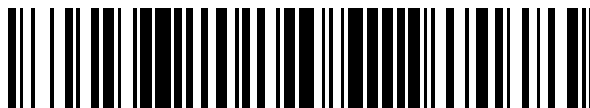


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 877**

21 Número de solicitud: 201430538

51 Int. Cl.:

C25B 1/04 (2006.01)

C25B 11/06 (2006.01)

C12N 9/02 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

11.04.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

12.11.2015

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2015/070285

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)**

**Serrano, 117
28006 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**PITA MARTÍNEZ, Marcos;
LÓPEZ DE LACEY, Antonio;
ALCALDE GALEOTE, Miguel;
MATÉ MATE, Diana;
GONZÁLEZ PÉREZ, David y
SHELEEV, Sergey**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

54 Título: **Uso de lacasas para la separación electrolítica del agua**

57 Resumen:

El uso de lacasas para la separación electrolítica de agua o para la generación electrocatalítica de oxígeno a partir de agua, un electrodo enzimático para tal aplicación, un método para la generación electrolítica de oxígeno a partir de agua, y una celda electrolítica y un aparato para la separación de agua, conteniendo el electrodo enzimático de la invención.

ES 2 550 877 A1

DESCRIPCIÓN

Uso de Lacasas para la separación electrolítica del agua**Estado de la técnica****La electrolisis del agua para la generación de oxígeno e hidrógeno**

La electrolisis del agua es la descomposición del agua (H_2O) en oxígeno O_2 y gas hidrógeno H_2 gracias a una corriente eléctrica que pasa a través del agua. Es una ruta muy accesible para sintetizar O_2 y H_2 .

Para separar el agua en sus componentes elementales O_2 y H_2 , se conecta una fuente eléctrica a dos electrodos o placas que se sitúan dentro del agua. El H_2 se genera en el cátodo (reducción a H_2 molecular) y el oxígeno se genera en el ánodo (oxidación a oxígeno molecular). La principal dificultad para acometer la electrolisis del agua es encontrar catalizadores apropiados para llevar a cabo ambas reacciones redox a una alta velocidad y a bajos sobrepotenciales aplicados.

La descomposición del agua pura en hidrógeno y oxígeno a temperatura y presión estándares no es favorable en términos termodinámicos. De este modo, la electrolisis del agua requiere un exceso de energía en la forma de sobrepotencial para superar varias barreras de activación. Sin el exceso de energía la electrolisis del agua sucede muy despacio, o no sucede. Ésto se debe en parte a la limitada auto-ionización del agua. La conductividad eléctrica del agua pura es mucho menor que, por ejemplo, el agua de mar, debido a su alto contenido en electrolitos. La eficiencia de la electrolisis del agua puede, entonces, incrementarse por la adición de un electrolito (tales como una sal soluble, un ácido o una base) y su uso en electrocatálisis. Actualmente el proceso electrolítico prácticamente no se usa en aplicaciones industriales ya que el hidrógeno puede producirse de manera más económica desde combustibles fósiles.

La electrolisis del agua en condiciones estándar requiere un mínimo teórico de 237 kJ de energía eléctrica aplicada para disociar un mol de agua, que es la energía libre de Gibbs estándar para la formación del agua. En muchas ocasiones, aunque de modo incorrecto, la entalpía estándar de formación del agua líquida se usa como referencia (286 kJ/mol), o posiblemente la del agua vapor (242 kJ/mol). Éstos también se indican habitualmente como los valores de caloríficos superior (Higher Heating Value, HHV) e inferior (Lower Heating Value, LHV) del hidrógeno.

Ya que cada mol de agua necesita dos moles de electrones, y dado que la constante de Faraday, F , representa la carga de un mol de electrones (96485 C/mol), se deduce que el

potencial mínimo para la electrólisis es aproximadamente 1,23 V [*Werner Zittel; Reinhold Wurster (1996-07-08) "Chapter 3: Production of Hydrogen. Part 4: Production from electricity by means of electrolysis"*]. Si se usa el HHV como referencia, el potencial obtenido es 1,48 eV, el potencial termoneutral.

- 5 En el caso de la electrólisis del agua, la energía libre de Gibbs representa el trabajo mínimo necesario para que suceda la reacción, y la entalpía de reacción es la cantidad de energía (trabajo y calor juntas) que tiene que suministrarse de modo que los productos de reacción están a la misma temperatura que los reactivos (por ejemplo, la temperatura estándar para los valores dados anteriormente). Esto implica que un electrolizador ideal, 100% eficiente
10 produciría hidrógeno y oxígeno a temperatura más baja que el agua suministrada. Un electrolizador operando a 1,48 V únicamente presentaría una eficiencia del 83%, y produciría hidrógeno y oxígeno a la misma temperatura que el agua suministrada.

De esta manera, los electrolizadores de agua reales requieren potenciales mayores para que suceda la reacción. La parte que excede 1,23 V se llama sobrepotencial, y representa
15 cualquier tipo de pérdida y condición no ideal del proceso electroquímico.

Para una celda bien diseñada el potencial mayor es el sobrepotencial de reacción para el proceso de oxidación de 4 electrones de agua a oxígeno en el ánodo; existen electrocatalizadores que pueden facilitar esta reacción, y las aleaciones de platino son el actual estado de la técnica para esta oxidación. El desarrollo de un electrocatalizador barato
20 y eficaz para esta reacción sería un gran avance, y es un campo de investigación activo. La reacción de dos electrones para producir hidrógeno en el cátodo, que es más sencilla, puede ser electrocatalizada prácticamente sin sobrepotencial por un electrodo de platino, o en teoría con una enzima hidrogenasa. En el caso de emplear otros materiales, menos efectivos, para el cátodo (por ejemplo, grafito), aparecerán sobrepotenciales significativos.

25 Hasta la fecha, únicamente se ha utilizado un catalizador enzimático para la producción de O₂ en la electrólisis del agua, en particular el Fotosistema II (Photosystem II, PSII), mientras que el electrodo de O₂ tiene un efecto substancial en la actuación y durabilidad de los electrolizadores de agua, dada su cinética intrínsecamente lenta y su pobre durabilidad. Además, es posible enlazar el PSII a un electrodo y oxidar H₂O a O₂ con la ayuda de la luz
30 solar, pero su tamaño, la falta de estabilidad y su complejidad hacen que la tarea sea inabordable. El sistema tiene al menos dos inconvenientes: las dificultades para inmovilizar el complejo enzimático sobre los electrodos y que la electrólisis del agua tiene que

acarrear bajo la acción de la luz visible, la cual si falta priva al PSII de llevar a cabo su actividad [Kato, M et al., *JACS* (2013), 135, 10610-3].

Las hidrogenasas tolerantes al O₂ son consideradas como bioelectrocatalizadores eficientes para la producción de H₂ [Armstrong, FA et al., *Chem. Soc. Rev.* (2009), 38 (1), 36-51; Shafaat, HS et al., *Biochim. Biophys. Acta* (2013), 1827 (8-9), 986-1002].

Hasta la fecha, no se han descrito otros catalizadores enzimáticos para la electrólisis del agua.

Oxígeno: producción y usos

10 El oxígeno generalmente se produce industrialmente por destilación fraccionada de aire licuado, usando zeolitas con ciclos de presión para concentrar el oxígeno del aire, por electrólisis de agua y por otros medios. Los usos del oxígeno elemental incluyen la producción de acero, plásticos y materiales textiles, soldaduras, juntas, corte de aceros y otros metales, propulsores de cohetes, terapia de oxígeno, y sistemas de soporte vital en
15 aeronaves, submarinos, vuelos espaciales y buceo.

La toma de oxígeno del aire es el propósito esencial de la respiración, por lo que la suplementación con oxígeno se utiliza en medicina. La terapia con oxígeno se usa para tratar varias enfermedades y condiciones como el enfisema, neumonía, algunos desórdenes cardíacos (fallo cardíaco congestivo), algunos desórdenes que causan un incremento en la
20 presión arterial pulmonar, y cualquier enfermedad que limita la capacidad del cuerpo para tomar y usar oxígeno gaseoso. Otros usos son: el tratamiento de agua; trajes espaciales; suplementos de oxígeno adicionales para gente que escala montañas o vuela en aviones no presurizados de ala fija; suplementos de emergencia de oxígeno en aviones comerciales presurizados para los casos de despresurización de la cabina; usos industriales como el
25 corte y soldadura de metales y la transformación del hierro en acero; en industria química para, por ejemplo, hacer reaccionar el etileno para crear el óxido de etileno, que, posteriormente, se puede convertir en etilenglicol, usado en, por ejemplo, la fabricación de anticongelantes y polímeros como el poliéster (precursor de muchos plásticos y tejidos).

30

Hidrógeno

Actualmente sólo el 5% del gas hidrógeno producido en el mundo se genera por electrólisis del agua. El hidrógeno se obtiene fundamentalmente de recursos fósiles (como el metano), pero estos recursos no son sostenibles. La mayoría del hidrógeno se usa cercano al sitio
 5 donde se produce, siendo los dos usos mayoritarios el procesado de combustibles fósiles (craqueo de petróleo en presencia de hidrógeno, hidrocrqueo) y la producción de amoníaco, sobre todo para el mercado de fertilizantes.

Lacasas

Las lacasas son enzimas oxidasas que contienen cobre y se encuentran en muchas plantas,
 10 hongos, microorganismos e insectos. Las oxidasas multicobre azules se componen de un centro activo poblado por cuatro cationes de cobre que catalizan la oxidación de muchos compuestos orgánicos e inorgánicos, tales como orto- y paradifenoles, aminofenoles, polifenoles, poliaminas, ligninas y arildiaminas usando O_2 como el único aceptor de electrones, generalmente a valores ácidos de pH [*Morozova, OV et al., Biochemistry (2007),*
 15 *72 (10), 1136-50*]. El mecanismo general de la lacasa incluye la oxidación de un substrato reductor en el sitio de cobre T1 con la consecuente reducción de O_2 a agua en el cluster trinuclear de cobre T2/T3, situado a una distancia de 12-13 Å, sin liberar intermedios tóxicos como el peróxido.

Las lacasas se pueden inhibir con iones pequeños tales como azida, haluros, cianuros; este
 20 tipo de iones se juntan al cluster T2/T3 e impiden la transferencia electrónica entre los centros de cobre, y por lo tanto reduciendo su actividad.

Las lacasas se han estudiado ampliamente en bioelectroquímica como biocatalizadores en pilas de combustible enzimáticas, usando el cátodo como donante de electrones para
 25 reducción de O_2 . Hasta el momento no se ha descrito ninguna actividad reversible para la lacasa.

Las lacasas son unas de las pocas oxidorreductasas comercializadas como catalizadores industriales. Las enzimas se pueden usar para el tinte y acabado de productos textiles, fabricación de corchos para vino, blanqueadores dentales, biorremediación, que son todos
 ellos usos relacionados con procesos oxidativos.

30 En cualquier caso, ningún tipo de actividad inversa para esta oxidorreductasa parece haber sido descrito nunca, por ejemplo la oxidación de agua a través de su cluster de cobre, a

pesar de que la enzima se ha utilizado ampliamente como bioelectrocatalizador para la reducción de O_2 [Shleev, S et al., *Biosens. Bioelectron.* (2005), 20 (12), 2517-54; Cracknell, JA et al., *Chem. Rev.* (2008), 108 (7), 2439-61].

5 RESUMEN DE LA INVENCION

Ahora se ha encontrado que las lacasas catalizan la electrooxidación de agua a oxígeno molecular. Lacasas, tanto nativas como evolucionadas en laboratorio, han sido inmovilizadas sobre electrodos y han demostrado que funcionan como sistemas bioelectrocatalíticos con bajo sobrepotencial y una alta ratio de evolución de O_2 frente a la producción de H_2O_2 durante la electrólisis del agua.

De este modo, de acuerdo con un primer aspecto de la presente invención se refiere al uso de una lacasa para catalizar la generación electrocatalítica de O_2 partiendo de agua.

Otro aspecto de la presente invención es un electrodo enzimático para el uso en la generación electrolítica de O_2 a partir de agua caracterizada en que contiene un miembro base electroconductor y al menos una enzima inmovilizada, seleccionada de la familia de enzimas lacasas.

La invención también está relacionada, en un aspecto adicional, con un método para la generación electrolítica de O_2 a partir de agua, que comprende el paso de poner agua en contacto con un cátodo y un ánodo, cuando la enzima, seleccionada de la familia de enzimas de las lacasas, es inmovilizada sobre el ánodo.

Otro aspecto de la presente invención es una celda electrolítica que comprenda:

- un recipiente para contener o recibir agua, y
- al menos un electrodo enzimático como el descrito arriba.

Un último aspecto de la presente invención es un aparato para separar agua electrocatalíticamente, donde el aparato contenga una o un grupo de celdas tales y como se han definido arriba.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Detalles estructurales para el sitio activo del mutante ChU-B (A) y ThLc (*Trametes hirsuta*) (B). Los residuos de aminoácidos están resaltados en modo de vuelo (“stick mode”) y coloreados con el código CPK. Las estructuras globales se muestran a modo de dibujo (“cartoon mode”). Los iones de cobre se muestran como grandes esferas identificadas como T1, T2, T3a y T3b; las moléculas de agua se muestran como pequeñas esferas y están identificadas como HOH. Las líneas de rayas indican las interacciones entre los iones cobre y los aminoácidos involucrados en el sitio activo. Las mutaciones introducidas en ChU-B están subrayadas. El mutante ChU-B se ha modelizado usando la plantilla 2HRG de la lacasa de *Trametes trogii* (97% de identidad de secuencia con ChU-B); el modelo de ThLc se tomó de la estructura PDB ID:3FPX.

Figura 2.

(A) Esquema mostrando el prototipo del bioánodo basado en ThLc.

(B) CVs (voltamogramas cíclicos) para la reducción de O_2 : (a) respuesta de fondo dada por un electrodo sin enzimas (NH_2 -LDG), (b) respuesta inicial de un electrodo de ThLc-LDG, (c) respuesta tras un experimento de producción anódica de O_2 , (d) respuesta del electrodo tras 18 h de regeneración.

(C) CVs de oxidación del agua: (a) respuesta inicial de un electrodo de NH_2 -LDG, (b) primer ciclo de un electrodo de ThLc-LDG recién preparado, (c) segundo ciclo de un electrodo de ThLc-LDG recién preparado, (d) primer ciclo de un electrodo de ThLc-LDG tras 18 horas de regeneración, (e) segundo ciclo de un electrodo de ThLc-LDG tras 18 horas de regeneración.

(D) CVs cíclicos de oxidación de agua en presencia de 30 mM NaF: (a) electrodo NH_2 -LDG, (b) primer ciclo del electrodo ThLc-LDG, (c) segundo ciclo del electrodo ThLc-LDG.

Figura 3. (A) CVs (voltamogramas cíclicos) mostrando el primer (línea sólida) y el segundo (línea a rayas) ciclo de (a) electrodo NH_2 -LDG, (b) primer ciclo del electrodo ChU-B-LDG, (c) electrodo de ChU-B-LDG tras una chronoamperometría de 30 minutos a un potencial constante de +1,2 V vs. NHE.

(B) Cronoamperometrías para (a) electrodo NH_2 -LDG, (b) electrodo ThLc-LDG, (c) electrodo ChU-B-LDG.

Figura 4. Método enzimático diseñado para la determinación de $[O_2]$ y $[H_2O_2]$.

Figura 5. Alineamiento de secuencias de ChU-B y ThLc. Las posiciones conservadas se marcan con un asterisco. Los puntos indican que se conserva la polaridad del aminoácido.

5 **Figura 6.** CVs (voltamogramas cíclicos) para la reducción de O_2 tomados usando un electrodo de ChU-B-LDG (línea a rayas) y un electrodo de aminoaryl-LDG (línea sólida) de +0,9 V a +0,2 V vs. NHE a una velocidad de 10 mV/s en tampón acetato 100 mM a pH 4,2, conteniendo 100 mM de perclorato sódico enriquecido en O_2 por borboteo durante 10 minutos antes de la medida.

10 **Figura 7.** CVS (voltamogramas cíclicos) para la reducción de O_2 tomados usando un electrodo de ThLc-LDG antes (línea sólida) y después (línea a rayas) de una cronoamperometría de 30 minutos medida a un potencial de +1,2 V vs. NHE. Las medidas se realizaron desde +1V hasta 0,2V vs. NHE a una velocidad de 10 mV/s en tampón acetato 100 mM a pH 4,2, conteniendo 100 mM de perclorato sódico enriquecido en O_2 por borboteo durante 10 minutos antes de la medida.

15

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Tal y como se indica arriba, la presente invención se relaciona con el uso de una lacasa para la catálisis de la generación electrocatalítica del oxígeno molecular O_2 a partir del agua. Preferentemente, la lacasa se inmoviliza sobre el ánodo.

20 En el marco de la presente invención “inmovilizada” significa unida covalentemente al ánodo, adsorbida sobre el ánodo, inmovilizada electrostáticamente sobre el ánodo, unida mediante quelatos al ánodo, unida por monocapas autoensambladas, diazotación, procesos de “click-chemistry”, uniones avidina-biotina, formación de enlaces con maleimida, formación de un recubrimiento sobre el ánodo, secada sobre el ánodo, encerrada en un liposoma que
25 se inmoviliza sobre el ánodo, o por el uso de un polímero y/o un agente de entrecruzamiento.

El ánodo contiene un material electroconductor seleccionado de uno, más de uno, o un compuesto/mezcla de grafito (incluyendo grafito de baja densidad (LDG), grafito espectroscópico, grafito pirolítico altamente ordenado, carbono vítreo, etc.), óxido de
30 manganeso, fibras de carbono, carbono activo, negro de carbono, biocarbón, fibras de

5 carbono, partículas de carbono, láminas de carbono, grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno reducido, nanotubos de carbono, platino, acero inoxidable, iridio, oro, germanio, plata, cobre, molibdeno, óxido de indio y estaño, óxido de estaño dopado con flúor, diamante dopado con boro, etc. La superficie de dicho ánodo puede ser modificada con el fin de facilitar la inmovilización de la enzima en su superficie.

En una configuración preferida, “inmovilizada” significa unida covalentemente al ánodo.

10 En una configuración particular, el electrodo contiene grafito de baja densidad, grafito de baja densidad dopado con nanopartículas de oro, electrodo de oro modificado con nanopartículas de oro; en una configuración particular, el grafito de baja densidad (LDG) se modifica con grupos aminoarilo, aminonaftoico, aminoantraceno o aminas alifáticas [Gutierrez-Sanchez, C et al., *Electrochimica Acta* (2012), 82, 218-23; Gutierrez-Sanchez, C et al., *JACS* (2012), 134 (41), 17212-20], aquí incluidas como referencia], monocapas mixtas incluyendo 10-50% de grupos amina primaria y completadas con uno o más grupos funcionales que pueden seleccionarse de, pero no restringido a, hidroxilos, carbonilos, 15 carboxilos, amidas y tioles. En una configuración preferente, el LDG se modifica con grupos aminoarilo.

La lacasa se puede modificar adecuadamente antes de la inmovilización sobre el electrodo, de modo que se facilite el enlace covalente. Por ejemplo, una lacasa se puede modificar con grupos aldehído en su superficie antes de su inmovilización; esto se puede hacer, por 20 ejemplo, por tratamiento con NaIO_4 [Gupta, G et al. *Electroanalysis* (2004), 16 (13-14), 1182-5, aquí incluida como referencia]. En el caso del LDG modificado con grupos aminoarilo, la enzima se puede inmovilizar sobre el electrodo por formación de un enlace imino, y entonces unirla covalentemente al mismo por enlace carbodiimida.

25 Un método adicional para inmovilizar la enzima sobre el electrodo puede ser el uso de inmovilización dirigida, por ejemplo via “click chemistry”, la introducción de grupos químicos únicos en estructuras proteicas por medio de aminoácidos no naturales, especialmente aminoácidos funcionalizados con azidas, o la modificación de grupos existentes dentro de los aminoácidos originales, facilita la formación de enlaces covalentes con la superficie del electrodo, modificado por ejemplo con grupos alquino o ester, por medio de la reacción 30 conocida como ligado de Staudinger.

Cuando la lacasa se inmoviliza sobre el electrodo usando un polímero y un agente de entrecruzamiento, ejemplos de polímeros adecuados que pueden usarse para inmovilizar la

enzima incluyen polivinil imidazol, polialilamina, poliaminoácidos (poli-lisina, etc), polipirrol, ácido poli-actílico, polivinil alcohol, polietilenimina, polivinilpirrolidona, polivinilpiridina, etc. Agentes de entrecruzamiento adecuados incluyen, pero no se limitan, al éter polietilenglicol diglicidil, glutaraldehido, etc. Se pueden encontrar más detalles en WO2011/145000, incluido aquí como referencia.

Para un experto en el estado de la técnica serán evidentes otros medios de inmovilizar la enzima sobre el electrodo.

De acuerdo con una configuración particular, la lacasa de la invención es una lacasa de hongo, por ejemplo la fuente de la lacasa de origen micótico. Ejemplos de ello, pero no limitados a éstos, son *Trametes hirsuta*, *Trametes versicolor*, *Trametes trogii*, *Trametes villosa*, *Rhus vernificera*, PM1. Preferentemente es *Trametes hirsuta*.

Preferiblemente, la lacasa es de alto potencial redox, teniendo un valor de $E^{0'}$ para el sitio T1 entre 700 y 800 mV frente a NHE [*Reinhammar, BRM et al., Biochim. Biophys. Acta (1972), 275, 245–59*; *Xu, F et al., Biochim. Biophys. Acta (1996), 1292, 303–11*; *Koroleva, OV et al., Biochemistry (2001), 66, 618–22*], en una configuración particular entre 730 y 780 mV frente a NHE.

Preferiblemente, la lacasa es resistente a aniones. Las lacasas pueden diseñarse y modificarse específicamente para evitar los inhibidores aniónicos, por ejemplo haluros e hidroxilos. Un ejemplo es ChU-B [*Mate, DM et al., Chem. Biol. (2013), 20 (2), 223-31*] (SEQ ID NO 2). Semejante propiedad se puede alcanzar por modificación de la esfera de coordinación primaria y secundaria del sitio del cobre T1, modificación de la esfera de coordinación primaria y secundaria del cluster T2/T3, el camino de transferencia electrónica intramolecular que une el sitio T1 y el T2/T3 y/o los aminoácidos involucrados en los canales de acceso bien del sitio T1 o del T2/T3.

En una realización preferida, al menos el 40% de las lacasas se inmovilizan con el sitio T2/T3 orientado hacia el electrodo. Esto significa que la distancia desde el cluster T2/T3 hasta la superficie del electrodo es suficientemente pequeña como para comunicar eléctricamente y permitir la transferencia de electrones sin necesitar un mediador. En configuraciones particulares, al menos el 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% de las lacasas están inmovilizadas con su cluster T2/T3 mirando al electrodo, o incluso la totalidad, por ejemplo el 100%. Esto se puede lograr por la inmovilización covalente de la lacasa a través de los residuos cercanos al canal de entrada del sitio T2/T3 a los grupos funcionales

de la superficie del electrodo.

En una realización particular, la lacasa es la procedente de *Trametes hirsuta* o una que tenga una alta identidad con esta la casa, por ejemplo, la lacasa comprende:

a) la secuencia SEQ ID NO 1; o

- 5 b) una variante de la secuencia de a) que tenga al menos un 70% de identidad con la SEQ ID NO 1, basada en la identidad de la totalidad de los aminoácidos de dicha secuencia.

En el marco de la presente invención, el término “% de identidad de secuencia” en relación con las secuencias de aminoácidos significa el porcentaje determinado por el uso del siguiente método: el alineamiento de dos secuencias de aminoácidos uno con otro o de dos
10 secuencias de ácidos nucleicos una con otras se llevan a cabo por el siguiente servicio <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/> donde los ajustes son los que se proporcionan por defectos en <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>.

De acuerdo con las realizaciones preferidas, la identidad de la secuencia a la SEQ ID NO 1 es al menos 77%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos
15 99%. En un caso particular, la lacasa comprende la secuencia SEQ ID NO 1.

De acuerdo con una realización particular, la lacasa es el mutante modificado genéticamente ChU-B [Mate, DM et al., *Chem. Biol.* (2013), 20 (2), 223-31], por ejemplo, la lacasa comprende:

a) la secuencia SEQ ID NO 2; o

- 20 b) una variante de la secuencia de a) que tenga al menos un 70% de identidad con la SEQ ID NO 2, basada en la identidad de la totalidad de los aminoácidos de dicha secuencia.

De acuerdo con las realizaciones preferidas, la identidad de la secuencia a la SEQ ID NO 2 es al menos 77%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos
25 99%. En una realización particular, la lacasa comprende la secuencia SEQ ID NO 2.

Una realización adicional de la invención es un electrodo enzimático válido para la generación de O₂ a partir de agua o capaz de catalizar la generación electrolítica de O₂, caracterizado de modo que contenga un miembro base electroconductor y al menos una enzima inmovilizada, seleccionada de la familia de enzimas de las lacasas, de acuerdo con cualquiera de las definiciones dadas anteriormente. El electrodo puede contener una lacasa

o más de una lacasa.

Preferentemente la lacasa se une covalentemente al miembro base electroconductor. Detalles adicionales para esto se han dado anteriormente. Análogamente, en una configuración preferida, el electrodo comprende LDG modificado con grupos aminoarilo y la lacasa se ha modificado con residuos aldehído sobre su superficie antes de su inmovilización sobre el ánodo, por ejemplo con tratamiento con NaIO_4 , la lacasa entonces es unida al electrodo mediante un enlace amida formado usando un derivado de carbodiimida.

El electrodo enzimático tal y como se define arriba puede contener, además de una o más lacasas, al menos un catalizador adicional, seleccionado entre PSII (fotosistema II) inmovilizado, peroxidases, superoxidases, microperoxidases, catalasas, oxidases, complejos organometálicos de rutenio [por ejemplo, *J Am Chem Soc.* 2014 Apr 3. [Epub ahead of print], *Electrocatalytic Water Oxidation by a Monomeric Amidate-Ligated Fe(III)-Aqua Complex*, Coggins MK et al], cobalto y hierro [por ejemplo, *Chen, Z et al., JACS (2010), 132 (50), 17670–3*], al igual que partículas metálicas, tales como platino, oro o paladio, etc.

Otro aspecto de la invención es un método para la generación electrolítica de oxígeno a partir de agua, conteniendo el paso de poner el agua en contacto con un cátodo y un ánodo, cuando la enzima, seleccionada de la familia de enzimas de las lacasas, de acuerdo con cualquiera de las definiciones dadas anteriormente, se inmoviliza sobre el ánodo. Es importante que este método pueda llevarse a cabo sin la necesidad de luz solar, a diferencia de PSII, la única enzima conocida hasta la fecha capaz de catalizar la generación electrolítica de O_2 a partir de agua. Cualquiera de las definiciones anteriores de la lacasa, el material del electrodo o ánodo y los métodos de inmovilización de la lacasa sobre el ánodo descritos arriba se pueden aplicar en este método.

De acuerdo con una realización preferida, la lacasa se une covalentemente al ánodo. Los detalles de esta etapa han sido proporcionados anteriormente, y se pueden aplicar al método ya mencionado.

Un aspecto adicional de la invención es la celda electrolítica que comprende:

- un contenedor para contener o recibir agua, y
- al menos un electrodo de acuerdo con las definiciones dadas arriba.

Preferentemente, el potencial eléctrico aplicado a la celda electrolítica mencionada está

entre 1,23 V y +1,48 V, de acuerdo con las configuraciones particulares del potencial eléctrico está entre +1,23 V y +1,4 V, entre +1,23 V y +1,35 V, entre +1,23 V y +1,30 V o entre +1,23 V y +1,25 V.

5 La presente invención también se relaciona con un aparato para separar agua electrocatalíticamente, donde el aparato comprende:

-una o varias celdas, tal y como se describen arriba.

De acuerdo con configuraciones particulares adicionales, la lacasa comprende:

10 a) cualquiera de las secuencias SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 14, SEQ ID NO 15, SEQ ID NO 16, SEQ ID NO 17; o

b) una variante de cualquiera de las secuencias entre SEQ ID NO 3 a SEQ ID NO 17 de a), teniendo al menos un 70% de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias entre SEQ ID NO 3 a SEQ ID NO 17, basadas en la identidad de la totalidad de los aminoácidos de dicha secuencia.

15 De acuerdo con las realizaciones preferidas, la identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias entre SEQ ID NO 3 a SEQ ID NO 17 es, al menos 77%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 99%. En un caso particular, la lacasa comprende cualquiera de las secuencias de SEQ ID NO 3 a SEQ ID NO 17.

20 La SEQ ID NO 17 es la secuencia de la lacasa de *Trametes hirsuta* de acuerdo con EMBL, tal y como se recoge a través de la *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) a fecha de Abril, 10, 2014, con "UniProt Accession Lumber" B2L9C1.

A continuación se describen como ejemplos ilustrativos no limitantes de la presente invención

25 **EJEMPLOS**

MATERIALES

Lacasas

Se han utilizado como biocatalizadores dos lacasas de hongo diferentes:

Enzima nativa de *Trametes hirsuta* (de aquí en adelante ThLc)

Una mutante del basidiomicete PM1 evolucionado en laboratorio, ChU-B18 (de aquí en adelante (CHU-B).

5 Las lacasas se trataron con 10 mg/mL de NaIO_4 durante 45 minutos para proveer de grupos aldehído su superficie y luego fueron inmovilizadas sobre un electrodo de LDG funcionalizado con grupos amino por la formación de un enlace imina. Posteriormente, la enzima se unió covalentemente al electrodo usando enlace con carbodiimida (ver más abajo).

10 Las secuencias de las lacasas de *Trametes hirsuta* y de ChU-B se alinearon con el software T-COFFEE (Fig 5).

Electrodos

15 Se usaron barras de grafito LDG de 3 mm de diámetro (Sigma-Aldrich) como electrodos de trabajo, y se modificaron con grupos aromáticos terminados en aminas siguiendo un procedimiento conocido que sirve para unir las lacasas de manera orientada y covalente al electrodo de grafito [Gutierrez-Sanchez, C et al., *Electrochimica Acta* (2012), 82, 218-23].

MÉTODOS

20 Las medidas electroquímicas se llevaron a cabo en una celda de tres electrodos. Los voltamogramas cíclicos (CVs) de los electrodos modificados para la reducción de O_2 se tomaron entre +1 V y +0,2 V frente al electrodo normal de hidrógeno (NHE) a una velocidad de 10 mV/s en un medio 100 mM de acetato sódico a pH 4,2, conteniendo 100 mM de NaClO_4 como electrolito y enriquecido por borboteo de O_2 durante 10 minutos antes de realizar la medida. Los voltamperogramas anódicos se grabaron usando tampón fosfato 20
25 mM a pH 7,4, conteniendo 100 mM NaClO_4 y bajo una atmósfera de N_2 . Los CVs para un electrodo ThLc-LDG se tomaron entre +0,5 V y +1,2 V a una velocidad de 10 mV/s. Los CVs para un electrodo ChU-B-LDG se tomaron entre +0,7 V y +1,4 V a una velocidad de 10 mV/s. Las medidas de cronoamperometría se grabaron durante 30 minutos a un potencial de +1,2 V vs. NHE.

La cuantificación del O_2 y el H_2O_2 producido se llevó a cabo dentro de una cámara anaerobia (MBraun, $O_2 < 0,1$ ppm) mediante la medida de una cronoamperometría durante 30 minutos a un potencial de +1,2 V vs. NHE en una disolución de 3 mL de tampón fosfato 20 mM, pH = 7,4, conteniendo 100 mM $NaClO_4$. Tras la medida, el volumen de celda se dividió entre tres cubetas para UV-VIS, cada una de ellas completada con (a) 400 μ l de tampón conteniendo ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (Sigma-Aldrich) con una concentración final de 0,65 mM; (b) 400 μ l de tampón conteniendo ABTS) con una concentración final de 0,65 mM, 1 unidad de peroxidasa de rábano tipo VI (HRP)(Sigma Aldrich); y (c) 400 μ l de tampón conteniendo ABTS) con una concentración final de 0,65 mM, 1 unidad de HRP, glucosa (3,6 mM concentración final), y 1 unidad de glucosa oxidasa (GOx) de *Aspergillus niger* (Sigma-Aldrich). Las cubetas se sellaron con un tapón Septum después de la mezcla, se agitó el contenido durante 30s hasta que las reacciones enzimáticas se completaron y finalmente se sacaron de la cámara anaerobia directamente al espectrofotómetro UV-VIS. La cantidad de ABTS oxidado se midió a 405 nm, usando un coeficiente de extinción molar de $38,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Para cada experimento la cubeta (a) nos daba la medida del blanco, la (b) se relacionaba con la concentración de H_2O_2 y (c) – (b) se relacionaba con la concentración de O_2 (Fig 4). Las medidas se realizaron para 4 electrodos NH_2 -LDG, 3 ThLc-LDG, and 3 ChU-B-LDG, 3 electrodos ThLc-LDG y 3 electrodos ChU-B-LDG.

20 *Lacasa Trametes hirsuta, ThLc*

Ejemplo 1:

La lacasa nativa de alto potencial redox ThLc se unió a electrodos de LDG modificados con grupos aminoarilo (ThLc-LDG) [Gutierrez-Sanchez, C et al., Electrochimica Acta (2012), 82, 218-23; Gutierrez-Sanchez, C et al., JACS (2012), 134 (41), 17212-20] (Fig. 1). El LDG tiene un alto sobrepotencial para la producción de O_2 en un experimento electrolítico, en particular cuando se compara con Pt o incluso con Au, de ahí que los resultados se puedan atribuir a la presencia de la lacasa en su superficie.

Ejemplo 2:

La actividad estándar de reducción de O_2 a pHs ácidos se determinó por CV para electrodos de ThLc-LDG. Bajo estas condiciones se obtiene una corriente típicamente bioelectrocatalítica de aproximadamente 30 microamperios (Figura 2B, curva b), indicando que la lacasa inmovilizada era bioelectrocatalíticamente activa para la electrorreducción de

O₂.

Ejemplo 3:

El electrodo ThLc-LDG se introdujo en una celda con tampón fosfato a pH 7,4, en el que la enzima se inhibe para la reducción de O₂ [Shleev, S et al., Biosens. Bioelectron. (2005), 20 (12), 2517-54; Clot, S et al., Electrochemistry Communications (2012), 18, 37-40] pero la producción del mismo debería estar favorecida termodinámica y cinéticamente. Una medida de CV mostró una onda anódica que comenzaba a 0,95 V frente a NHE, lo que está bastante cerca del potencial de equilibrio redox para el par O₂/H₂O bajo estas condiciones (ver arriba), llegando a 80 microamperios a +1,2 V (Figura 2C, curva b). Los ciclos siguientes causaron un descenso en la señal en comparación con el primer ciclo, aunque aún se obtuvieron valores de corriente de aprox. 50 microamperios a +1,2 V (Figura 2B, curva C).

Ejemplo 4:

Se realizaron varios experimentos control. Se comprobó que la producción de O₂ por parte del electrodo modificado con enzima en presencia de NaF 30 mM, un inhibidor natural para el proceso de reducción catalizado por ThLc, no se inhibía. La intensidad de corriente bajo 30 mM de NaF es comparable a la de un experimento típico a pH 7,4 en ausencia de NaF (curva b en Figs. 2C y 2D).

Ejemplo 5:

Como la actividad de ThLc se ve mermada tras varios ciclos de oxidación de agua, se aplicó un periodo de descanso en las condiciones óptimas para la reducción de O₂, i.e. el tampón acetato a pH 4,2 mencionado anteriormente, consiguiendo restaurar parcialmente la actividad (Figura 2B, curva d).

Lacasa mutante ChU-B

La lacasa mutante de alto potencial redox ChU-B [Mate, DM et al., Chem. Biol. (2013), 20 (2), 223-31] se diseñó específicamente para evitar la inhibición por parte de aniones, tales como haluros e hidroxilos, con una identidad de secuencia del 77% y una similaridad del 83% vs. ThLc (Figura 1). Este mutante es el producto de varios ciclos de evolución y aproximaciones híbridas para adaptar la enzima a las condiciones de inclemencia propias de la sangre humana (pH 7,4, con altas concentraciones de cloruros) (Figura 5).

Ejemplo 6:

Usando la misma estrategia descrita para la inmovilización de ThLc descrita anteriormente en el ejemplo 1, la lacasa ChU-B se unió covalentemente a la superficie de un electrodo modificado con grupos aminoarilo.

5 **Ejemplo 7:**

El electrodo ChU-B-LDG se probó en primer lugar para la reducción de O₂ en las mismas condiciones que el electrodo ThLc-LDG por comparación, de acuerdo con el ejemplo 2 descrito arriba (Figura 6). Los resultados electroquímicos demostraron que la transferencia electrónica directa desde el electrodo al sitio T1 de la enzima está menos favorecida que para el sitio T2/T3, de acuerdo con resultados previos para los electrodos ChU-B-LDG [Mate, DM et al., Chem. Biol. (2013), 20 (2), 223-31].

Ejemplo 8:

Los CVs anódicos con el electrodo ChU-B-LDG a pH 7,4, siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo 3 anteriormente, mostraron mayores corrientes anódicas que aquellos registrados para el electrodo ThLc-LDG (Figura 3A, curva b). La Figura 3B muestra medidas de cronoamperometría típicas para electrodos ChU-B-LDG y ThLc-LDG, mientras que el resultado obtenido para electrodos de LDG modificados con aminoarilos (NH₂-LDG) se muestra como control. Se puede apreciar que ambos electrodos modificados con enzimas ofrecen unas corrientes de oxidación mucho mayores que el electrodo control.

20 **Ejemplo 9:**

La regeneración y durabilidad de los electrodos modificados fue evaluada. El electrodo de ThLc-LDG mantuvo una corriente anódica significativa medida por CV, típicamente 70±10% de la inicial, a lo largo de tres experimentos. Entre cada experimento se llevó a cabo una etapa de regeneración mediante la inmersión durante un tiempo igual o superior a 1h en tampón acetato 100 mM pH 4,2. Los electrodos de ChU-B-LDG se midieron a lo largo de tres días, y tratándolos con la misma etapa de regeneración. De manera adicional, se compararon los Cvs antes y después de un proceso de cronoamperometría similar al que se muestra en la Figura 3B. Estos experimentos mostraron una desventaja para los electrodos de ThLc-LDG, ya que su actividad se vió diezmada para su actividad estándar de electrorreducción de O₂ (Figura 6); por el contrario, el electrodo de ChU-B-LDG mantuvo una alta respuesta anódica tras la cronoamperometría (Figura 3A, curva c).

Ejemplo 10:

La detección colorimétrica de los posibles productos (H_2O_2 y O_2) basada en un método enzimático se llevó a cabo por triplicado para corroborar los resultados electroquímicos. La cuantificación de los productos se llevó a cabo dentro de una cámara anaeróbica mediante una medida cronoamperométrica de 30 minutos aplicando un potencial de +1,2 V vs NHE en una disolución de 3 mL de tampón fosfato a pH 7,4 (Figura 3B). Tras cada experimento, la disolución de la celda se separó en tres cubetas de UV-VIS para medir bien el espectro del blanco, el H_2O_2 producido o el O_2 producido por los electrodos enzimáticos (Figura 4). Aproximadamente se obtuvo una concentración de O_2 disuelto de 3 μM , mientras que en el experimento control se detectó en promedio 5 veces menos O_2 . Además, el peróxido detectado en todos los casos es comparable, de modo que debe ser atribuida a la producción no enzimática de H_2O_2 por el grafito. Los resultados indican claramente la habilidad de los electrodos de grafito modificados con lacasa para producir mayoritariamente O_2 a pH neutro mediante la aplicación de un potencial de +1,2 V frente a NHE.

Muestra	$[\text{O}_2] / \mu\text{M}$	$[\text{H}_2\text{O}_2] / \mu\text{M}$	Eficiencia coulombica
$\text{NH}_2\text{-LDG}$	$0,6 \pm 0,4$	$0,5 \pm 0,3$	----
ThLc-LDG	3 ± 1	$0,5 \pm 0,5$	0,11
ChU-B-LDG	$2,9 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,5$	0,16

Tabla 1. $[\text{O}_2]$ y $[\text{H}_2\text{O}_2]$ producido por cada tipo de electrodo durante una medida de cronoamperometría típica, eficiencia coulombica para la formación de O_2 .

SECUENCIAS

SEQ ID NO 1

AVGPPVADLTITDAAVSPDGFSRQAVVNGVTPGPLVAGNIGDRFQLNVIDNLTNHTMLKSTS
 IHWHGFFQHGTNWADGPAFINQCPISPGHSFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
 PFVVYDPNDPHASRYDVDNDDTVITLADWYHTAAKLGPRFPGGADATLINGKGRAPSDSVA
 ELSVIKVTGKRYRFRLVLSLSCNPNTFSIDGHNLTIIEVDSVNSQPLEVDSIQIFAAQRYSFV
 LDANQAVDNYWIRANPNFGNVGFDGGINSAILRYDGAPAVEPTTNQTTSVKPLNEVDLHPL
 VSTPVPGSPSSGGVDKAINMAFNFNNGSNFFINGASFVPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGS
 VYVLPNASIEISFPATAAAPGAPHPFHLHGHTFAVVRSA GSTVYNYDNPIFRD VVSTGTPAA

GDNVTIRFDTNPNPGWFLHCHIDFHLEGGFAVMAEDTPDKAVNPVPQAWS DLCPT YDA
LDPNDQ

SEQ ID NO 2

5 EFSIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKST
SIHWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFlyDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGL
RGPIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNA
DLAVITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFV
LNADQDV DNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLE
10 GTAAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGS
VYSLPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVRSAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPG
DNVTIRFRTDNPGWFLHCHIDEHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPT YDALS
PDDQ

SEQ ID NO 3

15 SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFlyDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFV LNA
DQDV DNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGSVYS
20 LPANADIEISLPATSAAPGFPHPFHLHGHTFAVRSAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGWFLHCHIDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPT YDALSPDD
Q

SEQ ID NO 4

25 SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFlyDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFV LNA
DQDV DNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGSVYS
30 LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVRSAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGWFLHCHIDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPT YDALSPDD

Q

SEQ ID NO 5

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
5 PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVDTGSPGDNV
10 TIRFRTDNPGPWFLHCHIDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPTYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 6

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
15 PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
20 TIRFRTDNPGPWFLHCHVDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPTYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 7

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
25 PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
30 TIRFRTDNPGPWFLHCHIDEHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPTYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 8

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
5 VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAQSSTYNYANPVYRDVVDVTGSPGDNVTI
RFRTDNPGPWFLHCHIDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWSLDCPTYDALSPDDQ

10 SEQ ID NO 9

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCNPNTFSIDGHSLTVIEADGVNLPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
15 DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAQSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWSLDCPTYDALSPDD
Q

20 SEQ ID NO 10

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
25 DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAQSSTYNYANPVYRDVVDVTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDFHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWSLDCPTYDALSPDD
Q

30 SEQ ID NO 11

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI

HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
5 AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDPHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWSDLCPDYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 12

10 SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
15 AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDTHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWSDLCPDYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 13

20 SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTKGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
25 AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDAHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWSDLCPDYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 14

30 SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG

PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
5 LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDGHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPTYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 15

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
10 HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
15 LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVNTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHVDRHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPTYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 16

SIGPVADLTISNGAVSPDGFSRQAILVNDVFPSPPLITGNKGDRFQLNVIDNMTNHTMLKSTSI
20 HWHGFFQHGTNWADGPAFVNQCPISTGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCDGLRG
PIVVYDPQDPHKSLYDVDDDSTVITLADWYHLAAKVGPAAPTADATLINGLGRSINTLNADLA
VITVTGKRYRFRLVSLSCDPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKPQTVDSIQIFPAQRYSFVLNA
DQDVDNYWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTTQTPSTQPLVESALTTLEGT
AAPGNPTPGGVDLALNMAFGFAGGRFTINGASFTPPTVPVLLQILSGAQSAQDLLPSGSVYS
25 LPANADIEISLPATSAAPGFPHPIHLHGHTFAVVRSAAGSSTYNYANPVYRDVVDTGSPGDNV
TIRFRTDNPGPWFLHCHIDSHLEAGFTVMAEDIPDVAATNPVPQAWS DLCPSYDALSPDD
Q

SEQ ID NO 17

MSRFQSLTFINISLVAVAHAAVGPVADLTITDAAVSPDGFSRQAVVNVGTPGPLVAGNIGD
30 RFQLNVIDNLTNHTMLKSTSIHWHGFFQHGTNWADGPAFINQCPISPGHSFLYDFQVPDQA
GTFWYHSHLSTQYCDGLRGPFVVYDPNDPHASRYDVDNDDTVITLADWYHTAAKLGPRFP

GGADATLINGKGRAPSDSPAELSVIKVTKGKRYRFRLVSLSCNPNHTFSIDGHNLTIIEVDSV
NSQPLEVDSIQIFAAQRYSFVLNANQAVDNYWIRANPNFGNVGFDGGINSAILRYDGAPAVE
PTTNQTTSVKPLNEVDLHPLVSTPVPGSPSSGGVDKAINMAFNFNNGSNFFINGASFVPPTVP
VLLQILSGAQT AQDLLPSGSVYVLPNASIEISFPATAAAPGAPHPFHLHGHTFAVRSAGST
5 VYNYDNPIFRDVVSTGTPAAGDNVTIRFDTNPNPGPWFLHCHIDFHLEGGFAVMAEDTPDV
KAVNPVPQAWSDLCPTYDALDPNDQ

REIVINDICACIONES

1. Uso de una lacasa para catalizar la generación electrocatalítica de O₂ molecular a partir de agua.
- 5 2. Uso de una lacasa de acuerdo a la reivindicación 1, donde la lacasa se inmoviliza en el ánodo.
3. Uso de una lacasa de acuerdo con la reivindicación 2, donde la lacasa está unida covalentemente al ánodo, adsorbida sobre el ánodo, inmovilizada electrostáticamente sobre el ánodo, unida por medio de quelatos al ánodo, unida por monocapas autoensambladas, inmovilizada sobre el ánodo por diazotación, inmovilizada sobre el ánodo por procesos de
10 *click-chemistry*, unida por avidina-biotina, mediante la formación de enlaces maleimida, mediante la formación de un recubrimiento sobre el ánodo, secada sobre el ánodo, incluso en un liposoma que se inmoviliza sobre el ánodo, o por medio de un polímero y/o un agente de entrecruzamiento.
4. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3, donde
15 la lacasa se une covalentemente al ánodo.
5. Uso de una lacasa de acuerdo con la reivindicación 4, donde el electrodo incluye grafito de baja densidad modificado con grupos aminoarilo.
6. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 2 a la 5, donde
20 la lacasa está provista de residuos aldehído sobre su superficie antes de la inmovilización sobre el ánodo.
7. Uso de una lacasa de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 6, donde la lacasa es una lacasa fúngica.
8. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, donde la lacasa tiene un potencial para el sitio T1 entre 730 y 780 mV.
- 25 9. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 8, donde la lacasa es resistente a aniones.
10. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 2 a la 9, donde el cluster T2/T3 de la lacasa inmovilizada está orientado hacia el electrodo.
11. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 10,

donde la lacasa comprende:

a) la secuencia SEQ ID NO 1; o

b) una variante de la secuencia de a) que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia a la SEQ ID NO 1, basándose en la identidad de la totalidad de los aminoácidos de dicha secuencia.

5

12. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 11, donde la lacasa comprende la secuencia SEQ ID NO 1.

13. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 10, donde la lacasa comprende:

10 a) la SEQ ID NO 2; o

b) una variante de la secuencia de a) que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO 2, basándose en la identidad de la totalidad de los aminoácidos de dicha secuencia.

14. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 10 y la 13, donde la lacasa comprende la secuencia SEQ ID NO 2.

15

15. Uso de una lacasa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 10, donde la lacasa comprende:

a) cualquiera de las secuencias SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 14, SEQ ID NO 15, SEQ ID NO 16, SEQ ID NO 17; o

20

b) una variante de cualquiera de las secuencias de la SEQ ID NO 3 a la SEQ ID NO 17 de a), que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO 3 a la SEQ ID NO 17, basándose en la identidad de la totalidad de los aminoácidos de dicha secuencia.

16. Un electrodo enzimático adecuado para la generación electrolítica de oxígeno molecular O₂ a partir de agua, caracterizado por comprender un soporte electroconductor y, al menos, una enzima inmovilizada, seleccionada de la familia de enzimas de las lacasas, tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones de la 5 a la 7 y de la 9 a la 13.

25

17. Un electrodo de acuerdo con la reivindicación 16, donde la lacasa está unida

- covalentemente al electrodo, adsorbida sobre el electrodo, inmovilizada electrostáticamente sobre el electrodo, unida por medio de quelatos al electrodo, unida por monocapas autoensambladas, inmovilizada sobre el electrodo por diazotación, inmovilizada sobre el electrodo por procesos de *click-chemistry*, unida por avidina-biotina, unida mediante la
- 5 formación de enlaces maleimida, formando un recubrimiento sobre el electrodo, secada sobre el electrodo, incluida en un liposoma que se inmoviliza sobre el ánodo, o por medio de un polímero y/o un agente de entrecruzamiento.
18. Un electrodo de acuerdo con las reivindicaciones 16 y 17, donde la lacasa está unida covalentemente al miembro soporte electroconductor.
- 10 19. Un electrodo de acuerdo con las reivindicaciones de la 16 a la 18, donde el electrodo incluye grafito de baja densidad con grupos aminoarilo.
20. Un electrodo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 16 a la 19, el cual contiene al menos un catalizador adicional, seleccionado del fotosistema II inmovilizado, peroxidasas, superoxidasas, microperoxidasas, catalasa, oxidasas, complejos
- 15 organometálicos, de rutenio, cobalto, y/o hierro, y partículas metálicas tales como platino, oro o paladio.
21. Un método para la generación electrolítica de oxígeno a partir de agua, que comprenda un paso en el que se ponga el agua en contacto con el cátodo y el ánodo, donde una enzima, seleccionada de la familia de enzimas de las lacasas, se inmoviliza sobre el ánodo
- 20 tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 3 a la 6.
22. Un método de acuerdo con la reivindicación 21, donde la lacasa se une covalentemente al ánodo.
23. Una celda electrolítica que comprenda:
- un contenedor para contener o recibir agua, y
- 25 - al menos un electrodo tal y como se definen en cualquiera de las reivindicaciones de la 16 a la 20.
24. Una celda electrolítica de acuerdo con la reivindicación 23, donde se aplica un potencial eléctrico entre +1,23 V y +1,45 V.
25. Un aparato para la separación electrocatalítica del agua, donde el aparato contenga:

- una o una pluralidad de celdas tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 23 y 24.

Figura 1

A

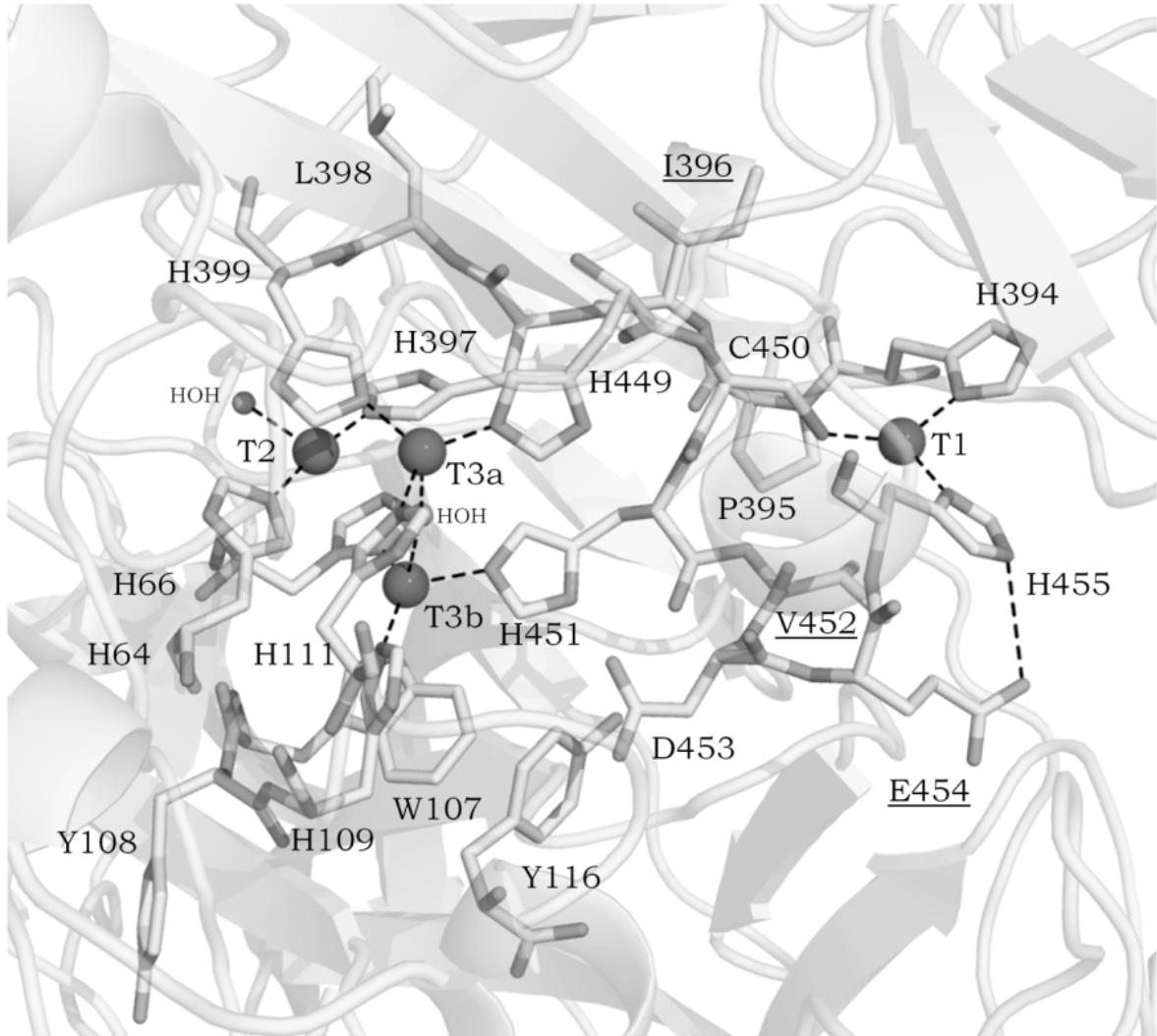


Figura 1

B

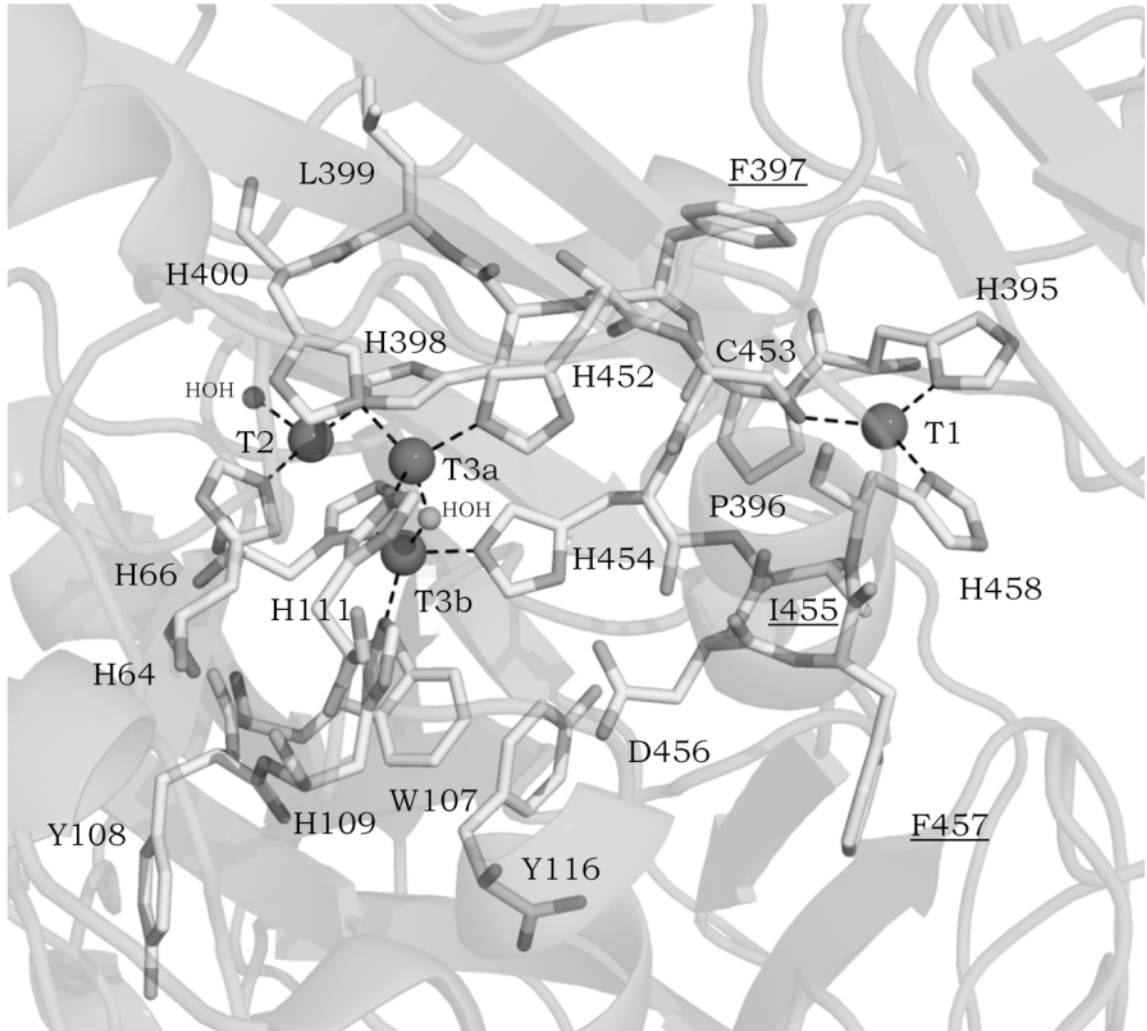


Figura 2

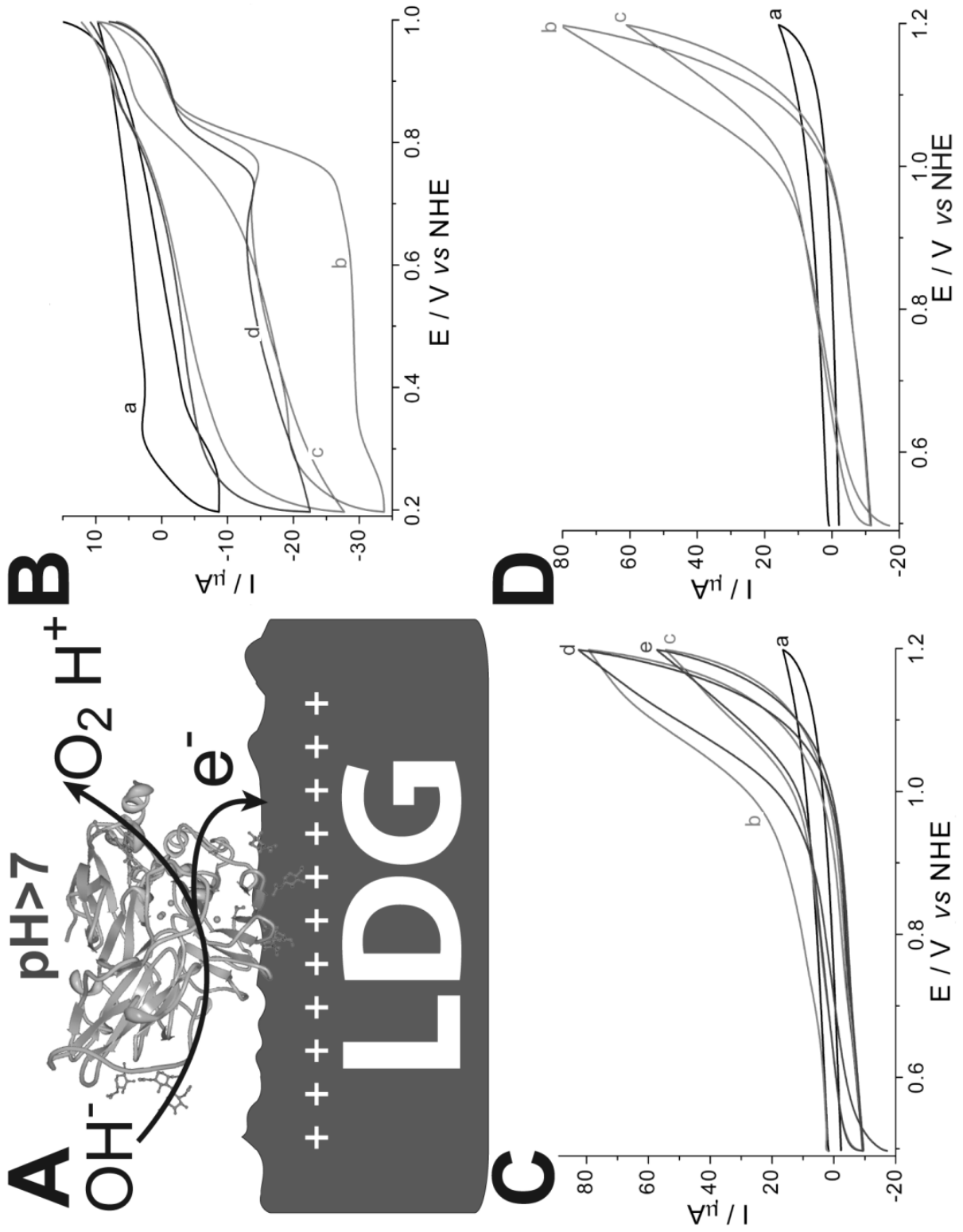


Figura 3

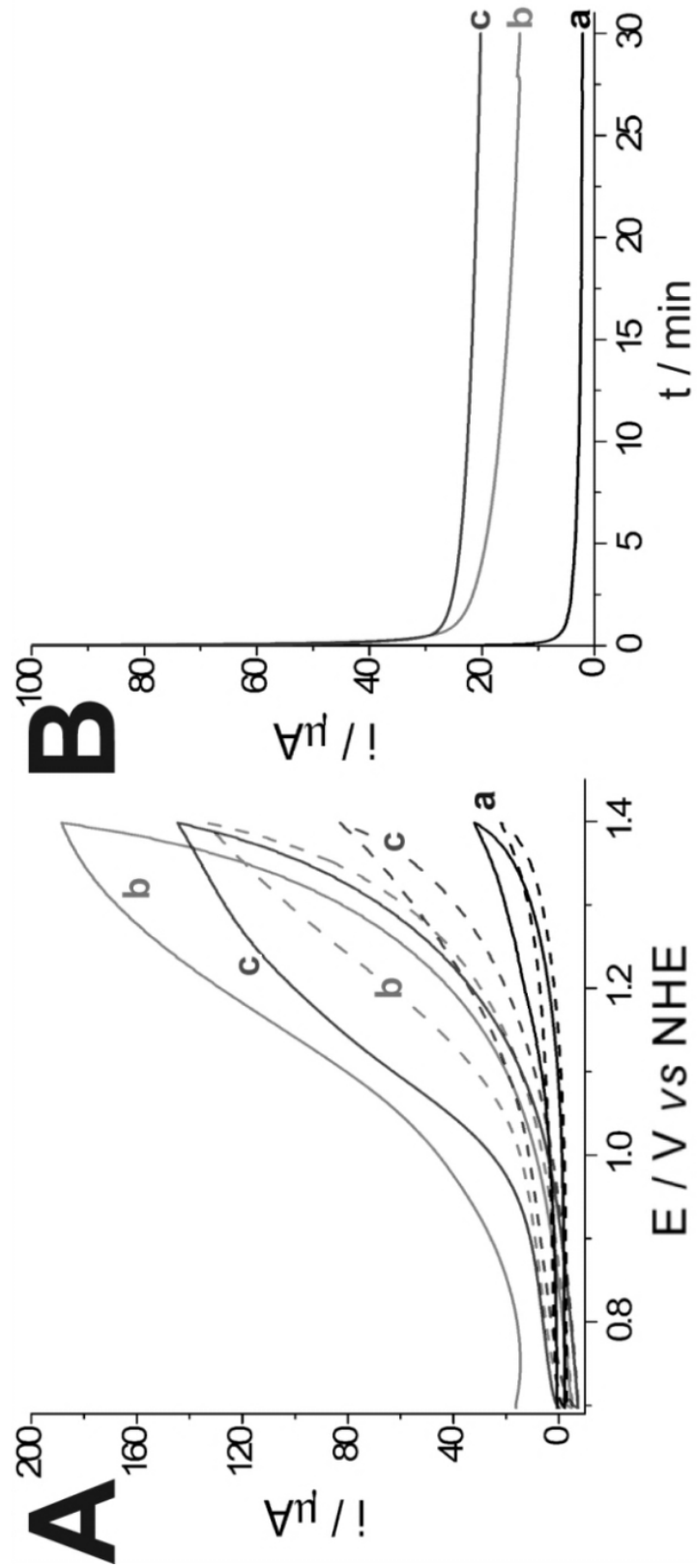


Figura 4

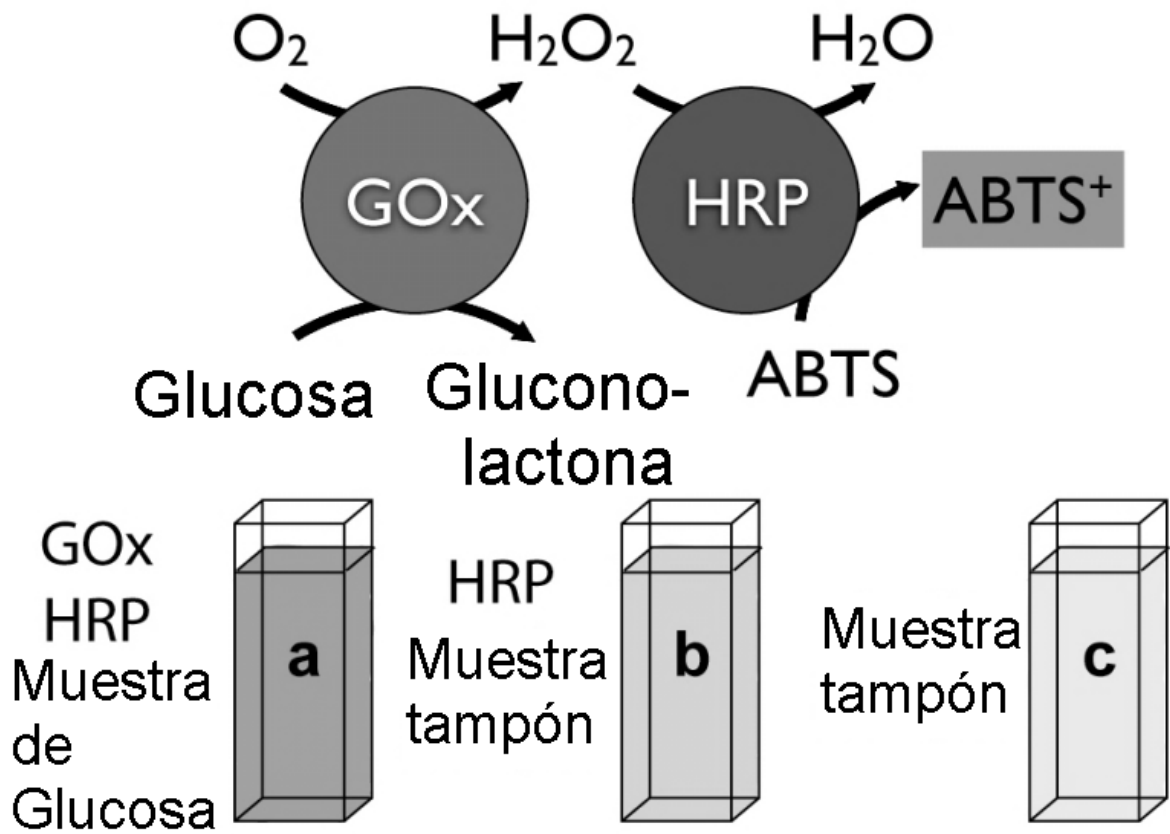


Figura 5

<i>T. hirsuta</i>	--AVGPVADLTI TDAAVSPDGFSRQAVV VNGVTPGPLVAGNIGDRFQLNVIDNLTNHTML	58
ChU-B	EFSIGPVADLTI SNGAVSPDGFSRQAVV VNDVFPSPITGNKDRFQLNVIDNLTNHTML	60
	.*****..*****..** * * * * . * * *****.*****	
<i>T. hirsuta</i>	KSTSIHWHGFFQHG TNWADGPAFV NQCPI SPGHSFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCD	118
ChU-B	KSTSIHWHGFFQHG TNWADGPAFV NQCPI STGHAFLYDFQVPDQAGTFWYHSHLSTQYCD	120
	*****.*****.***** * * *****.*****.*****	
<i>T. hirsuta</i>	GLRGPFVVYDPND PHASRYDVDNDDT VITLADWYHTAAKLGPRFPGGADATLINGKGRAP	178
ChU-B	GLRGPIVVYDPQDP HKSLYDVDNDDT VITLADWYHLAAKVGPAAPT-ADATLINGLRST	179
	*****.*****.***** * * *****.***** * * ***** * *	
<i>T. hirsuta</i>	SDSVAELSVIKVTKGKRYRFR LVSLSLCPNHTFSIDGHNLTIIEVDSVNSQPLEVDSIQI	238
ChU-B	NITLNADLAVITVTKGKRYRFR LVSLSLCPNYTFSIDGHSLTVIEADGVNLKQIVDSIQI	239
	.. * . * * * *****.*****.*****.***** * * * .*****	
<i>T. hirsuta</i>	FAAQRYSFVLDA NQAVDNYWIRANPNFGNVGFDGGINSAILRYDGAPAVEPTTNOTTSVK	298
ChU-B	FPAQRYSFVLNADQD VDNWIRALPNSGTRNFDGGVNSAILRYEGAAPVEPTTQTPSTQ	299
	*.*****. * . * ***** * * * . *****.*****.*****.*****.***** :	
<i>T. hirsuta</i>	PLNEVDLHPLVSTPVP GSPSSGGVDKAINMAFNFGSNFFINGASFVPPTVPVLLQILSG	358
ChU-B	PLVESALTTLEGTAAPGNPT PGGVDLAINMAFGFAGGRFTINGASFPTPPTVPVLLQILSG	359
	** * * * * * .*****.***** * * * * * * * * *****.*****.*****	
<i>T. hirsuta</i>	AQTAQDLLPSGSVYV LPSNASIEISFPATAAAPGAPHPHLHGHTFAVVR SAGSVVNYD	418
ChU-B	AQSAQDLLPSGSVYSL PANADIEISFPATSAAPGFPHPHLHGHTFAVVR SAGSSTYNVA	419
	** .*****.***** * * * * * * * * *****.*****.*****.*****.*****	
<i>T. hirsuta</i>	NPVFRDVVSTGIP AAGDNVTIRFDTNPGPWFLHCHIDFHLEGGFAVVMAEDTPDVKAVN	478
ChU-B	NPVYRDVVNTGSP--GDNVTIRFDTNPGPWFLHCHIDEHLEAGFTVVMAEDI PDVAATN	477
	** .*****.***** * * * * * * * * *****.*****.*****.***** * * *	
<i>T. hirsuta</i>	PVPQAWS DLCPTYDAL PNDQ	499
ChU-B	PVPQAWS DLCPTYDAL PDDQ	498
	*****.*****.*****	

Figura 6

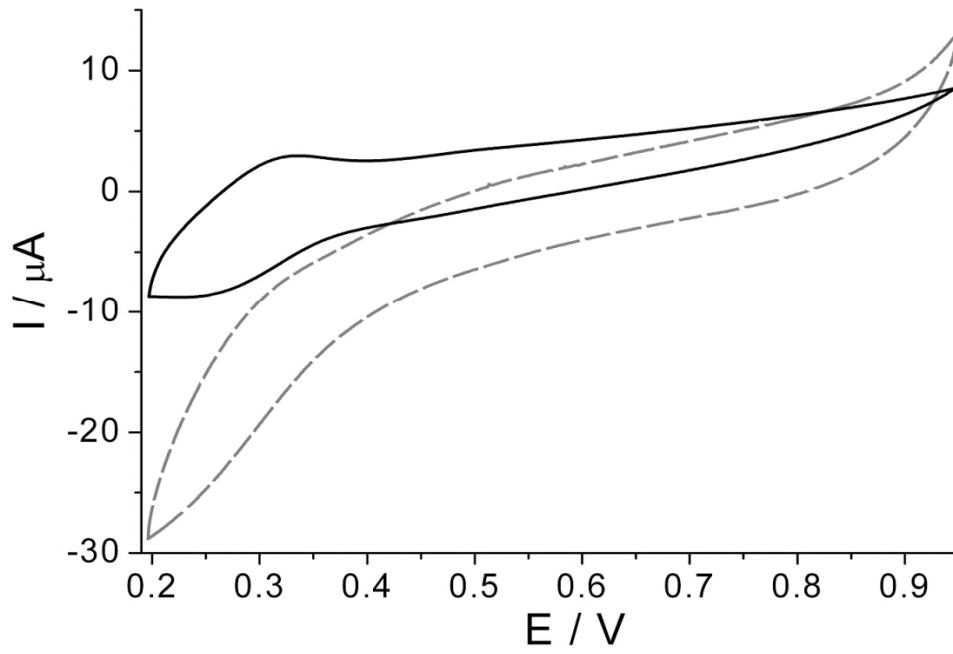
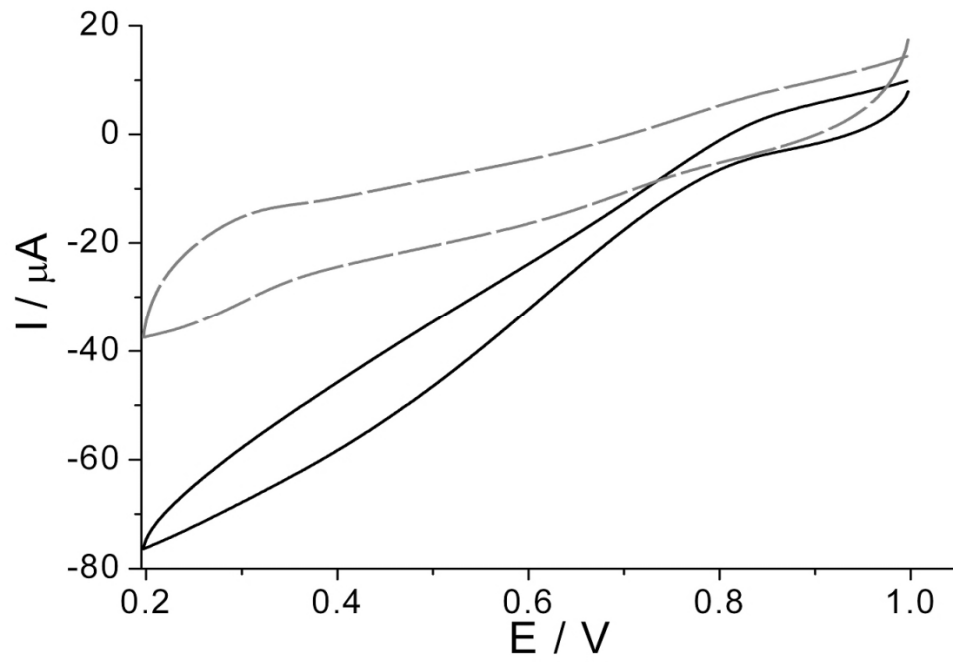


Figura 7



ES 2 550 877 A1

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Consejo Superior de Investigaciones Cientificas CSIC
<120> Uso de lacasas para la separación electrolítica de agua
<130> 900358
<160> 17
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 499
<212> PRT
<213> Trametes Hirsuta
<400> 1
Ala Val Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Thr Asp Ala Ala Val Ser
1 5 10 15
Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Val Val Val Asn Gly Val Thr Pro
20 25 30
Gly Pro Leu Val Ala Gly Asn Ile Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
35 40 45
Ile Asp Asn Leu Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
50 55 60
Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
65 70 75 80
Phe Ile Asn Gln Cys Pro Ile Ser Pro Gly His Ser Phe Leu Tyr Asp
85 90 95
Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
100 105 110
Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Phe Val Val Tyr Asp
115 120 125
Pro Asn Asp Pro His Ala Ser Arg Tyr Asp Val Asp Asn Asp Asp Thr
130 135 140
Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Thr Ala Ala Lys Leu Gly Pro
145 150 155 160
Arg Phe Pro Gly Gly Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Lys Gly Arg
165 170 175
Ala Pro Ser Asp Ser Val Ala Glu Leu Ser Val Ile Lys Val Thr Lys
180 185 190
Gly Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asn Pro Asn
195 200 205

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Pro Gln Ala Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Asp Pro
485 490 495

Asn Asp Gln

<210> 2
<211> 498
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> ChuB

<400> 2

Glu Phe Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala
1 5 10 15

Val Ser Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val
20 25 30

Phe Pro Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu
35 40 45

Asn Val Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser
50 55 60

Ile His Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly
65 70 75 80

Pro Ala Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu
85 90 95

Tyr Asp Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser
100 105 110

His Leu Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val
115 120 125

Tyr Asp Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp
130 135 140

Ser Thr Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Leu Ala Ala Lys Val
145 150 155 160

Gly Pro Ala Ala Pro Thr Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Leu Gly
165 170 175

Arg Ser Ile Asn Thr Leu Asn Ala Asp Leu Ala Val Ile Thr Val Thr
180 185 190

Lys Gly Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asp Pro
195 200 205

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Gln Ala Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp
485 490 495

Asp Gln

<210> 3
<211> 496
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> OB-1

<400> 3

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp
115 120 125

Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp Ser Thr
130 135 140

Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Leu Ala Ala Lys Val Gly Pro
145 150 155 160

Ala Ala Pro Thr Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Leu Gly Arg Ser
165 170 175

Ile Asn Thr Leu Asn Ala Asp Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Lys Gly
180 185 190

Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asp Pro Asn Tyr
195 200 205

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

<210> 4
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 35H10

<400> 4

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
 20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
 35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
 50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
 65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
 85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
 100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp
 115 120 125

Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp Ser Thr
 130 135 140

Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Leu Ala Ala Lys Val Gly Pro
 145 150 155 160

Ala Ala Pro Thr Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Leu Gly Arg Ser
 165 170 175

Ile Asn Thr Leu Asn Ala Asp Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Lys Gly
 180 185 190

Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asp Pro Asn Tyr
 195 200 205

Thr Phe Ser Ile Asp Gly His Ser Leu Thr Val Ile Glu Ala Asp Gly
 210 215 220

ES 2 550 877 A1

Val Asn Leu Lys Pro Gln Thr Val Asp Ser Ile Gln Ile Phe Pro Ala
 225 230 235 240

Gln Arg Tyr Ser Phe Val Leu Asn Ala Asp Gln Asp Val Asp Asn Tyr
 245 250 255

Trp Ile Arg Ala Leu Pro Asn Ser Gly Thr Arg Asn Phe Asp Gly Gly
 260 265 270

Val Asn Ser Ala Ile Leu Arg Tyr Glu Gly Ala Ala Pro Val Glu Pro
 275 280 285

Thr Thr Thr Gln Thr Pro Ser Thr Gln Pro Leu Val Glu Ser Ala Leu
 290 295 300

Thr Thr Leu Glu Gly Thr Ala Ala Pro Gly Asn Pro Thr Pro Gly Gly
 305 310 315 320

Val Asp Leu Ala Leu Asn Met Ala Phe Gly Phe Ala Gly Gly Arg Phe
 325 330 335

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
 340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
 355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
 370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
 385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
 405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
 420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
 435 440 445

His Cys His Ile Asp Phe His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
 450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
 465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

ES 2 550 877 A1

<210> 5
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 20F1

<400> 5

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
 20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
 35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
 50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
 65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
 85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
 100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp
 115 120 125

Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp Ser Thr
 130 135 140

Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Leu Ala Ala Lys Val Gly Pro
 145 150 155 160

Ala Ala Pro Thr Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Leu Gly Arg Ser
 165 170 175

Ile Asn Thr Leu Asn Ala Asp Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Lys Gly
 180 185 190

Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asp Pro Asn Tyr
 195 200 205

Thr Phe Ser Ile Asp Gly His Ser Leu Thr Val Ile Glu Ala Asp Gly
 210 215 220

Val Asn Leu Lys Pro Gln Thr Val Asp Ser Ile Gln Ile Phe Pro Ala
 225 230 235 240

ES 2 550 877 A1

Gln Arg Tyr Ser Phe Val Leu Asn Ala Asp Gln Asp Val Asp Asn Tyr
 245 250 255

Trp Ile Arg Ala Leu Pro Asn Ser Gly Thr Arg Asn Phe Asp Gly Gly
 260 265 270

Val Asn Ser Ala Ile Leu Arg Tyr Glu Gly Ala Ala Pro Val Glu Pro
 275 280 285

Thr Thr Thr Gln Thr Pro Ser Thr Gln Pro Leu Val Glu Ser Ala Leu
 290 295 300

Thr Thr Leu Glu Gly Thr Ala Ala Pro Gly Asn Pro Thr Pro Gly Gly
 305 310 315 320

Val Asp Leu Ala Leu Asn Met Ala Phe Gly Phe Ala Gly Gly Arg Phe
 325 330 335

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
 340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
 355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
 370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
 385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
 405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asp Thr Gly Ser Pro Gly Asp
 420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
 435 440 445

His Cys His Ile Asp Phe His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
 450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
 465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

<210> 6
 <211> 496
 <212> PRT

ES 2 550 877 A1

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> 27C7

<400> 6

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp
115 120 125

Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp Ser Thr
130 135 140

Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Leu Ala Ala Lys Val Gly Pro
145 150 155 160 165 166

Ala Ala Pro Thr Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Leu Gly Arg Ser
165 170 175

Ile Asn Thr Leu Asn Ala Asp Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Lys Gly
180 185 190

Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asp Pro Asn Tyr
195 200 205

Thr Phe Ser Ile Asp Gly His Ser Leu Thr Val Ile Glu Ala Asp Gly
210 215 220

Val Asn Leu Lys Pro Gln Thr Val Asp Ser Ile Gln Ile Phe Pro Ala
225 230 235 240

Gln Arg Tyr Ser Phe Val Leu Asn Ala Asp Gln Asp Val Asp Asn Tyr
245 250 255

ES 2 550 877 A1

Trp Ile Arg Ala Leu Pro Asn Ser Gly Thr Arg Asn Phe Asp Gly Gly
260 265 270

Val Asn Ser Ala Ile Leu Arg Tyr Glu Gly Ala Ala Pro Val Glu Pro
275 280 285

Thr Thr Thr Gln Thr Pro Ser Thr Gln Pro Leu Val Glu Ser Ala Leu
290 295 300

Thr Thr Leu Glu Gly Thr Ala Ala Pro Gly Asn Pro Thr Pro Gly Gly
305 310 315 320

Val Asp Leu Ala Leu Asn Met Ala Phe Gly Phe Ala Gly Gly Arg Phe
325 330 335

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
435 440 445

His Cys His Val Asp Phe His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
485 490 495

<210> 7
<211> 496
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> CHUB

ES 2 550 877 A1

<400> 7

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp
115 120 125

Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp Ser Thr
130 135 140

Val Ile Thr Leu Ala Asp Trp Tyr His Leu Ala Ala Lys Val Gly Pro
145 150 155 160

Ala Ala Pro Thr Ala Asp Ala Thr Leu Ile Asn Gly Leu Gly Arg Ser
165 170 175

Ile Asn Thr Leu Asn Ala Asp Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Lys Gly
180 185 190

Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu Ser Cys Asp Pro Asn Tyr
195 200 205

Thr Phe Ser Ile Asp Gly His Ser Leu Thr Val Ile Glu Ala Asp Gly
210 215 220

Val Asn Leu Lys Pro Gln Thr Val Asp Ser Ile Gln Ile Phe Pro Ala
225 230 235 240

Gln Arg Tyr Ser Phe Val Leu Asn Ala Asp Gln Asp Val Asp Asn Tyr
245 250 255

Trp Ile Arg Ala Leu Pro Asn Ser Gly Thr Arg Asn Phe Asp Gly Gly
260 265 270

ES 2 550 877 A1

Val Asn Ser Ala Ile Leu Arg Tyr Glu Gly Ala Ala Pro Val Glu Pro
 275 280 285

Thr Thr Thr Gln Thr Pro Ser Thr Gln Pro Leu Val Glu Ser Ala Leu
 290 295 300

Thr Thr Leu Glu Gly Thr Ala Ala Pro Gly Asn Pro Thr Pro Gly Gly
 305 310 315 320

Val Asp Leu Ala Leu Asn Met Ala Phe Gly Phe Ala Gly Gly Arg Phe
 325 330 335

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
 340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
 355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
 370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
 385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
 405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
 420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
 435 440 445

His Cys His Ile Asp Glu His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
 450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
 465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

<210> 8
 <211> 495
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 14F1

<400> 8

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Thr Thr Thr Gln Thr Pro Ser Thr Gln Pro Leu Val Glu Ser Ala Leu
290 295 300

Thr Thr Leu Glu Gly Thr Ala Ala Pro Gly Asn Pro Thr Pro Gly Gly
305 310 315 320

Val Asp Leu Ala Leu Asn Met Ala Phe Gly Phe Ala Gly Gly Arg Phe
325 330 335

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
370 375 380

Ala Thr Ser Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly His
385 390 395 400

Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr Ala
405 410 415

Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asp Thr Gly Ser Pro Gly Asp Asn
420 425 430

Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu His
435 440 445

Cys His Ile Asp Phe His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met Ala
450 455 460

Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala Trp
465 470 475 480

Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
485 490 495

<210> 9
<211> 496
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> 1B1

<400> 9

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Thr Thr Leu Glu Gly Thr Ala Ala Pro Gly Asn Pro Thr Pro Gly Gly
305 310 315 320

Val Asp Leu Ala Leu Asn Met Ala Phe Gly Phe Ala Gly Gly Arg Phe
325 330 335

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
435 440 445

His Cys His Val Asp Phe His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
485 490 495

<210> 10
<211> 496
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> 3A7

<400> 10

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Val Asp Leu Ala Leu₃₂₅ Asn Met Ala Phe Gly₃₃₀ Phe Ala Gly Gly Arg₃₃₅ Phe

Thr Ile Asn Gly₃₄₀ Ala Ser Phe Thr Pro₃₄₅ Pro Thr Val Pro Val₃₅₀ Leu Leu

Gln Ile Leu₃₅₅ Ser Gly Ala Gln Ser₃₆₀ Ala Gln Asp Leu Leu₃₆₅ Pro Ser Gly

Ser Val₃₇₀ Tyr Ser Leu Pro Ala₃₇₅ Asn Ala Asp Ile Glu₃₈₀ Ile Ser Leu Pro

Ala Thr Ser Ala Ala Pro₃₉₀ Gly Phe Pro His Pro₃₉₅ Ile His Leu His Gly₄₀₀

His Thr Phe Ala Val₄₀₅ Val Arg Ser Ala Gly₄₁₀ Ser Ser Thr Tyr Asn₄₁₅ Tyr

Ala Asn Pro Val₄₂₀ Tyr Arg Asp Val Val₄₂₅ Asp Thr Gly Ser Pro₄₃₀ Gly Asp

Asn Val Thr₄₃₅ Ile Arg Phe Arg Thr₄₄₀ Asp Asn Pro Gly Pro₄₄₅ Trp Phe Leu

His Cys₄₅₀ His Val Asp Phe His₄₅₅ Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met

Ala Glu Asp Ile Pro Asp₄₇₀ Val Ala Ala Thr Asn₄₇₅ Pro Val Pro Gln Ala₄₈₀

Trp Ser Asp Leu Cys₄₈₅ Pro Thr Tyr Asp Ala₄₉₀ Leu Ser Pro Asp Asp₄₉₅ Gln

<210> 11
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 19B12

<400> 11

Ser Ile Gly Pro Val₅ Ala Asp Leu Thr Ile₁₀ Ser Asn Gly Ala Val₁₅ Ser

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile₂₅ Leu Val Asn Asp Val₃₀ Phe Pro

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys₄₀ Gly Asp Arg Phe Gln₄₅ Leu Asn Val

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Thr Ile Asn Gly Ala Ser Phe Thr Pro Pro Thr Val Pro Val Leu Leu
 340 345 350

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
 355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
 370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
 385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
 405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
 420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
 435 440 445

His Cys His Val Asp Pro His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
 450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
 465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

<210> 12
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 18A10

<400> 12

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
 20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
 35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
 50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Gln Ile Leu Ser Gly Ala Gln Ser Ala Gln Asp Leu Leu Pro Ser Gly
 355 360 365

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
 370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
 385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
 405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
 420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
 435 440 445

His Cys His Val Asp Thr His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
 450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
 465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

<210> 13
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 21D9

<400> 13

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
 20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
 35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
 50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
 65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ala Asn Ala Asp Ile Glu Ile Ser Leu Pro
370 375 380

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
435 440 445

His Cys His Val Asp Ala His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
485 490 495

<210> 14
<211> 496
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> 17D4

<400> 14

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Ala Thr Ser Ala Ala Pro Gly Phe Pro His Pro Ile His Leu His Gly
385 390 395 400

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
435 440 445

His Cys His Val Asp Gly His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
485 490 495

<210> 15
<211> 496
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> 20C3
<400> 15

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

His Thr Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Asn Tyr
 405 410 415

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asn Thr Gly Ser Pro Gly Asp
 420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
 435 440 445

His Cys His Val Asp Arg His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
 450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
 465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
 485 490 495

<210> 16
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> 14C5

<400> 16

Ser Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Ser Asn Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15

Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Ile Leu Val Asn Asp Val Phe Pro
 20 25 30

Ser Pro Leu Ile Thr Gly Asn Lys Gly Asp Arg Phe Gln Leu Asn Val
 35 40 45

Ile Asp Asn Met Thr Asn His Thr Met Leu Lys Ser Thr Ser Ile His
 50 55 60

Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp Ala Asp Gly Pro Ala
 65 70 75 80

Phe Val Asn Gln Cys Pro Ile Ser Thr Gly His Ala Phe Leu Tyr Asp
 85 90 95

Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp Tyr His Ser His Leu
 100 105 110

Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro Ile Val Val Tyr Asp
 115 120 125

Pro Gln Asp Pro His Lys Ser Leu Tyr Asp Val Asp Asp Asp Ser Thr

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

Ala Asn Pro Val Tyr Arg Asp Val Val Asp Thr Gly Ser Pro Gly Asp
420 425 430

Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu
435 440 445

His Cys His Ile Asp Ser His Leu Glu Ala Gly Phe Thr Val Val Met
450 455 460

Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala Ala Thr Asn Pro Val Pro Gln Ala
465 470 475 480

Trp Ser Asp Leu Cys Pro Ser Tyr Asp Ala Leu Ser Pro Asp Asp Gln
485 490 495

<210> 17
<211> 520
<212> PRT
<213> Trametes Hirsuta

<400> 17

Met Ser Arg Phe Gln Ser Leu Leu Thr Phe Ile Asn Ile Ser Leu Val
1 5 10 15

Ala Val Ala His Ala Ala Val Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Thr
20 25 30

Asp Ala Ala Val Ser Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Val Val Val
35 40 45

Asn Gly Val Thr Pro Gly Pro Leu Val Ala Gly Asn Ile Gly Asp Arg
50 55 60

Phe Gln Leu Asn Val Ile Asp Asn Leu Thr Asn His Thr Met Leu Lys
65 70 75 80

Ser Thr Ser Ile His Trp His Gly Phe Phe Gln His Gly Thr Asn Trp
85 90 95

Ala Asp Gly Pro Ala Phe Ile Asn Gln Cys Pro Ile Ser Pro Gly His
100 105 110

Ser Phe Leu Tyr Asp Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp
115 120 125

Tyr His Ser His Leu Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro
130 135 140

Phe Val Val Tyr Asp Pro Asn Asp Pro His Ala Ser Arg Tyr Asp Val
145 150 155 160

ES 2 550 877 A1

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

ES 2 550 877 A1

435

440

445

Thr Gly Thr Pro Ala Ala Gly Asp Asn Val Thr Ile Arg Phe Asp Thr
 450 455 460

Asn Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu His Cys His Ile Asp Phe His Leu
 465 470 475 480

Glu Gly Gly Phe Ala Val Val Met Ala Glu Asp Thr Pro Asp Val Lys
 485 490 495

Ala Val Asn Pro Val Pro Gln Ala Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr
 500 505 510

Asp Ala Leu Asp Pro Asn Asp Gln
 515 520