaag      300
gagctggtgg acctcctggg gttaccgc ctcgaggtcc cgggctacga ggcggacgac      360
gttctcgcca ccctggccaa gaaggcggaa aaggaggggt acgaggtgcg catcctcacc      420
gccgaccgcg gcctctacca actcgtctct gaccgcgtcg cgtcctcca ccccgagggc      480
cacctcatca ccccgagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggta      540
    
```

ES 2 546 945 T3

gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccggggtcaa gggcatcggg 600
gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca aggccacct ggaagacctc 720
aggctctcct tggagctctc ccgggtgcgc accgacctcc ccctggagggt ggacctcgcc 780
caggggcggg agcccgaccg ggaggggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
agcctcctcc acgagttcgg cttctggaa agccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttcac gcaaggagcc catgtgggcc 960
gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
gccctaaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgctacctc 1140
ctggaccctt ccaacaccgc ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
cttgaggggg aggagaggct ctttggctt taccgggagg tggataggcc cttttccgct 1320
gtcctggccc acatggaggc cacaggggta cggctggacg tggcctgcct gcaggccctt 1380
tccctggagc ttgcggagga gatccgccgc ctcgaggagg aggtcttccg cttggcgggc 1440
cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaagggt tcctctttga cgagctaggg 1500
cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgt ccaccagcgc cgccatectg 1560
gaggccctcc gcgaggccca cccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgacccttg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
ctccacaccc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccggtccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccg ggccttcgtc 1800
gccgaggagg ggtggctatt ggtggtcctg gactatagcc agatagagct cagggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga gaacctgacc cgggtcttcc tggaggggcg ggacatccac 1920
acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacct cctgatgcgc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtt ctctacggca tgcggccca ccgcctctcc 2040
caggagctgg ccatccctta cgaggaggcc caggccttca tagagcgtta cttccaaagc 2100
ttccccaagg tgcgggcctg gatagaaaag accctggagg aggggaggaa gcggggctac 2160
gtggaaaccc tcttcggaag aaggcgtac gtgcccgacc tcaacgcccg ggtgaagagt 2220
gtcagggagg ccgcgagcg catggcctc aacatgcccg tccagggcac cgccgcccac 2280
cttatgaagc tcgccatggt gaagctctc ccccgcctcc gggagatggg ggcccgcctg 2340
ctcctccagg tccacgacga gctcctctg gagggcccc aagcgcgggc cgaggaagtg 2400
gcggctttgg ccaaggaggc catggagaag gcctatcccc tcgccgtacc cctggagggtg 2460
aagggtggga tcggggagga ctggctctcc gccaaaggagt ga 2502

<210> 90
<211> 833
<212> PRT
<213> Artificial

ES 2 546 945 T3

<220>

<223> Secuencia clonada

<400> 90

5

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

Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Ala Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Asp Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr
 435 440 445
 Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Cys Leu Gln Ala Leu Ser Leu Glu Leu
 450 455 460
 Ala Glu Glu Ile Arg Arg Leu Glu Glu Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly
 465 470 475 480
 His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe
 485 490 495
 Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys
 500 505 510
 Arg Ser Thr Ser Ala Ala Ile Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro
 515 520 525
 Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser
 530 535 540
 Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg
 545 550 555 560
 Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser
 565 570 575
 Ser Ser Gly Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Val Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Thr Arg Val Phe Leu Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp

				645					650				655		
Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr
			660					665					670		
Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu
		675					680					685			
Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val
	690					695					700				
Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly	Tyr
705					710					715					720
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn	Ala
				725					730					735	
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met
			740					745					750		
Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys
		755					760					765			
Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val
	770					775					780				
His	Asp	Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Pro	Gln	Ala	Arg	Ala	Glu	Glu	Val
785					790					795					800
Ala	Ala	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Met	Glu	Lys	Ala	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val
				805					810					815	
Pro	Leu	Glu	Val	Lys	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Lys
			820					825					830		

Glu

<210> 91
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia clonada

10

<400> 91

atggcgatgc	ttccccctctt	tgagcccaag	ggccgcgtcc	tcttggtgga	cggccaccac	60
ctggcctacc	gcaccttctt	cgccctgaag	ggccccacca	cgagccgggg	cgaaccggtg	120
caggtggtct	acggcttcgc	caagagcctc	ctcaaggccc	tgaaggagga	cgggtacaag	180
gccgtcttcg	tggtctttga	cgccaaggcc	ccctcattcc	gccacaaggc	ctacgaggcc	240
tacagggcgg	ggagggcccc	gacccccgag	gacttcccc	ggcagctcgc	cctcatcaag	300
gagctggtgg	acctcctggg	gtttaccgcg	ctcgaggctc	ccggctacga	ggcggacgac	360
gttctcgcca	ccctggccaa	gaaggcggaa	aaggaggggt	acgaggtgcg	catcctcacc	420
gccgaccgcg	gcctctacca	actcgtctct	gaccgcgtcg	ccgtcctcca	ccccgagggc	480

ES 2 546 945 T3

cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
gacttccgcg ccctcgtggg ggacccctcc gacaacctcc ccgggggtcaa gggcatcggg 600
gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
ctggaccggg taaagccaga aaacgtccgg gagaagatca agggccacct ggaagacctc 720
aggctctcct tggagctctc ccgggtgctc accgacctcc ccctggagggt ggacctcgcc 780
cagaggcggg agccccaccg ggaggggctt agggcctttc tggagaggct tgagtttggc 840
agcctcttcc acgagttcgg ccttctggaa agccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900
cccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
gatcttctgg ccctggccgc cgccaggggt ggtcagatcc accgggcccc cgagccttat 1020
aaagccctca gggacctgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
gccctaaggg aaggccttgg cctcccgcc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
ctggaccctt ccaacaccac ccccagggg gtggccccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgcccttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc cctttccgct 1320
gtcctggccc acatggaggc cacgggggtg cgctggacg tggectatct cagggccttg 1380
tccctggagg tggccgagga gatcgcgcc ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
cacccttca acctcaactc ccgggaccag ctggaaatgg tgctctttga cgagcttagg 1500
cttcccgcct tggggaagac gcaaaagacg ggcaagcgt ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg tcggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
ctccacacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg cttgggcaga ggatccgccg ggccttcac 1800
gccgaggagg ggtggctact ggtggctctg gactatagcc agatagagct caggggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga aaacctgatc agggcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
acggagaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacct cctgatgctc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcggggtc ctctacggca tgtcggccca cgccctctcc 2040
caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgtta ctttcagagc 2100
ttccccagg tgcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
gtggagacc tcttcggccg ccgccgtac gtgccagacc tagaggcccc ggtgaagagc 2220
gtgccccagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccc tccagggcac cgccgccgac 2280
ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc cccaggctgg gagaaacggg ggccaggatg 2340
ctccttcagg tccacgacga gctggctctc gaggcccca aagagagggc ggaggccgtg 2400
gccccgctgg ccaaggaggc catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggagggtg 2460
gagggtgggga taggggagga ctggctctcc gccaaagggtt ag 2502

<210> 92
<211> 833
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia clonada

5

<400> 92

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

Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Phe His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350
 Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr
 435 440 445
 Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val
 450 455 460
 Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly
 465 470 475 480
 His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Met Val Leu Phe
 485 490 495
 Asp Glu Leu Arg Leu Pro Ala Leu Gly Lys Thr Gln Lys Thr Gly Lys
 500 505 510
 Arg Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro
 515 520 525
 Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser
 530 535 540
 Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Ser Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg
 545 550 555 560
 Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser
 565 570 575
 Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His

625 630 635 640
Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr
705 710 715
Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala
 725 730 735
Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met
 740 745 750
Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys
 755 760 765
Leu Phe Pro Arg Leu Gly Glu Thr Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val
 770 775 780
His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val
785 790 795 800
Ala Arg Leu Ala Lys Glu Ala Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val
 805 810 815
Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys
 820 825 830

Gly

5 <210> 93
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 93
 cggtgctgcg acggatgccg 20

15 <210> 94
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido

 <400> 94
 agctaccatg cctgcacgaa ttcgcatcc gtcgcgacca cggtcgcagc g 51

25 <210> 95
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Artificial

ES 2 546 945 T3

<220>
 <223> Oligonucleótido

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> N es un sitio abásico

10 <400> 95
 agctaccatg cctgcacgac ancgcatcc gtcgacgacca cggtcgcagc g 51

15 <210> 96
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Cebador

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(40)
 <223> n es 5 nitroindol o un derivado

30 <400> 96
 caggaaacag ctatgacaaa aatctagata acgagggcan 40

35 <210> 97
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Cebador

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> n es 5 nitroindol o un derivado

50 <400> 97
 gtaaaacgac ggccagtacc accgaactgc gggtagcgc aagcn 45

55 <210> 98
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Artificial

60 <220>
 <223> Cebador

65 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> n es 5 nitroindol o un derivado

70 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(40)
 <223> n es 5 nitroindol o un derivado

75 <400> 98
 caggaaacag ctatgacaaa aatctagata ncgagggcan 40

80 <210> 99
 <211> 45

ES 2 546 945 T3

<212> ADN
 <213> Artificial

 5 <220>
 <223> Cebador

 10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> n es 5-nitroindol o un derivado

 <400> 99
 gtaaaacgac ggccagtacc acngaactgc gggtagcgc aagcn 45

 15 <210> 100
 <211> 2502
 <212> ADN
 <213> Artificial

 20 <220>
 <223> Secuencia clonada

 <400> 100

 atggcgatgc ttcccctctt tgagcccaaa ggccgggtcc tcctggtgga cggccaccac 60
 ctggcctacc gcaccttctt cgccctgaag ggcctcacca cgagccgggg cgaaccggtg 120
 caggcggttt acggcttcgc caagagcctc ctcaaggccc tgaaggagga cgggtacaag 180
 gccgtcttcg tggcttttga cgccaaggcc cctcctctcc gccacgaggc ctacgaggcc 240
 tacaaggcgg ggagggcccc gacccccgag gacttcccc gccagctcgc cctcatcaag 300
 gagctggtgg acctcctggg gtttaccgac ctcgaggctc aaggctacga ggcggacgac 360
 gtcctcgcca ccctggccaà gaaggcggaa aaagaagggt acgaggtgag catcctcacc 420
 gccgaccggg acctctacca gctcgtctcc gaccgcgtcg ccgtcctcca ccccgagggc 480
 cacctcatca ccccggagtg gctttgggag aagtacggcc tcaggccgga gcagtgggtg 540
 gacttccgag ccctcgtggg ggaccctcc gacaacctcc ccgggatcaa gggcatcggg 600
 gagaagaccg ccctcaagct cctcaaggag tggggaagcc tggaaaacct cctcaagaac 660
 ctggaccggg taaagccaga aaatgtccgg gagaagatca aggccacact ggaagacctc 720
 aggctctcct tggagctctc ccgggtgagc accgacctcc ccctggaggt ggacttcgcc 780
 aaaaggcggg agcccgaccg ggagaggctt agggccttcc tggagaggct tgagtttggc 840
 agcctctctc acgagttcgg ccttctggaa agccccaagg ccctggagga ggccccctgg 900

25

ES 2 546 945 T3

```

ccccgccgg aaggggcctt cgtgggcttt gtgctttccc gcaaggagcc catgtgggcc 960
gatcttctgg ccctggccgc cgccaagggg ggccgggtcc accgggcccc cgagccttat 1020
aaagccctca gggacttgaa ggaggcgcgg gggcttctcg ccaaagacct gagcgttctg 1080
gccctaaggg aaggccttgg cctccccccc ggcgacgacc ccatgctcct cgcctacctc 1140
ctggaccctt ccaacaccac ccccgagggg gtggcccggc gctacggcgg ggagtggacg 1200
gaggaggcgg gggagcgggc cgccctttcc gagaggctct tcgccaacct gtgggggagg 1260
cttgaggggg aggagaggct cctttggctt taccgggagg tggagaggcc cctttccgct 1320
gtcctggccc acatggaggc cacgggggtg cgcctggacg tggcctatct cagggccttg 1380
tccctggagg tggccgagga gatcgccccg ctcgaggccg aggtcttccg cctggccggc 1440
cacccttca acctcaactc ccgagaccag ctggaaaggg tcctctttga cgagctaggg 1500
cttcccgcca tcggcaagac ggagaagacc ggcaagcgtc ccaccagcgc cgccgtcctg 1560
gaggccctcc gcgaggccca ccccatcgtg gagaagatcc tgcagtaccg ggagctcacc 1620
aagctgaaga gcacctacat tgaccccttg ccggacctca tccaccccag gacgggcccgc 1680
ctccacaacc gcttcaacca gacggccacg gccacgggca ggctaagtag ctccgatccc 1740
aacctccaga acatccccgt ccgcaccccg ctcgggcaga ggatccgccg ggcccttcac 1800
gccgaggggg ggtggctatt ggtggctctg gactatagcc agatggagct caggggtgctg 1860
gcccacctct ccggcgacga gaacctgatc cgggtcttcc aggaggggcg ggacatccac 1920
acggaaaccg ccagctggat gttcggcgtc ccccgggagg ccgtggacce cctgatgcmc 1980
cgggcggcca agaccatcaa cttcgggggtt ctctacggca tgcggccca ccgcctctcc 2040
caggagctag ccatccctta cgaggaggcc caggccttca ttgagcgcta ctctcagagc 2100
ttcccaagg tgcgggcctg gattgagaag accctggagg agggcaggag gcgggggtac 2160
gtggagacc tcttcggccg ccgccgtac gtgccagacc tagaggcccc ggtgaagagc 2220
gtgcgggagg cggccgagcg catggccttc aacatgcccc tccagggcac cgccgccgac 2280
ctcatgaagc tggctatggt gaagctcttc ccaggctgg aggaaacggg ggccaggatg 2340
ctccttcagg tccacgacga gctggctctc gaggcccaa aagagagggc ggaggccgtg 2400
gcccggctgg ccaaggaggt catggagggg gtgtatcccc tggccgtgcc cctggagggtg 2460
gaggtgggga taggggagga ctggctctcc gccaggagt ga 2502

```

<210> 101
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 101

5

10

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly Leu
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Val Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105 110
 Val Gln Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Asp
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Ile Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Val
 210 215 220
 Lys Pro Glu Asn Val Arg Glu Lys Ile Lys Ala His Leu Glu Asp Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Leu Glu Leu Ser Arg Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu
 245 250 255
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala
 260 265 270
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu
 275 280 285
 Leu Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Pro Glu
 290 295 300
 Gly Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala
 305 310 315 320
 Asp Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Lys Gly Gly Arg Val His Arg Ala
 325 330 335
 Pro Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu
 340 345 350

Leu Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu
 355 360 365
 Pro Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser
 370 375 380
 Asn Thr Thr Pro Glu Gly Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn
 405 410 415
 Leu Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg
 420 425 430
 Glu Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr
 435 440 445
 Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val
 450 455 460
 Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly
 465 470 475 480
 His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe
 485 490 495
 Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys
 500 505 510
 Arg Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro
 515
 Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser
 530 535 540
 Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg
 545 550 555 560
 Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser
 565 570 575
 Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly
 580 585 590
 Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Gly Gly Trp Leu Leu Val
 595 600 605
 Val Leu Asp Tyr Ser Gln Met Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser
 610 615 620
 Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His
 625 630 635 640
 Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp
 645 650 655
 Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr
 660 665 670
 Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu
 675 680 685
 Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val
 690 695 700
 Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr

705						710										715																	720		
Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Glu	Ala																				
				725					730					735																					
Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met																				
			740					745					750																						
Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys																				
		755					760					765																							
Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Thr	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val																				
	770					775					780																								
His	Asp	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ala	Val																				
	785				790					795																									
Ala	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val																				
				805					810																										
Pro	Leu	Glu	Val	Glu	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Lys																				
			820					825					830																						

Glu

<210> 102
 <211> 2499
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 102

atggcgatgc	ttcccccttt	tgagcccaaa	ggccgggtcc	tcctggtgga	cggccaccac	60
ctggcctacc	gcaccttctt	cgccctgaag	ggcctcacca	cgagtcgggg	cgaaccggtg	120
caggcgggtct	acggcttcgc	caagagcctc	ctcaaggccc	tgaaggagga	cgggtacaag	180
gccatcttcg	tggctcttga	cgccaaggcc	ccctccttcc	gccacgagge	ccacgaggcc	240
tacaaggcgg	ggagggcccc	gagccccgag	gacttcccc	ggcagctcgc	cctcatcaag	300
gagctggtgg	acctcctggg	gtttaccgc	ctcgaggtcc	aaggctacga	ggcggacgac	360
gtcctcgcca	ccctggccaa	gaaggcggaa	aaagaagggt	acgaggtgcg	catcctcacc	420
gccgaccggg	acctctacca	gtcctctcc	gaccgcctcg	ccgtcctcca	ccccgagggc	480
cacctcatca	ccccggagtg	gctttgggag	aagtacggcc	tcaggccgga	gcagtgggtg	540
gacttccgcg	ccctcgtggg	ggaccctcc	gacaacctcc	ccggggtcaa	gggcatcggg	600
gagaagaacc	ccctcaagct	cctcaaggag	tggggaagcc	tggaaaacct	cctcaagaac	660
ctggaccggc	tgaagcccg	catccgggag	aagatcctgg	cccacatgga	cgatctgaag	720
ctctcctggg	acctggccaa	ggtgctcacc	gacctgcccc	tggaggtgga	cttcgccaaa	780
aggcgggagt	ccgatcggga	gaggcttagg	gcctttctgg	agaggcttga	gtttggcagc	840

```

ctctccacg agttcggcct tctggaaagc cccaaggccc tggaggaggc cccctggccc 900
ccgccggtag gggccttcgt gggctttgtg ctttcccgra aggagcccat gtgggcccgat 960
cttctggccc tggccgccgc caggggtggt cgggtccacc gggccccca gccttataaa 1020
gccctcagag acctgaagga ggcgcggggg cttctcgcca aagacctgag cgttctggcc 1080
ctgagggaag gccttggcct cccgcccggc gacgaccca tgctctcgc ctacctctg 1140
gacccttcca acaccacccc cgaggtggtg gcccggcgt acggcgggga gtggacggag 1200
gaggcggggg agcgggccgc cttttccgag aggtctctc ccaacctgtg ggggaggctt 1260
gagggggagg ggaggctcct ttggctttac cggggggtg agaggcccc ttccgctgtc 1320
ctggcccaca tggaggccac aggggtgctg ctggacgtgg cctatctcag ggccttgtcc 1380
ctggaggtgg ccgaggagat cgcgccctc gaggccgagg tcttccgcct ggccggccac 1440
cccttcaacc tcaactccc ggaccagctg gaaagggtcc tcttgacga gctagggctt 1500
cccgccatcg gcaagacgga gaagaccggc aagcgtcca ccagcggcg cgtctggag 1560
gccctccgag agggccacc catcgtggag aagatcctgc agtaccggga gctaccaag 1620
ctgaagagca cttacattga ccccttgccg gacctcatc accccaggac gggccgctc 1680
cacaccgct tcaaccagac ggccacggcc acgggcaggc taagtagctc cgatcccaac 1740
ctccagaaca tcccgtccg caccgcctc gggcagagga tccgcccggc ctcatcgc 1800
gagggggggg ggctattggt ggtcctggac tatagccaga tggagctcag ggtgctggcc 1860
cacctctccg gcgacgagaa cctgatccgg gtcttccagg aggggcggga catccacag 1920
gaaaccgcca gctggatggt cggcgtccc cgggaggccg tggacccct gatgcgcccg 1980
gcgccaaga ccatcaact cggggttctc tacggcatgt cggcccaccg cctctcccag 2040
gagctagcca tcccttacga ggaggcccag gccttcattg agcgtactt ccaaagctt 2100
cccaaggtgc gggcctggat agaaaagacc ctggaggagg ggaggaagcg gggctacgtg 2160
gaaaccctct tcggaagaag gcgctacgtg cccgacctca acgcccgggt gaagagcgtc 2220
agggaggccg cggagcgcac ggccttcaac atgcccgtcc agggcaccgc cgccgacctc 2280
acgaagctgg ctatggtgaa gctcttccc aggctggagg aaacgggggc caggatgctc 2340
cttcaggtcc acgacgagct ggtcctcgag gccc aaaag agaggcgga ggccgtggcc 2400
cggctggcca aggaggtcat ggagggggtg tacccttg cctgcccct ggaggtggag 2460
gtggggatag gggaggactg gctttccgc aagggttag 2499

```

<210> 103
 <211> 832
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia clonada

<400> 103

5

10

Met Ala Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe Phe Ala Leu Lys Gly Leu
 20 25 30
 Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Lys Ala Ile Phe Val
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala His Glu Ala
 65 70 75 80
 Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Ser Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln Leu
 85 90 95
 Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Phe Thr Arg Leu Glu
 100 105
 Val Gln Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Thr Leu Ala Lys Lys
 115 120 125
 Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Arg Asp
 130 135 140
 Leu Tyr Gln Leu Val Ser Asp Arg Val Ala Val Leu His Pro Glu Gly
 145 150 155 160
 His Leu Ile Thr Pro Glu Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg Pro
 165 170 175
 Glu Gln Trp Val Asp Phe Arg Ala Leu Val Gly Asp Pro Ser Asp Asn
 180 185 190
 Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Leu Lys Leu Leu
 195 200 205
 Lys Glu Trp Gly Ser Leu Glu Asn Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Leu
 210 215 220
 Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu Lys
 225 230 235 240
 Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu Val
 245 250 255
 Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Ser Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala Phe
 260 265 270
 Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu Leu
 275 280 285
 Glu Ser Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Pro Trp Pro Pro Val Gly
 290 295 300
 Ala Phe Val Gly Phe Val Leu Ser Arg Lys Glu Pro Met Trp Ala Asp
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Leu Ala Ala Ala Arg Gly Gly Arg Val His Arg Ala Pro
 325 330 335

Glu Pro Tyr Lys Ala Leu Arg Asp Leu Lys Glu Ala Arg Gly Leu Leu
 340 345 350
 Ala Lys Asp Leu Ser Val Leu Ala Leu Arg Glu Gly Leu Gly Leu Pro
 355 360 365
 Pro Gly Asp Asp Pro Met Leu Leu Ala Tyr Leu Leu Asp Pro Ser Asn
 370 375 380
 Thr Thr Pro Glu Val Val Ala Arg Arg Tyr Gly Gly Glu Trp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Gly Glu Arg Ala Ala Leu Ser Glu Arg Leu Phe Ala Asn Leu
 405 410 415
 Trp Gly Arg Leu Glu Gly Glu Gly Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Gly
 420 425 430
 Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly
 435 440 445
 Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala
 450 455 460
 Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His
 465 470 475 480
 Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp
 485 490 495
 Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg
 500 505 510
 Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile
 515 520 525
 Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr
 530 535 540
 Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu
 545 550 555 560
 His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser
 565 570 575
 Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln
 580 585 590
 Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Gly Gly Trp Leu Leu Val Val
 595 600 605
 Leu Asp Tyr Ser Gln Met Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly
 610 615 620
 Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr
 625 630 635 640
 Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro
 645 650 655
 Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly
 660 665 670
 Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu
 675 680 685
 Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg

ES 2 546 945 T3

690		695		700															
Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Lys	Arg	Gly	Tyr	Val				
705					710					715					720				
Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Asn	Ala	Arg				
				725					730					735					
Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met	Pro				
			740					745					750						
Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Thr	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys	Leu				
		755					760					765							
Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Thr	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val	His				
	770					775					780								
Asp	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ala	Val	Ala				
785					790					795					800				
Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val	Pro				
			805						810					815					
Leu	Glu	Val	Glu	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Lys	Gly				
			820					825					830						

5
10
15
20
25
30
35
40

<210> 104
<211> 59
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador

<220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> n es dU-biotina

<400> 104
tagctcgga acgccggctt ccgctcgcac caccgtnttc gtggctcgga cggaagccg

59

<210> 105
<211> 60
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador

<220>
<221> misc_feature
<222> (38)..(38)
<223> n es dU-biotina

<400> 105
tagctcgga aaccggctt cccgctcgcga ccacgtntt cgtggctcgcg acggaagccg

60

<210> 106
<211> 61
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> n es dU-biotina
 5
 <400> 106

tagctcggat tttcgccggc ttccgctcgc accacgttnt tcgtggtcgc gacggaagcc 60
g 61
 10
 <210> 107
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> Cebador

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (38)..(38)
 <223> n es dU-biotina
 20
 <400> 107
 tagctaccag ggctccggct tccgctcgcga ccacgttntt cggtggtcgcg acggaagccg 60
 25
 <210> 108
 <211> 67
 <212> ADN
 <213> Artificial
 30
 <220>
 <223> Cebador

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> N es un sitio abásico
 35
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> n es du-biotina
 40
 <400> 108
 45
agctaccatg cctgcacgca gncggcatcc gtcgcgacca cgtnnttcgt ggtcgcgacg 60
gatgccg 67

 <210> 109
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial
 50
 <220>
 <223> Cebador
 55
 <400> 109
 taatagcact cactataggg aga 23
 60
 <210> 110
 <211> 29
 <212> ADN

<213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 5
 <400> 110
 attatgctga gtgatatccc tctatcgat 29
 <210> 111
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10
 <220>
 <223> Cebador
 15
 <400> 111
 taatagcact cactataggg aga 23
 <210> 112
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Artificial
 20
 <220>
 <223> Cebador
 25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> n es A, T, C o G
 30
 <400> 112
 attatgctga gtgatatccc tctngtca 28
 <210> 113
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35
 <220>
 <223> Cebador
 40
 <400> 113
 gcggtgtaga gacgagtgcg gag 23
 <210> 114
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Artificial
 45
 <220>
 <223> Cebador
 50
 <400> 114
 ctctacaag cagccaggca agctccgcac tcgtctctac accgctccgc 50
 <210> 115
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Artificial
 55
 <220>
 <223> Cebador
 60
 <400> 115
 65

ctctacaag cagccaggca agctccgcac tcgtctctac accgctccgc 50

5 <210> 116
 <211> 61
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Cebador FITC

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> n es biotina

<400> 116

tagctaccat tttcgccggc ttccgtcgcg accacgttnt tcgtggtcgc gacggaagcc 60

g 61

20 <210> 117
 <211> 67
 <212> ADN
 <213> Artificial

25 <220>
 <223> Cebador FITC

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> n es biotina

<400> 117

tagctaccat ttttttttc gccggcttcc gtcgcgacca cgtnnttcgt ggtcgcgacg 60

gaagccg 67

35 <210> 118
 <211> 61
 <212> ADN
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Cebador ELISA

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> n es biotina

50 <400> 118

tagctaccag gggctccggc ttccgtcgcg accacgttnt tcgtggtcgc gacggaagcc 60

g 61

55 <210> 119
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Artificial

ES 2 546 945 T3

<220>
<223> Cebador ELISA

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (38)..(38)
<223> n es biotina

10 <400> 119
tagctcggt aacgccgct tccgtcgca ccacgttntt cgtggtcgcg acggaagccg 60

<210> 120
<211> 67
15 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador

20 <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> N es un sitio abásico

25 <220>
<221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> n es biotina

30 <400> 120

agctaccatg cctgcacgca gncggcatcc gtcgacacca cgttnttcgt ggtcgcgacg 60
gatgccg 67

35

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una ADN polimerasa pol A con una selección más amplia de sustratos que es capaz de evitar un sitio abásico, en la que la polimerasa comprende la secuencia de aminoácidos del clon designado en el presente documento como 3A10 (SEC ID N° 80).
2. Una ADN polimerasa pol A de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la DNA polimerasa consiste en la secuencia de aminoácidos del clon designado en el presente documento como 3A10 (SEC ID N° 80).
- 10 3. Una construcción de ácido nucleico que codifica una polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1 o 2.
4. Un vector que comprende una construcción de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 3.
- 15 5. El uso de una ADN polimerasa obtenida por ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 en una cualquiera o más de las siguientes aplicaciones seleccionadas del grupo que consiste en las siguientes: amplificación por PCR, secuenciación de moldes de ADN dañados, la incorporación de análogos de bases artificiales a ADN y la creación de nuevas actividades de polimerasa.
- 20 6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5 de una combinación de polimerasas obtenidas por ingeniería genética.

La Figura 1a muestra la secuencia de ácido nucleico de M1

ATGCTCCCTCTTTTTGAGCCCAAAGGCCGCGTCCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCT
 ACCGCACCTTCCACGCCCTGAAGGGCCTCACCACCAGCCGGGGGGAGCCGGTGCAGGCGG
 TCTACGGCTTCGCAAGAGCCTCCTCAAGGCCCTCAAGGAGGACGGGGACGCGGTGATCG
 TGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCCTTCCGCCACGAGGCCTACGGGGGGTACAAGGCGG
 CCCGGGCCCCACGCCGAGGACTTTCCCGGCAACTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGG
 ATCTCCTGGGGCTGGCGCGCCTCGAGGTCCCAGGCTACGAGGCGGACGACGTCTGGCCA
 GCCTGGCCAAGAAGCGGAAAAGGAGGGCTACGAGGTCCGCATCCTCACCGCCGACAAA
 GGCTTTACCAAGCTCCTTTCCGACCCGATCCACGTCTCCACCCGAGGGGTACCTCATCA
 CCCGGCCTGGCTTTGGGAAAAGTACGGCCTGAGGCCGACCAAGTGGCCGACTACCGGG
 CCCTGACCGGGGACGAGTCCGACAACCTTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACG
 GCGAGGAAGCTTCTGGAGGAGTGGGGGAGCCTGGAAGCCCTCCTCAAGAACCTGGACCG
 GCTGAAGCCCGCCATCCGGGAGAAGATCCTGGCCACATGGACGATCTGAAGCTCTCTG
 GGATCTGGCCAAGGTGCGCACCGACCTGCCCTGGAGGTGGACTTCGCCAAAAGGCGGGA
 GCGGACCCGGAGAGGCTTAGGGCTTTCTGGAGAGGCTTGAGTTTGGCAGCCTCCTCCA
 CGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCTGGCCCCCGCCGGA
 AGGGGCCTTCGTGGGCTTTGTCTTTCCCGCAGGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTGGCC
 CTGGCCGCCAGGGGGGGCCGGTCCACCGGGCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCAGG
 GACCTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCCAAAGACCTGAGCGTTCTGGCCCTGAGGGAA
 GGCCTTGGCCTCCCGCCCGGCGACGACCCCATGCTCCTCGCTACCTCCTGGACCTTCCA
 ACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCGGGG
 GAGCGGGCCGCCCTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGAG
 GAGAGGCTCCTTTGGCTTTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTTCCGCTGTCTGGCCACA
 TGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATCTCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTGG
 CCGAGGAGATCGCCCGCCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCCTGGCCGGCCACCCCTCAACC
 TCAACTCCCGGACCAAGCTGGAAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCATCG
 GCAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCTCCTGGGGGCCCTCCGC
 GAGGCCACCCCATCGTGGAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTACCAAGCTGAAGAGC
 ACCTACATTGACCCCTTACCGGACCTCATCCACCCAGGACGGGCCGCTCCACACCCGCT
 TCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGACGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAACA
 TCCCGTCCGCACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCGCCGGGCCTTCATCGCCGAGGAGGGGT
 GGCTATTGGTGGTCTTGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGTGGCCACCTCTCCG
 GCGACGAGAACCTGATCCGGGTCTTCCAGGAGGGGGCGGGACATCCACACGGAGACCGCC
 AGCTGGATGTTCCGGCTCCCCGGGAGGCGGTGGACCCCTGATGCGCCGGGCGGCCAAG
 ACCATCAACTTCGGGGTCTTACGGCATGTCGGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTAGCCA
 TCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCAATTGAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCAAGGTGCG
 GGCCTGGATTGAGAAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGGCGGGGTACGTGGAGACCCTCT
 TCGGCCCGCCCGCTACGTGCCAGACCTAGAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGCGGGGGGCG
 GCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGCACCGCCGCGACCTCATGAAGCTG
 GCTATGGTGAAGCTCTTCCCAAGGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCCTCAGGTC
 CACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCCGGCTGGC
 CAAGGAGGTCATGGAGGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGAT
 AGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

FIG. 1a

SEC 1

Secuencia de aminoácidos de M1

MRGMLPLFEPKGRVLLVDGHHLAYRTFHALKGLTTSRGEFVQA VYGFAKSLLKALKEDGDAVIVVFD AKAPSRH
 EAYGGYKAARAPTEPDFRQLALIKELVDLLGLARLEVPGEADDVLSLAKKAKEGYEVRIILTADKGLYQLLS
 DRHVLHPEGYLITPAWLWEKYLGRPDQWADYRALTGDESDNLPVKGIGEK TARKLLEEWGSLEALLKNLDRLK
 PAIREKILAHMDDLKLSWDLAKVRTDPLEVDFAKRREPDRERLRAFLEFSGSLHEFGLESPKALEEAPWP
 PPEGAFVGFVLSRREPWADLLALAAARGGRVHRAPEPYKALRDLKEARGLLAKDLSVLALREGGLPPGDDPML
 LAYLLDPSNTTPEGVARRYGGEWTEEA GERAAALSERL FANLWGRLEGEERLLWL YREVERPLSAVLAHMEATGVR
 LDVA YLRALSLEVAEEIARLEAEVFRLAGHPFNLSRDQLER VLFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLGALREA
 HPIVEKILQYRELTKLKSTYIDPLPDLIHPRTGRLHTRFNQTATATGR LSSSDPNLQNIPTPLGQJRRAFIA
 EEGWLLVVDYSQIELRVLAHLSGDENLIRVFQEGRDIHTIETASW MFGVPREA VDPMLMRRAAKTIINFGVLYGMSA
 HRLSQELAIPIYEEAQAFIERYFQSPFKVRAWIEK TLEEGRRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKSVRGAAERMAFN
 MPVQGT AADLMKLAMVVKLFRLEEMGARMLLQVHDEL VLEAPKERAEA VARLAKEVMEGVYPLAVPLEVEVGIGE
 DWLSAKE

FIG. 1b

La Figura 2a muestra la secuencia de ácido nucleico de M4

ATGCTCCCTCTTTATGAGCCCAAGGGCCGCGTCCTCCTGGTGGACGGCCACCACCTGGCCT
 ACCGCACCTTCCACGCCCTGAAGGGCCTCACCACCAGCCGGGGGGAGCCGGTGCAGGCGG
 TCTACGGCTTCGCCAAGAGCCTCCTCAAGGCCCTCAAGGAGGGCGGGGACGCGGTGATCG
 TGGTCTTTGACGCCAAGGCCCTCCTTCCCCCATGAGGCCTACGGGGGGTACAAGGCGG
 GCCGGGCCCCACGCCGGAGGACTTTCCCCGACAACCTCGCCCTCATCAAGGAGCTGGTGG
 ACCTCTGGGGCTGACGCGCCTCGAGGTCCCGGGCTACGAGGCGGACGACGTCTGGCCA
 GCCTGGCCAAGAAGGCGGAAAAGGAGGGCTACGAGGTCCGCATCCTCACCGCCGACAAA
 GACCTTTACCAGCTCCTTTCCGACCGCATCCACGTCTCCACCCCGAGGGGTACCTCATCA
 CCCCCGCCTGGCTTTGGGAAAAGTACGGCCTGAGGCCGACCAGTGGGCCGACTACCGGG
 CCCTGACCGGGGACGAGTCCGACAACCTTCCCGGGGTCAAGGGCATCGGGGAGAAGACG
 GCGAGGAAGCTTCTGGAGGAGTGGGGGAGCCTGGAAGCCCTCCTCAAGAACCTGGACCG
 GCTGAAGCCC GCCATCCGGGAGAAGATCCTGGCCACATGGACGATCTGAAGCTCTCCTG
 GGACCGGCCAAGGTGCGCACCGAAGCTGCCCCGGAGGTGGACTTCGCCAAAAGGCGGG
 AGCCCGACCGGGAGAGGCTTAGGGCCTTTCTGGAGAGGCTTGAGTTTGGCAGCCTCCTCC
 ACGAGTTCGGCCTTCTGGAAAGCCCCAAGGCCCTGGAGGAGGCCCCCTGGCCCCCGCCGG
 AAGGGGCTTCGTGGGCTTTGTGCTTCCCGCAAGGAGCCCATGTGGGCCGATCTTCTAGC
 CCTGGCCGCGCCAGGGGGGGCCGGGTCCACCGGGCCCCCGAGCCTTATAAAGCCCTCGG
 GGACCTGAAGGAGGCGCGGGGGCTTCTCGCCAAAGACCTGAGCGTTCTGGCCCTGAGGGA
 AGGCCTTGGCCTCCCGCCGACGACGACCCCATGCTCCTCGCCTACCTCCTGGACCCCTCC
 AACACCACCCCGAGGGGGTGGCCCGGCGCTACGGCGGGGAGTGGACGGAGGAGGCAGG
 GGAGCGGGCCGCCCTTTCCGAGAGGCTCTTCGCCAACCTGTGGGGGAGGCTTGAGGGGGA
 GGAAAGGCTCCTTTGGCTTTACCGGGAGGTGGAGAGGCCCTTCCGCTGTCTGGCCAC
 ATGGAGGCCACGGGGGTGCGCCTGGACGTGGCCTATCTCAGGGCCTTGTCCCTGGAGGTG
 GCCGAGGATCGCCCGCCTCGAGGCCGAGGTCTTCCGCTGGCCGGCCACCCCTCAAC
 CTCAACTCCCGGGACAGCTGGAAAGGGTCTCTTTGACGAGCTAGGGCTTCCCGCCATC
 GGCAAGACGGAGAAGACCGGCAAGCGCTCCACCAGCGCCGCGTCCTGGGGGCCCTCCG
 CGAGGCCACCCCATCGTGGAGAAGATCCTGCAGTACCGGGAGCTCACCAAGCTGAAGAG
 CACCTACATTGACCCCTTGCCGACCTCATCCACCCAGGACGGGCCGCTCCACACCCCGC
 TTCAACCAGACGGCCACGGCCACGGGCAGGCTAAGTAGCTCCGATCCCAACCTCCAGAGC
 ATCCCCGTCCGCACCCCGCTTGGGCAGAGGATCCGCCGGGCCTTCATCGCCGAGGAGGGG
 TGGCTATTGGTGGCCCTGGACTATAGCCAGATAGAGCTCAGGGTGCTGGCCACCTCTCCG
 GCGACGAGAACCTGATCCGGGTCTTCCAGGAGGGGCGGGACATCCACACGGAGACCGCC
 AGCTGGATGTTCCGGCTCCCCCGGAGGCCGTGGACCCCTGATGCGCCGGGCGGCCAAG
 ACCATCAACTTCGGGTCTCTACGGCATGTCGGCCACCGCCTCTCCAGGAGCTAGCCA
 TCCCTTACGAGGAGGCCAGGCCTTCATTAAGCGCTACTTTCAGAGCTTCCCCAAGGTGCG
 GGCTGGATTGAGAAGACCCTGGAGGAGGGCAGGAGGCGGGGTACGTGGAGACCCTCT
 TCGGCCGCCGCTACGTGCCAGACCTAGAGGCCCGGGTGAAGAGCGTGCGGGAGCCG
 GCCGAGCGCATGGCCTTCAACATGCCCGTCCAGGGTACCGCCGCCACCTCATGAAGCTG
 GCTATGGTGAAGCTCTTCCCAGGCTGGAGGAAATGGGGGCCAGGATGCTCCTCAGGTC
 CACGACGAGCTGGTCTCGAGGCCCAAAAGAGAGGGCGGAGGCCGTGGCCCGGCTGGC
 CAAGGAGGTGATGGAGGGGGTGTATCCCTGGCCGTGCCCTGGAGGTGGAGGTGGGGAT
 AGGGGAGGACTGGCTCTCCGCCAAGGAGTGA

FIG. 2a

SEC 2

Secuencia de aminoácidos de M4

MRGMLPL YEPKGRVLLVDGHHLAYRTFHALKGLTTSRGEPVQAVYGF AKSLLKALKEGGDAVIVVFD AKAPSFPH
 EAYGGYKAGRAPTPEDFPRQLAIKELVDLLGLTRLEVPGEYADDVLSLAKKAEKEGYEVRIITADKLDLYQLLS
 DRIHVLHPGEGYLITPAWLWEKYGLRPDQWADYRALTGDESDNLPGVKIGEK TARKLLEEWGSLEALLKNLDRLK
 PAIREKILAHMDDLKLSWDRAKVVRTDLPLEVDFAKRREPDRERLRAFLERLEFGSLLHEFGLLLESPKALEEAPWP
 PPEGAFVGFVLSRKEPMWADLLALAAARGGRVHR APEPYKALGDLKEARGLLAKDLSVLALREGLGLPPDDDPML
 LAYLLDPSNTTPEGVARRYGGEWTEEAGERAAALSERLFANLWGRLEGEERLLWLYREVERPLSAVLAHMEATGVR
 LDVAYLRALSLEVAEEIARLEAEVFRLAGHPFNLSRDQLERVLFDELGLPAIGKTEKTGKRSTSAAVLGALREA
 HPIVEKILQYRELTKLKSITYIDPLDLIHPRTGR LHTRFNQIATATGR LSSSDPNLQSIPTRTPLGQRRRAFIA
 EEGWLLVALDYSQIELRVL AHLSGDENLIRV FQEGRDIHTETASW MFGVPREAVDPLMRRRAAKTINFGVLYGMSA
 HRLSQEL AIPYEEAQA FIKRYFQSFPKVRAWIEK TLEEGRRRGYVETLFGRRRYVPDLEARVKS VREPAERMAFN
 MPVQGTAAADLMKLA MVKLFPRLEEMGARMLLQVHDEL VLEAPKERA EA VARLAKEVMEGVYPLAVPLEVEVGIGE
 DWLSAKE

FIG. 2b

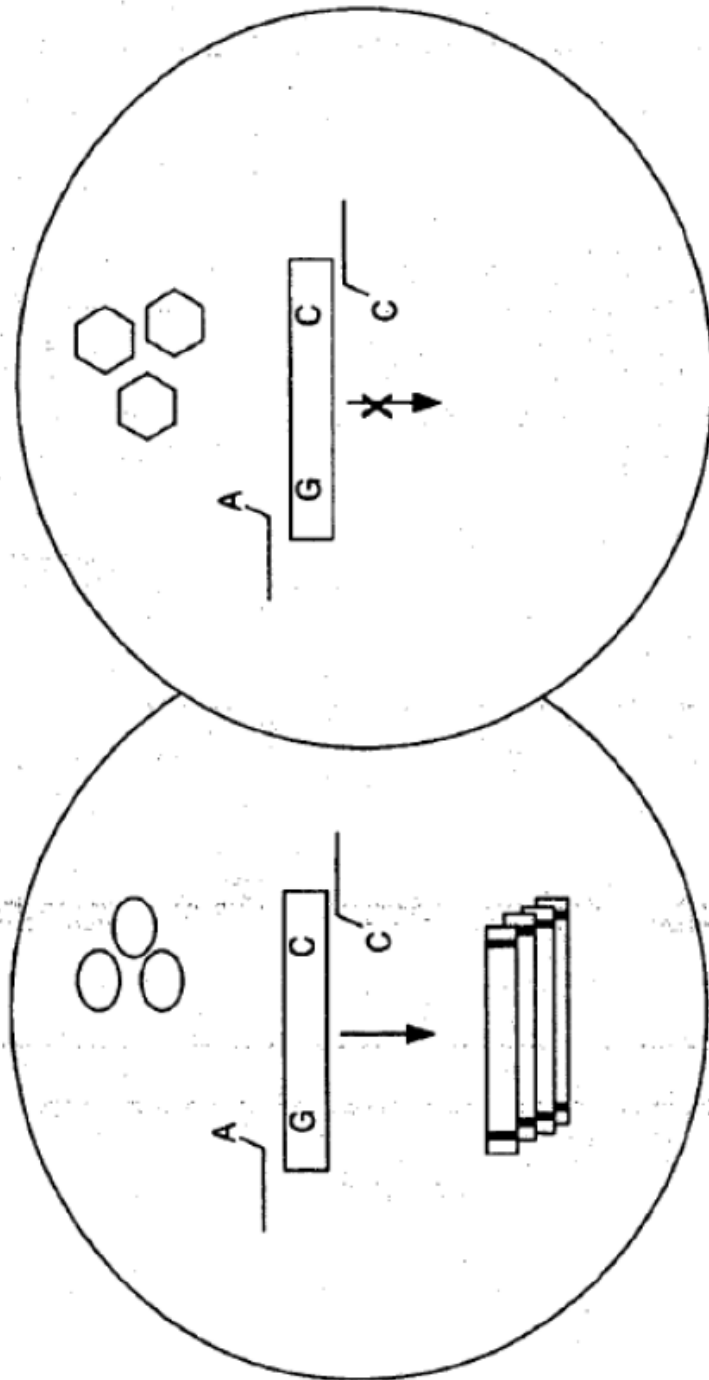
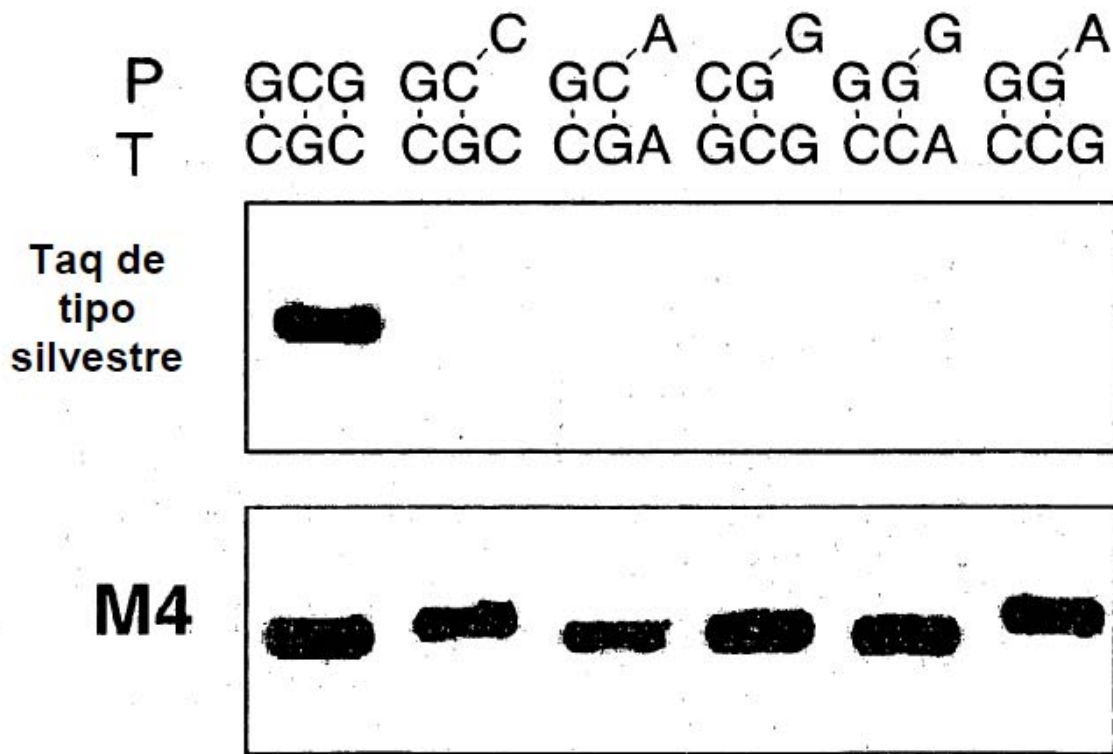
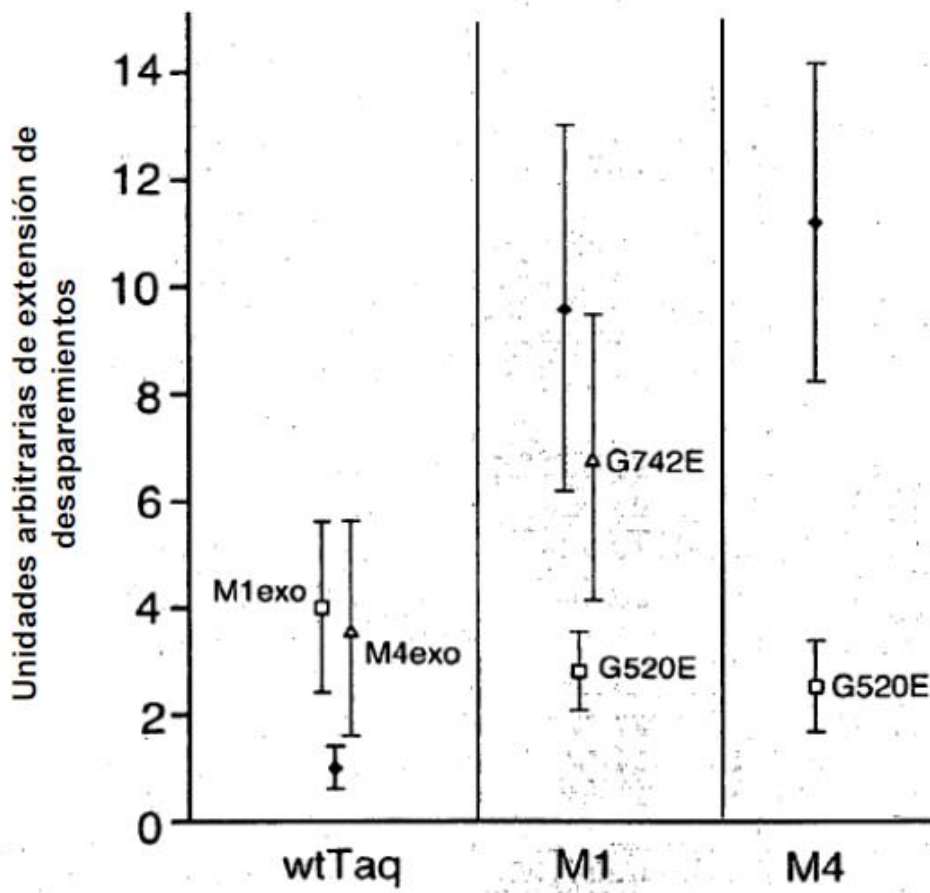


FIG. 3



Propiedades de extensión de desapareamientos de polimerasas seleccionadas.

FIG. 4a



Propiedades de extensión de desapareamientos de polimerasas seleccionadas

FIG. 4b

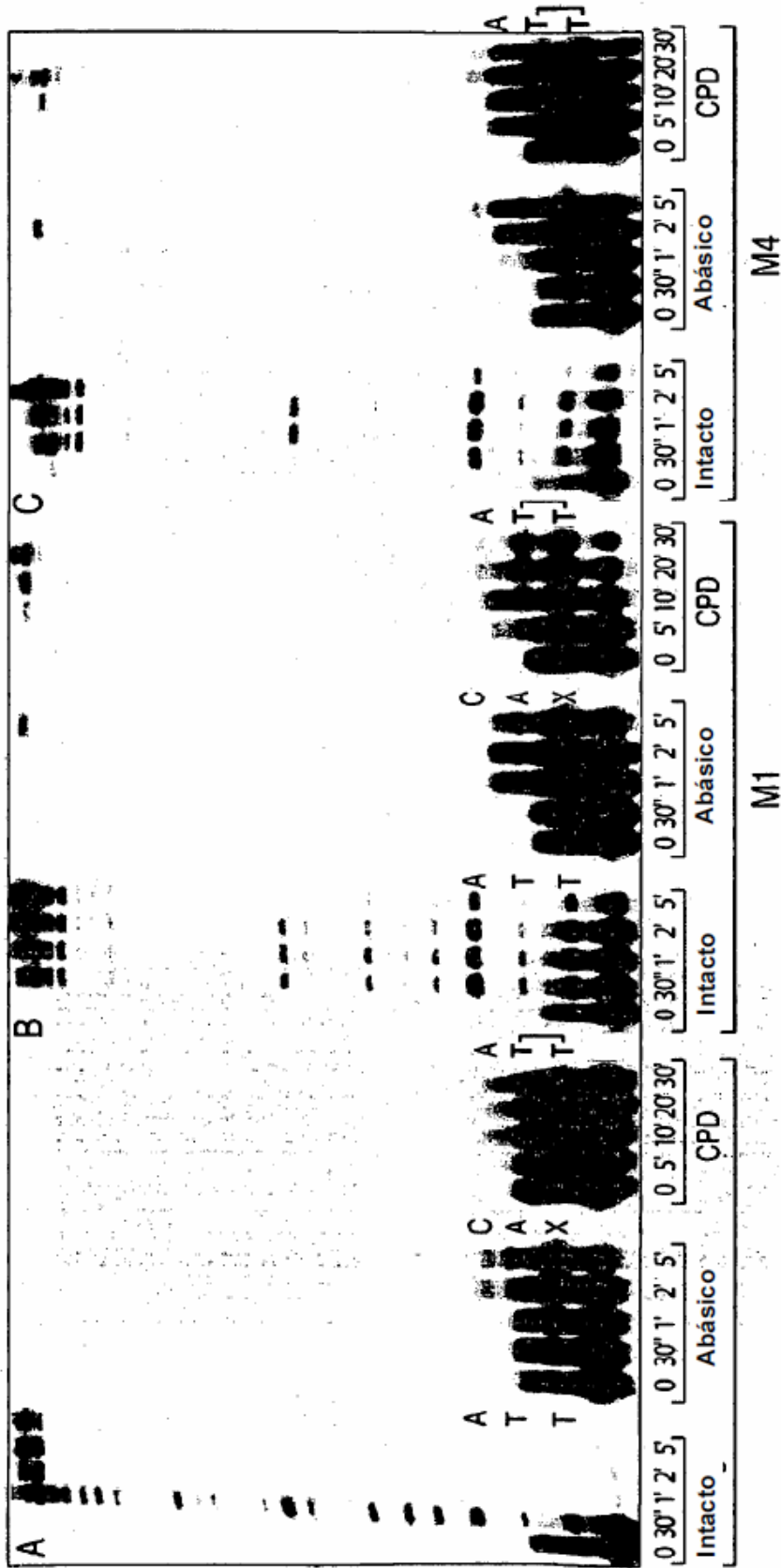
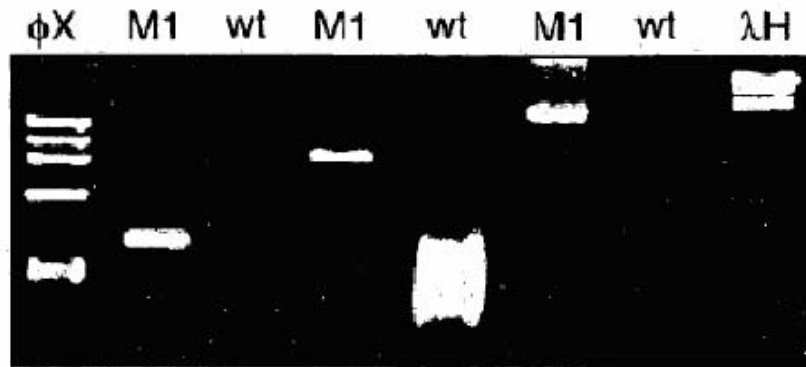
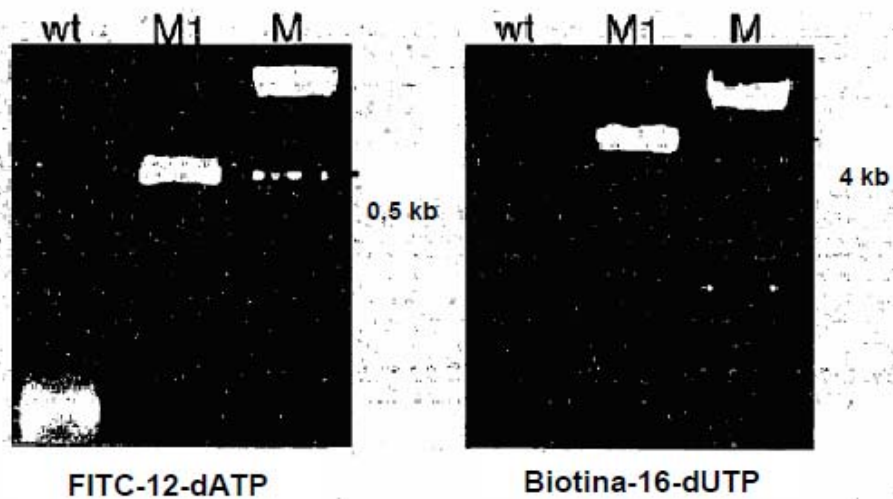


FIG. 5



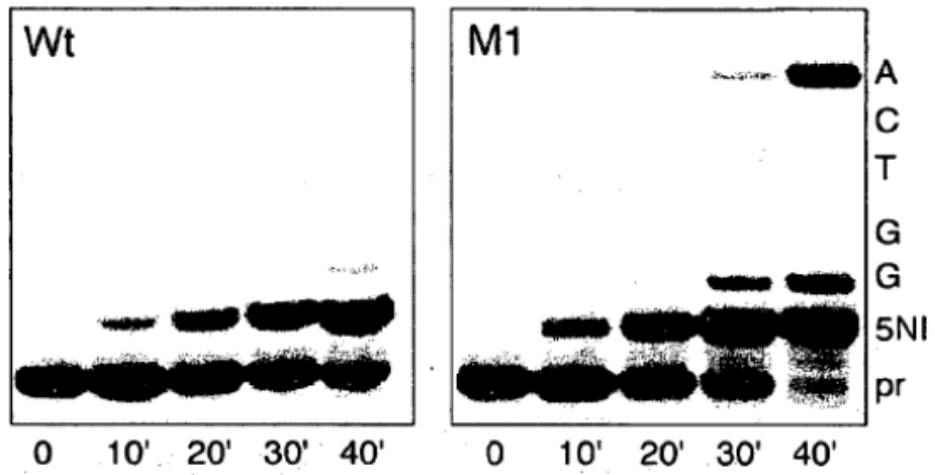
Actividad de la polimerasa sobre sustratos artificiales (dNTP α S)

FIG. 6a



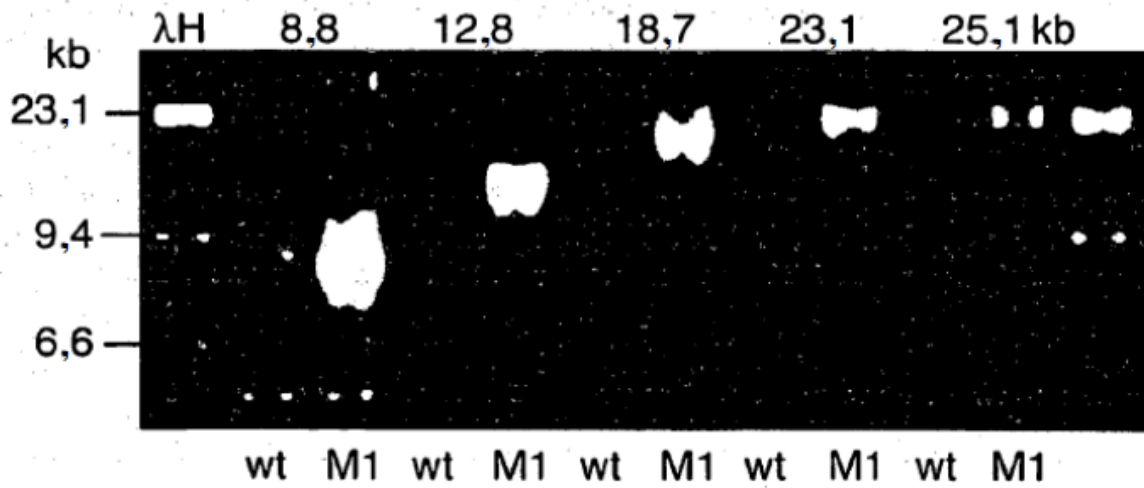
Actividad de la polimerasa sobre sustratos artificiales

FIG. 6b



Actividad de la polimerasa sobre sustratos artificiales (5NI)

FIG. 6c



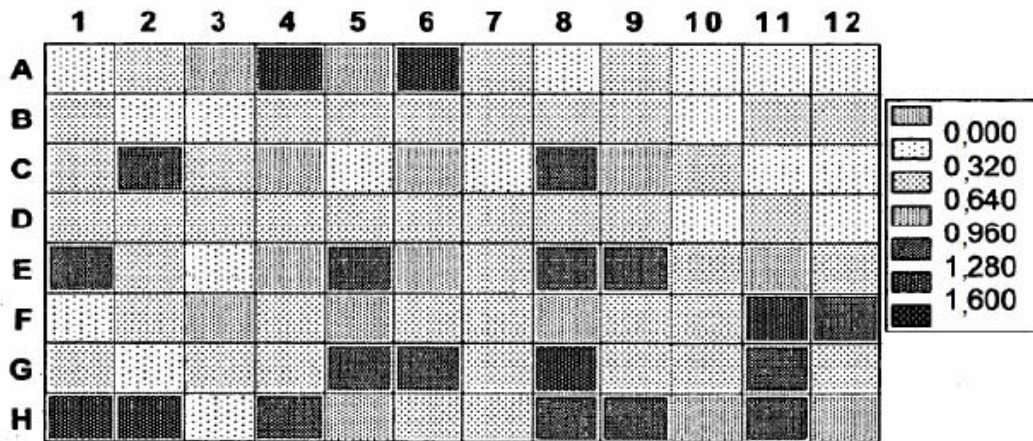
PCR de rango largo

FIG. 7

Experimento I.

ELISA con fluoresceína 12-dATP de los clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos usando el cebador FITC4

(5'-TAGCTACCATTTTCGCCGGCTTCCGTCGCGACCACGTPITTCGTGGTCGCGA
CGGAAGCCG-3', P1 = Biotina)



Limite superior = 1,600

Limite inferior = 0,000

0,315	0,489	0,846	1,558	0,652	1,378	0,360	0,216	0,566	0,290	0,259	0,042
0,513	0,038	0,061	0,461	0,449	0,640	0,523	0,444	0,412	0,222	0,404	0,476
0,467	1,125	0,588	0,818	0,311	0,718	0,292	1,169	0,736	0,551	0,222	0,260
0,627	0,574	0,340	0,422	0,593	0,581	0,399	0,556	0,347	0,280	0,472	0,157
1,056	0,357	0,316	0,927	1,021	0,843	0,636	1,018	1,057	0,632	0,933	0,638
0,046	0,499	0,906	0,489	0,774	0,408	0,444	0,867	0,576	0,366	1,344	1,070
0,404	0,286	0,455	0,335	1,140	0,972	0,467	1,448	0,366	0,408	0,988	0,410
1,512	1,291	0,063	1,034	0,663	0,419	0,346	1,117	1,204	0,936	1,239	0,750

FIG. 8a

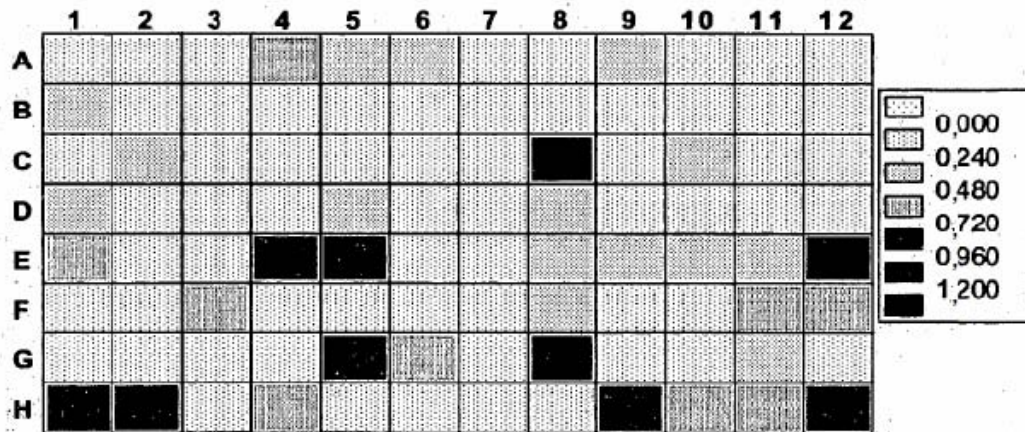
Experimento II.

ELISA con Bio-11-dATP de los clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos y actividad visualizada con fluoresceína 12-dATP en el ELISA que ensaya el cebador FITC102

(5'-

TAGCTACCATTTTTTTTTTCGCCGGCTTCGTCGCGACCA CGTTPITTCGTGGTCGCGACGGAA

GCCG-3', P1 = Biotina)



Limite superior = 1,200
Limite inferior = 0,000

0,044	0,048	0,200	0,660	0,464	0,459	0,053	0,042	0,325	0,067	0,035	0,027
0,275	0,097	0,014	0,107	0,161	0,059	0,092	0,138	0,070	0,044	0,050	0,160
0,204	0,373	0,177	0,219	0,142	0,080	0,033	1,821	0,147	0,310	0,050	0,032
0,288	0,094	0,038	0,050	0,381	0,076	0,057	0,264	0,052	0,044	0,056	0,031
1,540	0,061	0,054	0,928	1,106	0,151	0,152	0,441	0,342	0,381	0,345	0,802
0,038	0,069	0,639	0,089	0,184	0,045	0,055	0,401	0,154	0,072	0,715	0,647
0,062	0,043	0,135	0,057	0,904	0,546	0,182	0,844	0,054	0,064	0,250	0,188
1,332	0,758	0,036	0,535	0,212	0,057	0,049	0,214	0,070	0,494	0,570	0,839

FIG. 8b

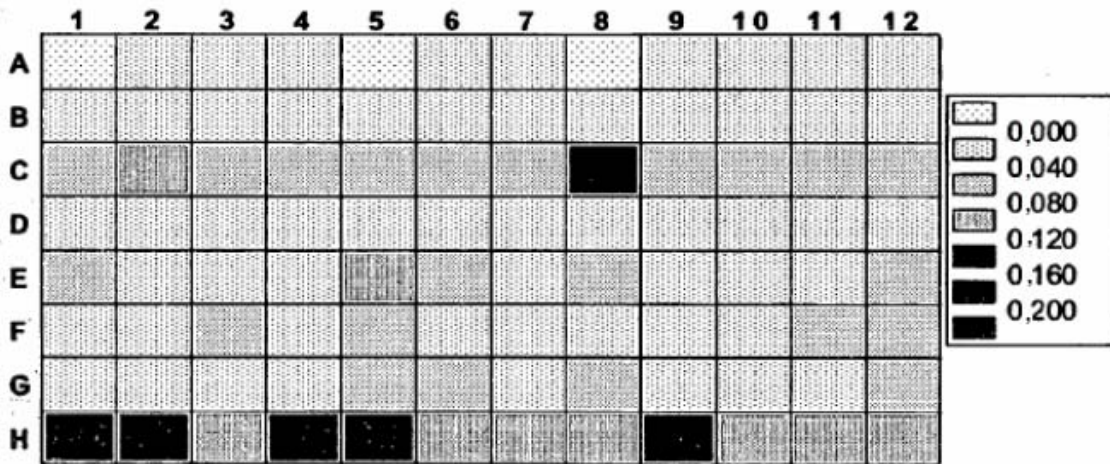
Experimento III.

ELISA con CyDye 5-dCTP de los clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos usando el cebador ELISAC4P

(5'-

TAGCTACCAGGGGCTCCGGCTTCCGTCGCGACCACGTTPIITTCGTGGTCGCGACGGAAGCC

G-3', P1 = Biotina)



Limite superior = 0,200

Limite inferior = 0,000

0,053	0,062	0,054	0,058	0,048	0,083	0,063	0,043	0,081	0,066	0,065	0,058
0,079	0,057	0,055	0,084	0,058	0,078	0,060	0,061	0,061	0,058	0,054	0,075
0,113	0,136	0,134	0,129	0,120	0,122	0,111	1,176	0,109	0,119	0,112	0,115
0,081	0,075	0,068	0,068	0,083	0,076	0,065	0,072	0,060	0,061	0,065	0,065
0,119	0,079	0,074	0,092	0,142	0,106	0,091	0,103	0,084	0,092	0,077	0,101
0,086	0,079	0,112	0,092	0,113	0,079	0,075	0,089	0,081	0,086	0,133	0,131
0,076	0,085	0,077	0,084	0,105	0,115	0,088	0,126	0,068	0,074	0,090	0,101
0,422	0,209	0,143	0,175	0,197	0,142	0,144	0,155	0,182	0,168	0,156	0,156

FIG. 8c

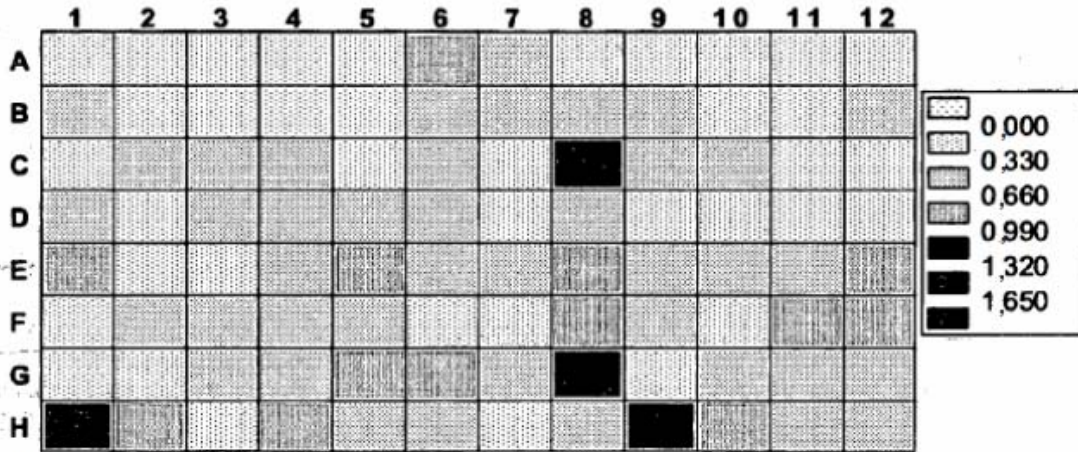
Experimento IV.

ELISA con CyDye 3-dCTP de los clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos usando el cebador ELISAT3P

(5'-

TAGCTCGGTAAACGCCGGCTTCCGTCGCGACCACGTP5TTCGTGGTCGCGACGGAAGCCG

--3', P1 = Biotina)



Limite superior = 1,650

Limite inferior = 0,000

0,104	0,141	0,226	0,316	0,244	0,878	0,352	0,107	0,310	0,147	0,090	0,022
0,578	0,014	0,029	0,255	0,297	0,629	0,541	0,347	0,346	0,191	0,206	0,522
0,261	0,516	0,399	0,643	0,188	0,339	0,285	1,051	0,546	0,501	0,174	0,183
0,651	0,277	0,372	0,540	0,444	0,485	0,311	0,569	0,236	0,173	0,222	0,077
0,716	0,143	0,215	0,574	0,782	0,492	0,509	0,910	0,617	0,615	0,515	0,719
0,019	0,380	0,331	0,336	0,582	0,187	0,253	0,768	0,391	0,285	0,829	0,789
0,291	0,174	0,388	0,363	0,735	0,827	0,435	1,072	0,230	0,332	0,545	0,394
1,673	0,724	0,031	0,795	0,454	0,400	0,297	0,649	1,139	0,755	0,407	0,509

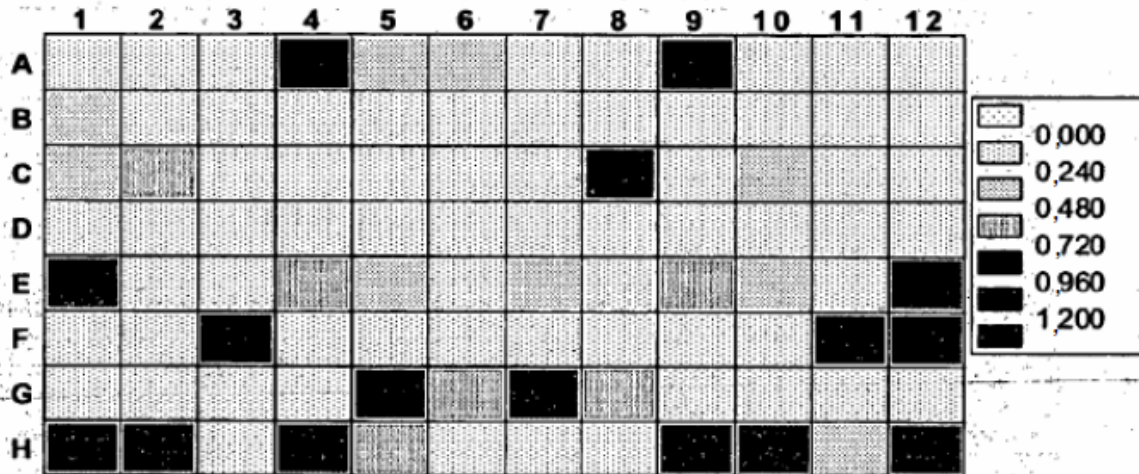
FIG. 8d

Experimento V.

ELISA de los clones seleccionados por la extensión de 4 desapareamientos usando el cebador de ELISA de tipo horquilla que contiene un sitio abásico.

(Cebador: Pscreen1Abas; 1 = sitio abásico; 5 = U-biotina; secuencia:

AGCTACCATGCCTGCACGCAG1CGGCATCCGTCGCGACCACGTT5TTCGTGGTCGCGAC
GGATGCCG)

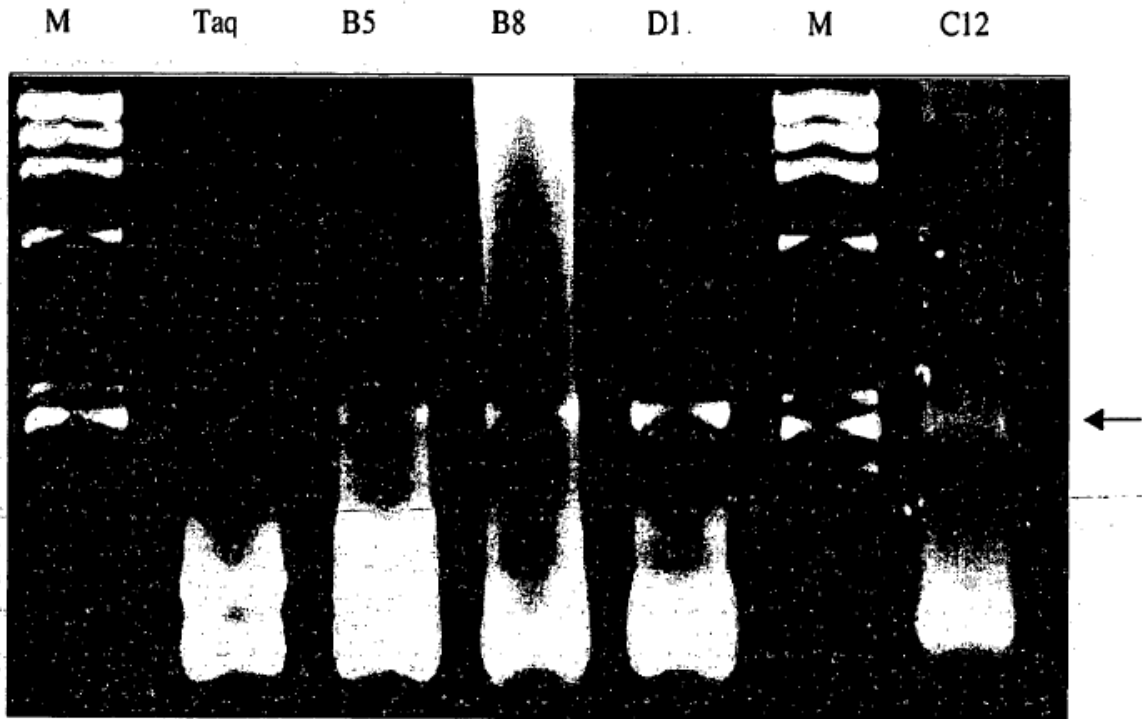


Límite superior = 1,200

Límite inferior = 0,000

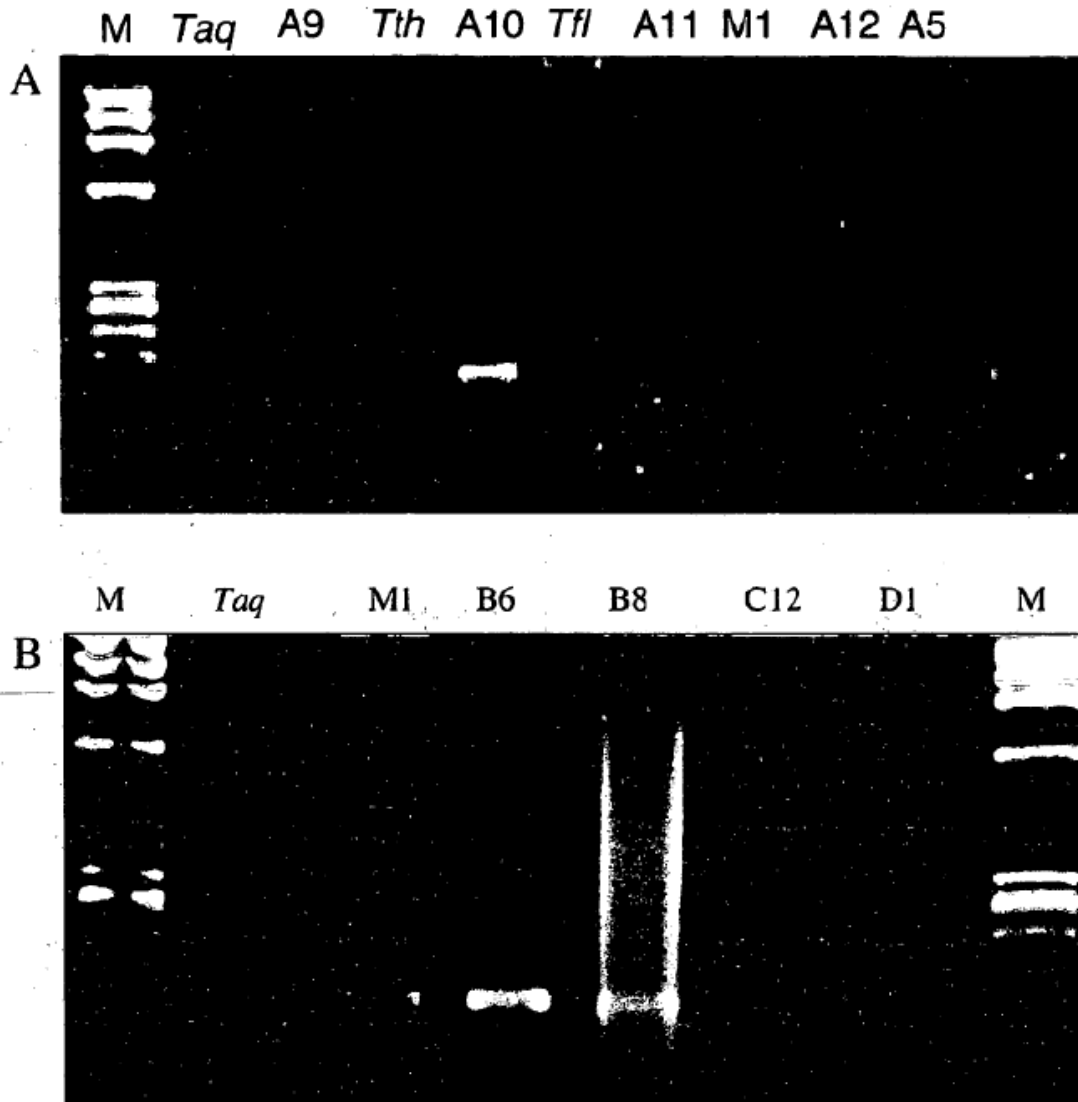
0,075	0,092	0,137	0,882	0,453	0,441	0,185	0,058	0,931	0,108	0,040	0,023
0,445	0,011	0,035	0,096	0,095	0,086	0,059	0,093	0,089	0,071	0,037	0,113
0,314	0,512	0,091	0,113	0,086	0,092	0,083	0,746	0,122	0,304	0,065	0,093
0,144	0,098	0,063	0,071	0,129	0,093	0,107	0,095	0,019	0,089	0,110	0,079
1,170	0,220	0,073	0,563	0,343	0,099	0,280	0,099	0,596	0,442	0,135	0,883
0,025	0,077	0,913	0,094	0,150	0,062	0,229	0,092	0,087	0,271	0,814	0,912
0,099	0,075	0,102	0,021	0,742	0,666	0,990	0,659	0,063	0,095	0,070	0,105
0,913	0,957	0,038	1,382	0,575	0,101	0,105	0,125	0,761	1,099	0,285	0,800

FIG. 8e



Extensión de 4 apareamientos erróneos en PCR

FIG. 9



Evitación del sitio abásico en PCR

FIG. 10

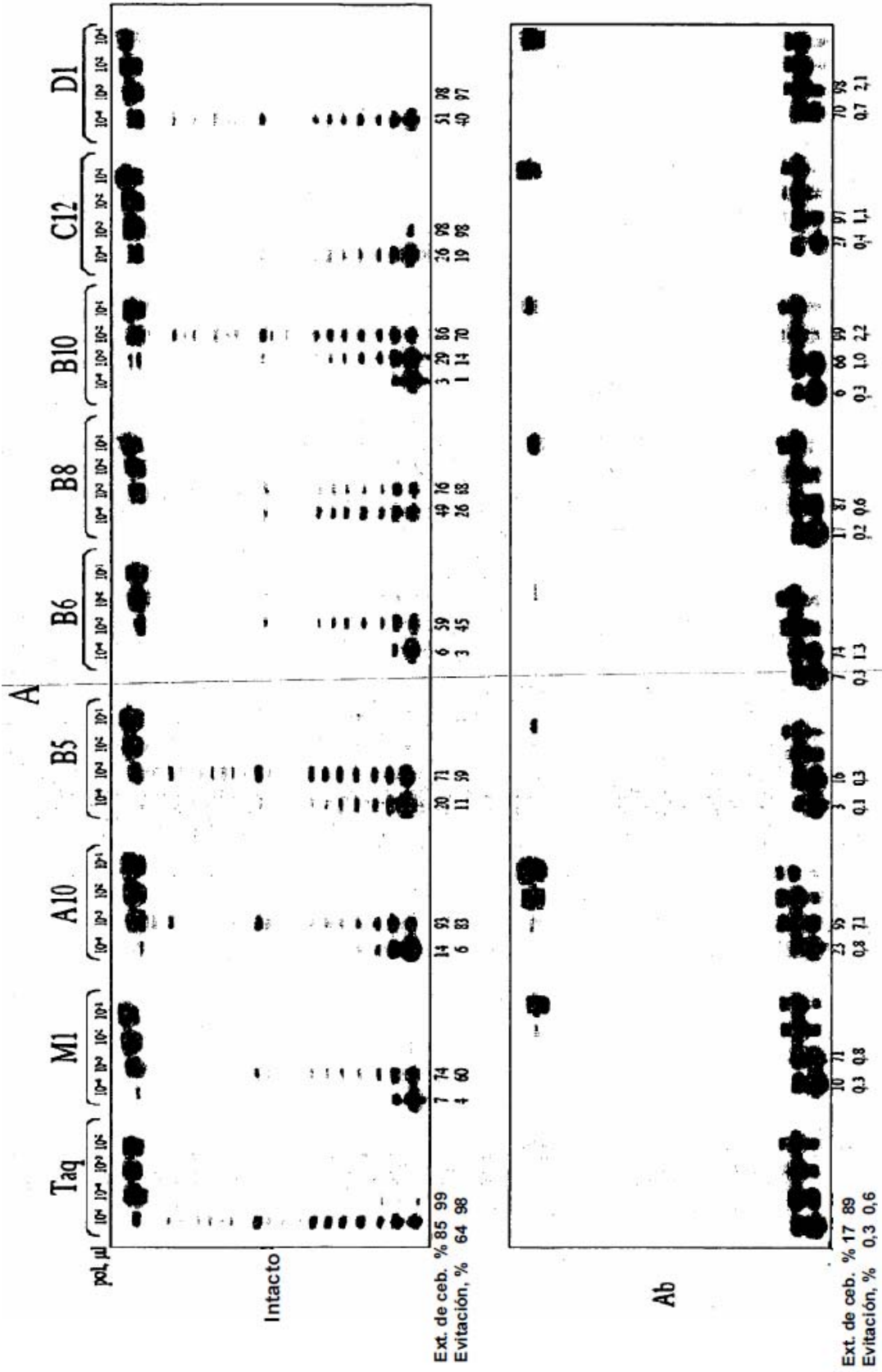


FIG. 11

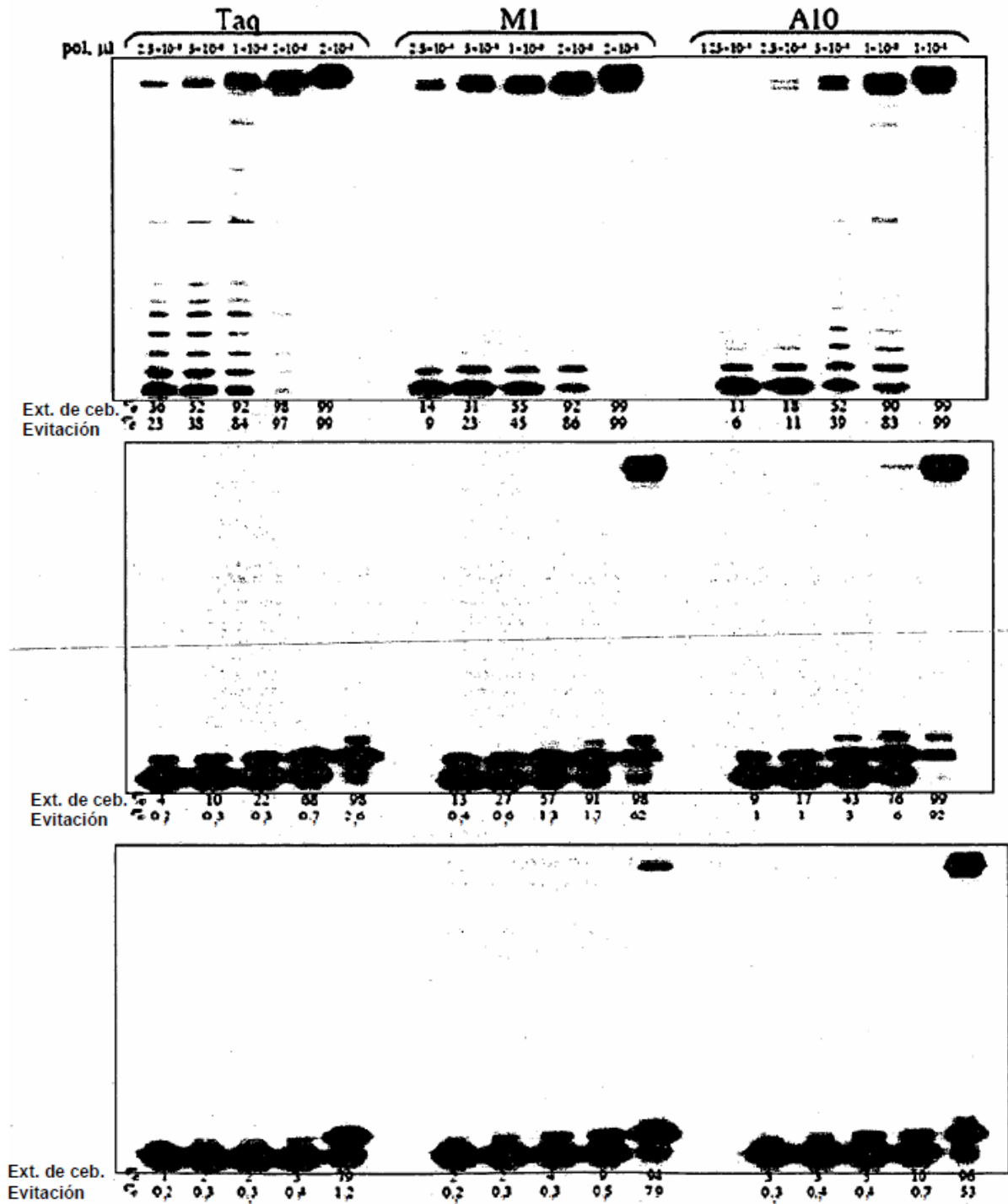


FIG. 11 continuación

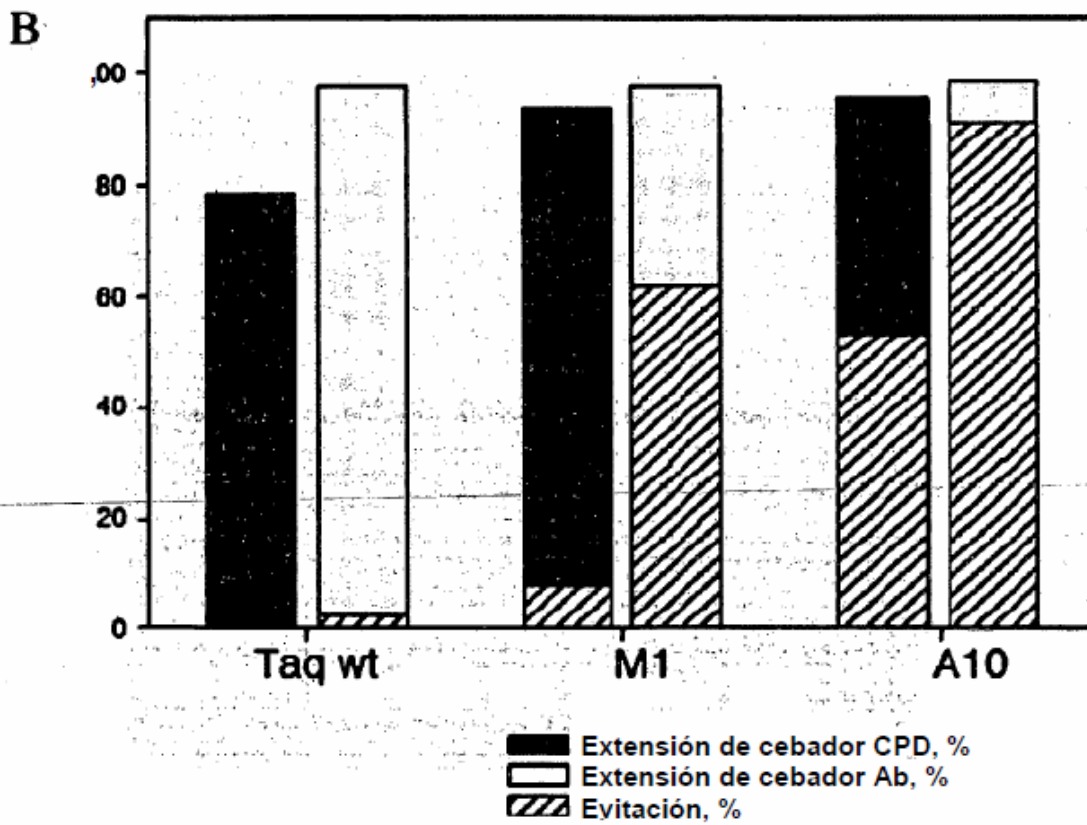
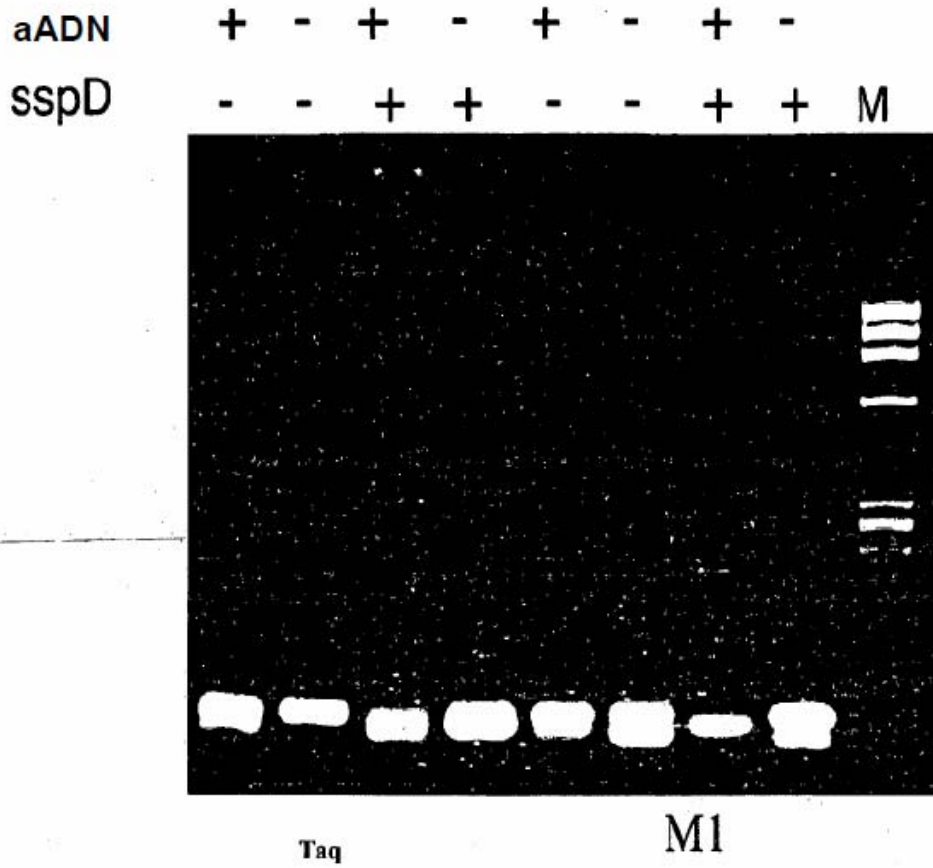


FIG. 11 continuación



Amplificación por PCR de una mezcla de extractos de hiena cavernaria (*Crocuta spelea*) que anteriormente no había producido ningún producto de amplificación.

FIG. 12

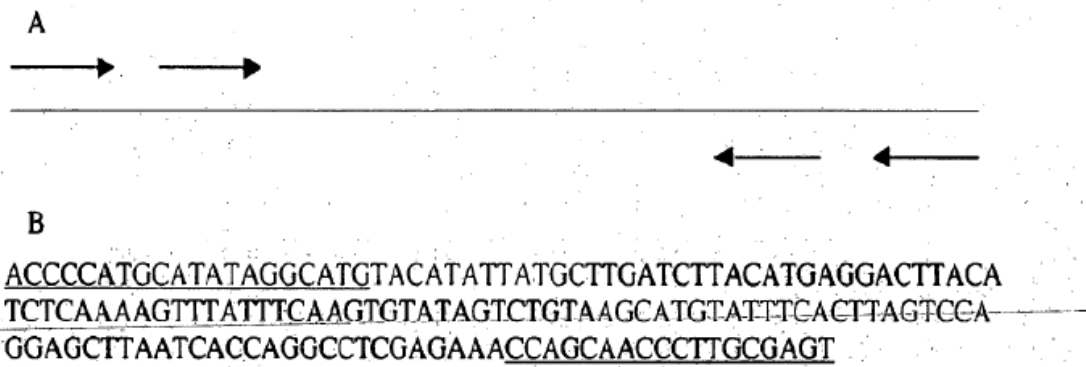


FIG. 13

Experimento	Muestra	Dilución	SuperTaq		Mezcla mutante		Mejora
			PCR positiva	PCR negativa	PCR positiva	PCR negativa	
1	GS3-7	500	24	12	28	8	16 %
2	GS3-7	2000	2	22	5	19	150 %
3	GS3-7	1000	21	27	24	24	14 %
4	366	5	2	2	4	0	100 %
5	366	10	12	12	16	8	33 %
6	GS3-7	1000	12	36	14	34	16 %
7	GS3-7	1000	10	14	7	17	-30 %
8	GS3-7	1000	12	36	13	35	8 %
9	GS3-7	1000	12	36	13	35	8 %
Total			107	197	124	180	15 %

PCRS en presencia de cantidades limitantes de aADN de oso cavernario

FIG. 14

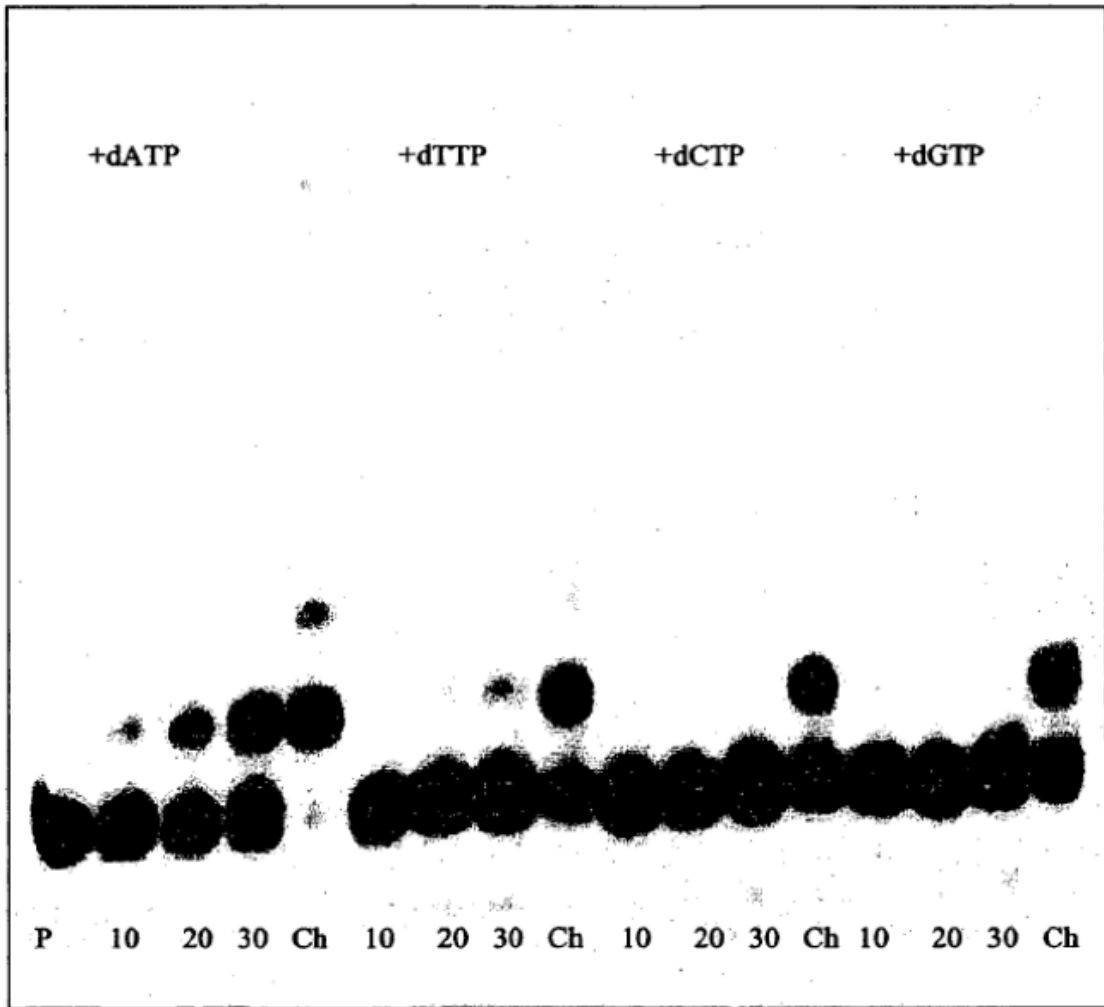


FIG. 15

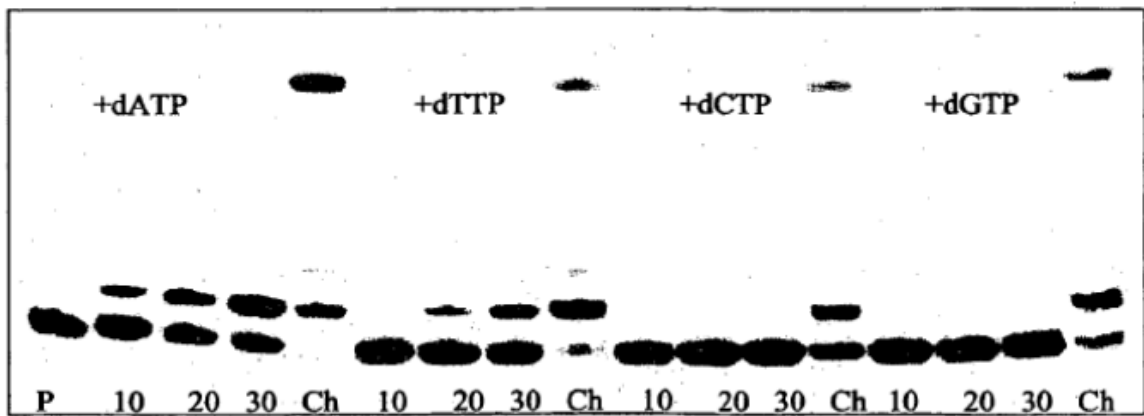


FIG. 16

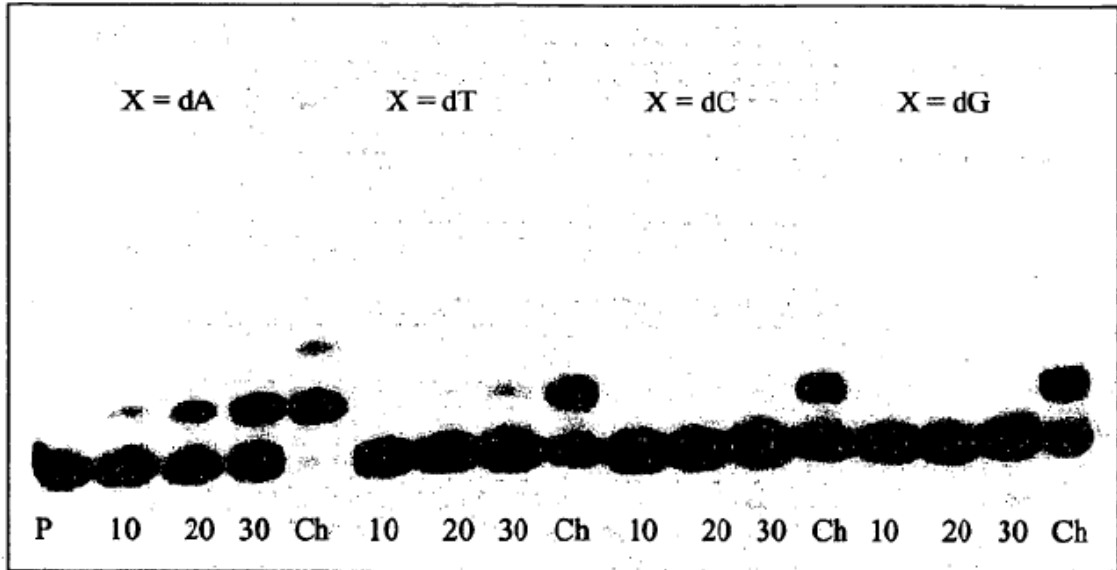


FIG. 17

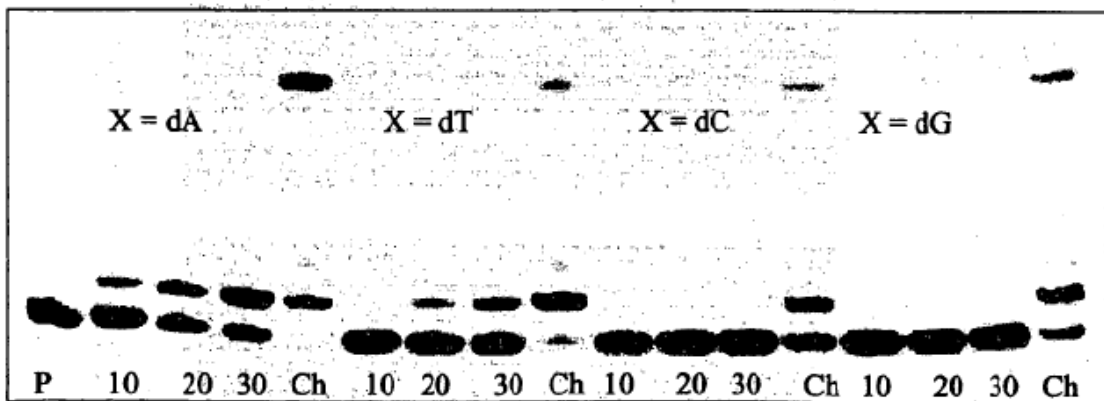


FIG. 18

Hibridaciones con micromatrices de sondas marcadas con FITC

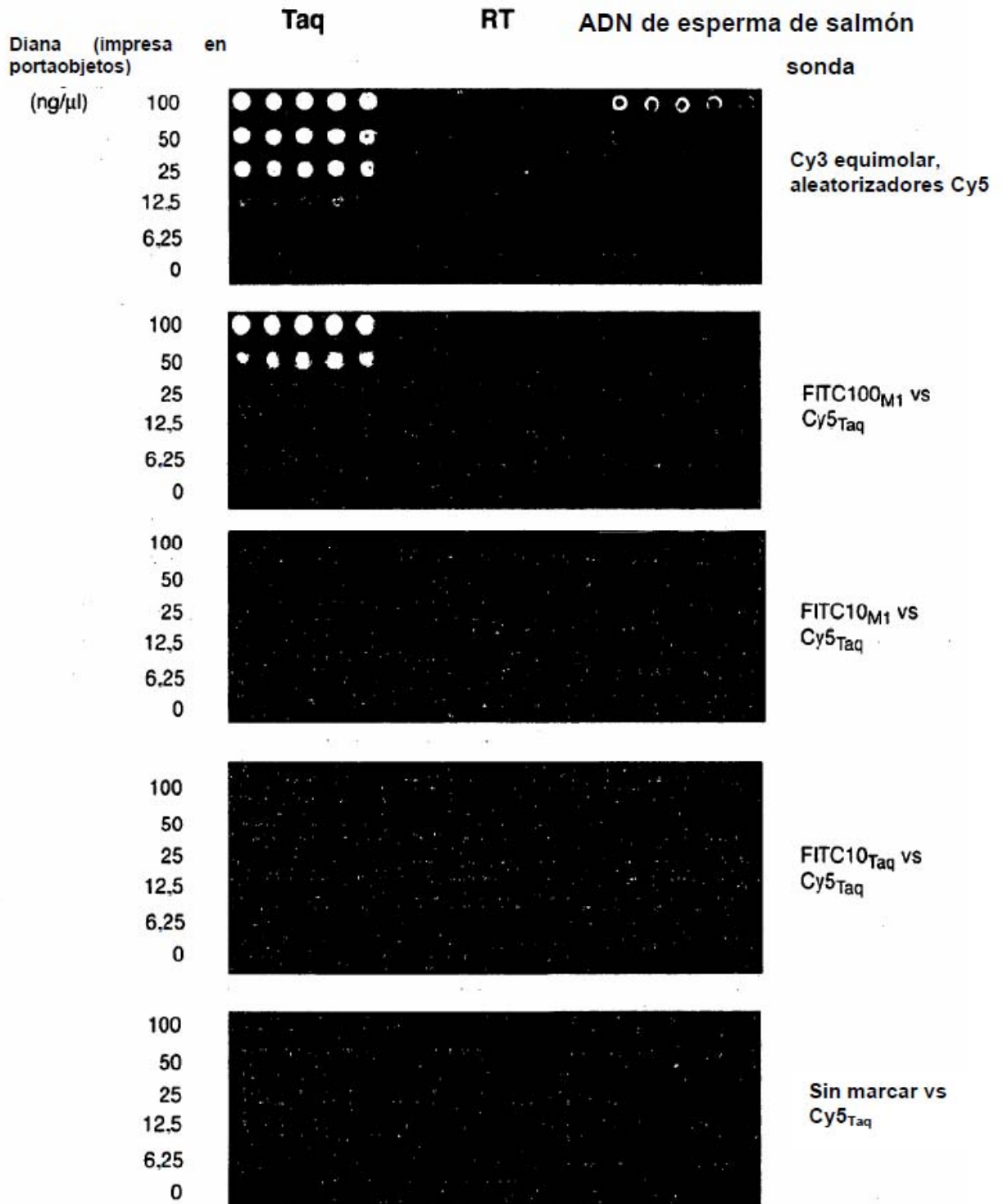
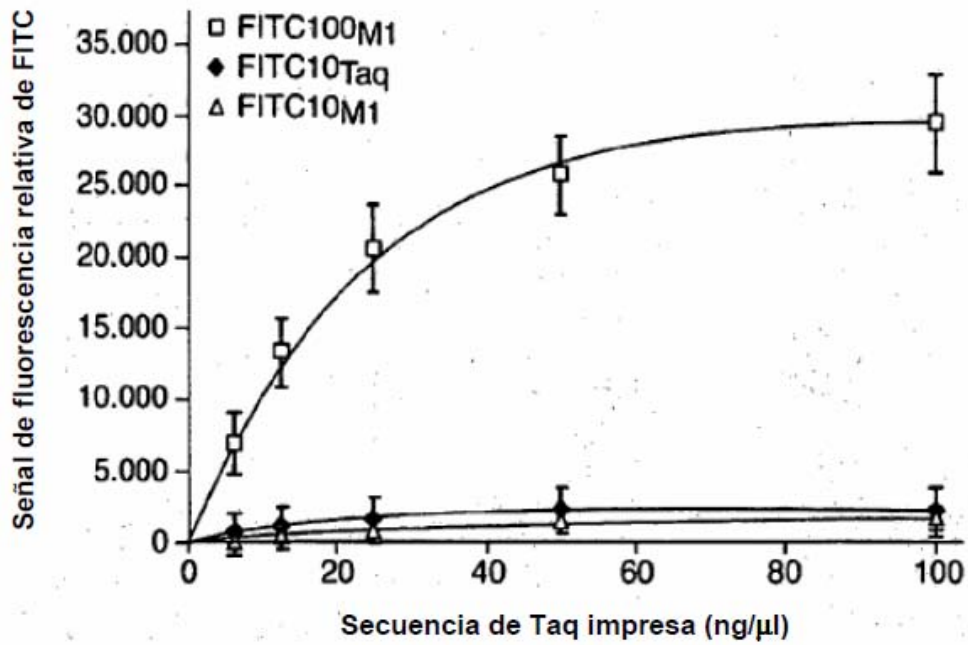


FIG. 19



Análisis con micromatriz de sondas marcadas con FITC

FIG. 20

Señales de micromatrices de sondas marcadas con FITC

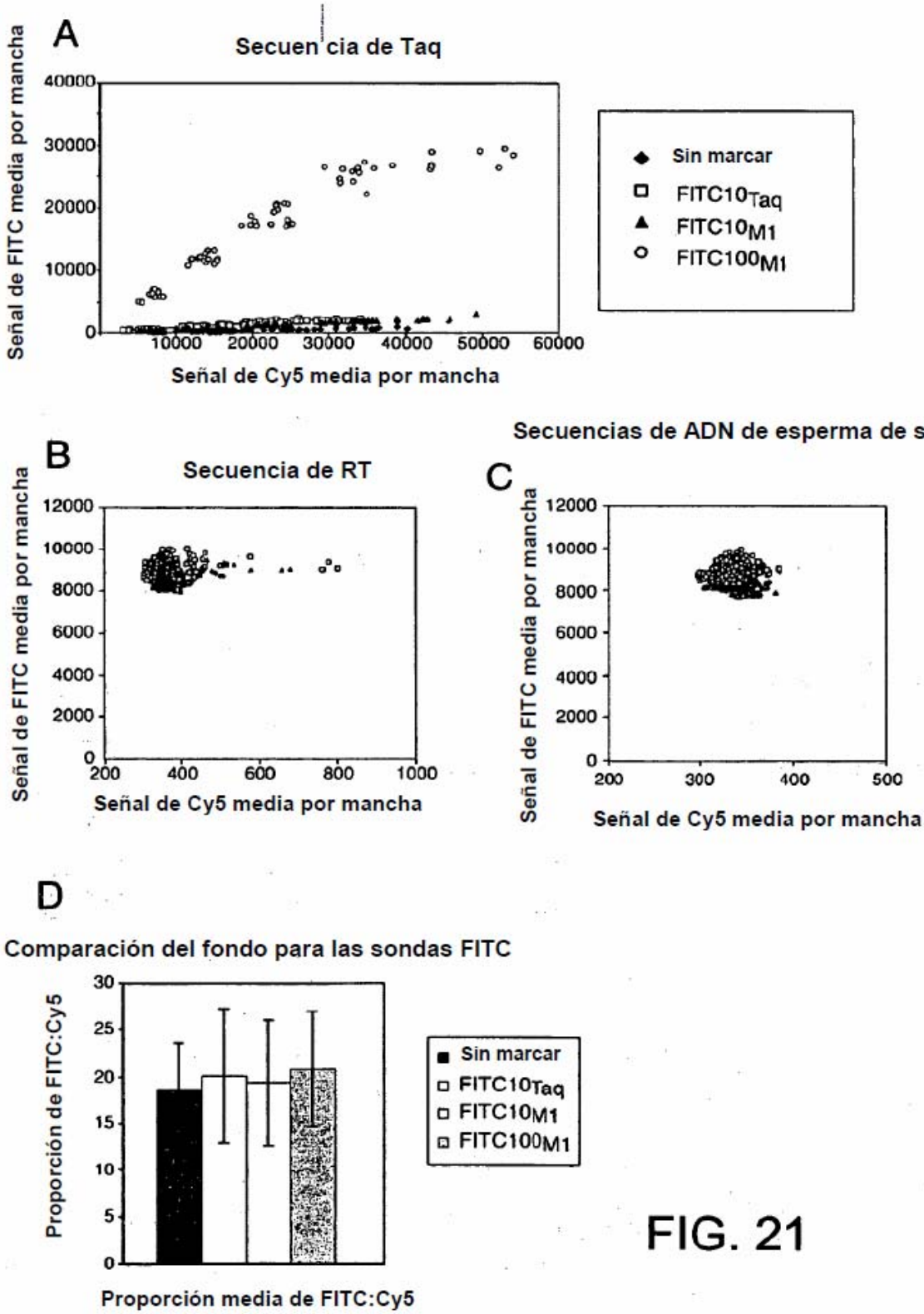


FIG. 21

Fidelidad

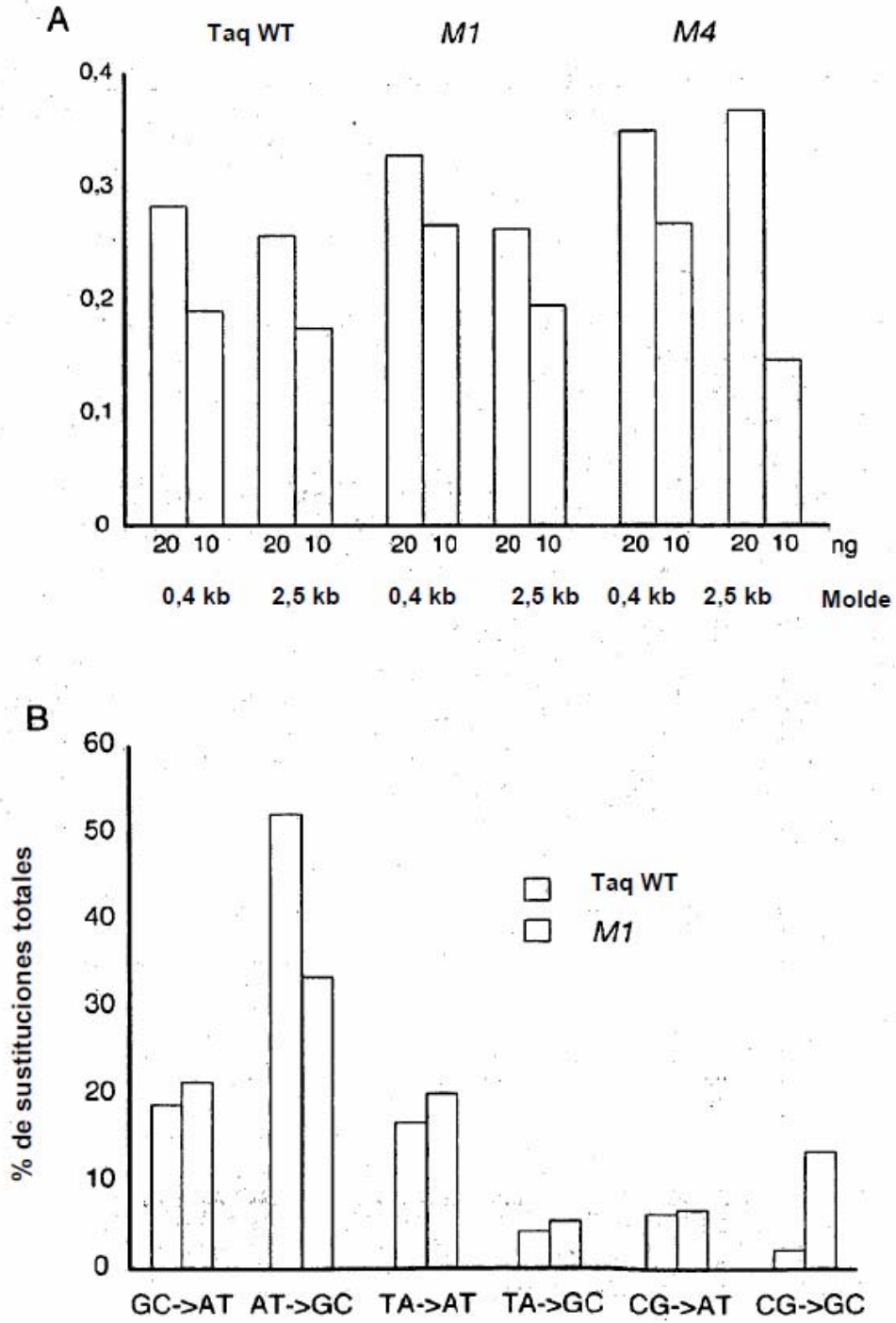


FIG. 22

Capacidad de procesamiento

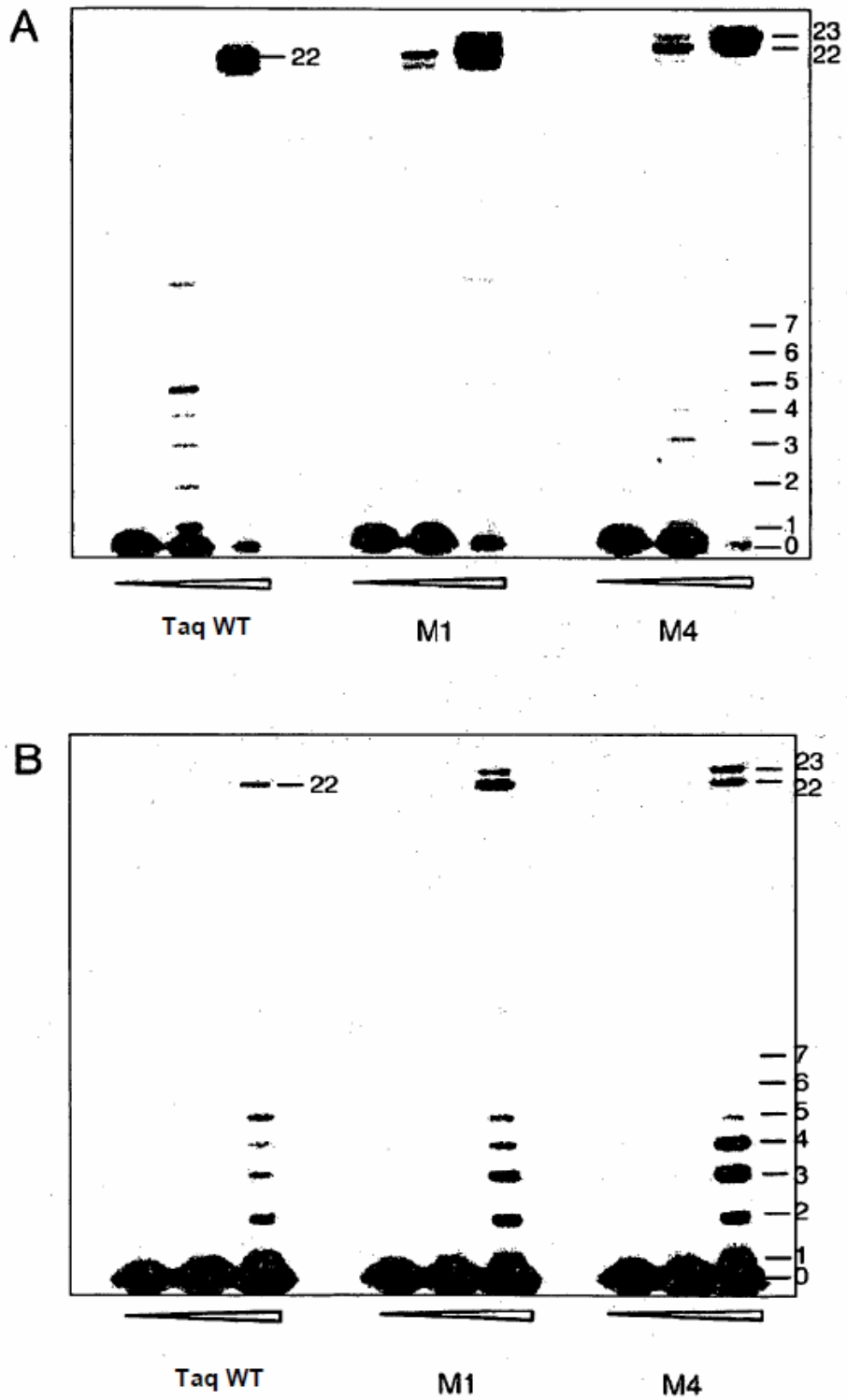


FIG. 23