

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 571 446**

51 Int. Cl.:

C12N 9/12 (2006.01)

C12N 15/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2009 E 09829689 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.02.2016 EP 2352818**

54 Título: **ADN polimerasas quiméricas**

30 Prioridad:

03.11.2008 US 110862 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.05.2016

73 Titular/es:

**KAPA BIOSYSTEMS, INC. (100.0%)
200 Ballardvale Street, Suite 250
Wilmington, MA 01887, US**

72 Inventor/es:

**FAURHOLM, BJARNE;
MCEWAN, PAUL;
BOURN, WILLIAM y
RUSH, GAVIN**

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 571 446 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

ADN polimerasas quiméricas.

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las ADN polimerasas son enzimas que usan ADN monocatenario como plantilla para sintetizar la cadena de ADN complementaria. En particular, las ADN polimerasas pueden añadir nucleótidos libres al extremo 3' de una cadena de formación reciente, dando como resultado la elongación de la nueva cadena en una dirección 5'-3'. Algunas ADN polimerasas pueden corregir errores en ADN recién sintetizado. Este proceso se conoce como corrección de errores. Estas polimerasas pueden reconocer un nucleótido incorporado de forma incorrecta y la actividad 3'->5' exonucleasa de la enzima permite que el nucleótido incorrecto se elimine (esta actividad se conoce como *proofreading* (corrección de errores)). Tras la eliminación de la base, la polimerasa puede insertar de nuevo la base correcta y la replicación puede continuar. La función de corrección da a la replicación del ADN una fidelidad mucho mayor de la que tendría si la síntesis fuera el resultado de únicamente una etapa de selección de apareamiento de bases. Brutlag, D. y Kornberg, A., J. Biol. Chem., 247: 241-248 (1972). Las ADN polimerasas con actividad 3'-5' exonucleasa correctora tienen una tasa de error sustancialmente inferior en comparación con una polimerasa que posee exonucleasa no correctora. Chang, L. M. S., J. Biol. Chem., 252: 1873-1880 (1977). Sin embargo, a menudo, la ventaja de estas polimerasas se contrarresta por su capacidad de procesamiento relativamente baja que reduce el rendimiento de los productos de amplificación de ADN.

El documento US 2002/119461 desvela la construcción ciertas ADN polimerasas, incluyendo una "polimerasa Taq híbrida donde el dominio 3'-5'-exonucleasa inactivo de la polimerasa Taq se reemplazó por un dominio 3'-5'-exonucleasa activo de otra ADN polimerasa termoestable" (véase el párrafo [0016] del documento US2002/119471). El documento WO 01/61015 desvela polimerasas de ácido nucleico quiméricas "obtenidas combinando al menos dos dominios enzimáticamente activos de diferentes proteínas por medio de técnicas de ADN recombinante" (véase el primer párrafo del Resumen de la Invención del documento WO 01/61015). El documento WO 2005/113760 desvela ciertas ADN polimerasas quiméricas obtenidas por intercambio de dominios de polimerasas Dpo4 de la familia Y novedosas de *Acidianus infernus* Dpo4, *Stygiolobu azoricus*, *Sulfurisphaera ohwakuensis*, *Sulfolobus shibatae*, y *Sulfolobus tengchongensis* (véase la sección V., titulada "Cloning Novel Y-family Polymerases"). BASE DE DATOS Geneseq [En línea] 19 de noviembre de 1998 (19-11-1998), "ADN sintetasa Pfu I termorresistente, recuperada de EBI N° de acceso GSP:AAW77017 N° de acceso a base de datos AAW77017; y el documento WO 98/33900 muestra la secuencia aminoacídica de la ADN polimerasa Pfu. BASE DE DATOS Geneseq [En línea] 23 de febrero de 2006 (23-02-2006), "ADN polimerasa SEQ ID NO: 5", recuperada de EBI N° de acceso GSP:AEE871 02 N° de acceso a base de datos AEE871 02; y el documento WO 2005/118866 muestra la secuencia aminoacídica de la ADN polimerasa KOD.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención incluye el descubrimiento de que el intercambio de dominios puede combinar características funcionales deseadas (por ejemplo, alta capacidad de procesamiento, alta tasa de elongación, termoestabilidad, resistencia a la sal, aditivos PCR (por ejemplo, potenciadores PCR) y otras impurezas, y alta fidelidad) de diferentes ADN polimerasas en una enzima quimérica. Por lo tanto, la presente invención proporciona, entre otras cosas, ADN polimerasas fuertes, rápidas y precisas para amplificación de ADN, síntesis, detección, secuenciación y otras técnicas de ADN recombinante importantes.

En un aspecto, la presente invención proporciona una polimerasa quimérica como se define en las reivindicaciones adjuntas a la misma. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta capacidad de procesamiento" se refiere a una capacidad de procesamiento mayor de 20 nts (por ejemplo, mayor de 40 nts, 60 nts, 80 nts, 100 nts, 120 nts, 140 nts, 160 nts, 180 nts, 200 nts, 220 nts, 240 nts, 260 nts, 280 nts, 300 nts, 320 nts, 340 nts, 360 nts, 380 nts, 400 nts, o superior) por asociación/disociación con la plantilla. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta tasa de elongación" se refiere a una tasa de elongación mayor de 25 nt/s (por ejemplo, mayor de 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140 nt/s). Como se usa en el presente documento, la expresión "alta resistencia a la sal" se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para mantener sustancialmente su actividad enzimática a una concentración de sal mayor de 30 mM (por ejemplo, mayor de 35 mM, 40 mM, 45 mM o 50 mM). Como se usa en el presente documento, la expresión "alta fidelidad" se refiere a una tasa de error menor de $4,45 \times 10^{-6}$ (por ejemplo, menos de $4,0 \times 10^{-6}$, $3,5 \times 10^{-6}$, $3,0 \times 10^{-6}$, $2,5 \times 10^{-6}$, $2,0 \times 10^{-6}$, $1,5 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-6}$, $0,5 \times 10^{-6}$) mutaciones/nt/duplicación. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta tolerancia a TMAC" se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para mantener sustancialmente su

XXKXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXELVWXXLXXXFXXXXLXLXXXLYXXXXXG ESXEIXXXLX (SEQ ID NO: 36), en la que X es cualquier aminoácido o un enlace peptídico;

EX₁GLWENIVYLD₂FRX₂LYPSIIITHNVSPDTLN₃EGCKX₄YDX₅APQVGHX₆FCKDX₇P
GFIPSLGX₈LLEERQKIX₉KMKX₁₀TX₁₁DPIEX₁₂X₁₃LLDYRQX₁₄AIKX₁₅LANSX₁₆YG

- 5 YGYAX₁₇ARWYCKEACSVTAWGRX₁₈YIX₁₉X₂₀X₂₁X₂₂KEX₂₃EEX₂₄GFKVX₂₅YX₂₆
 DTDGX₂₇X₂₈ATIPGX₂₉X₃₀X₃₁EX₃₂X₃₃KKKAX₃₄E (SEQ ID NO: 37), en la que X₁ no es R; X₂ no es S; X₃ no es R; X₄ no es E; X₅ no es V; X₆ no es R; X₇ no es F; X₈ no es D; X₉ no es K; X₁₀ no es A; X₁₁ no es I; X₁₂ no es R; X₁₃ no es K; X₁₄ no es R; X₁₅ no es I; X₁₆ no es Y; X₁₇ no es R; X₁₈ no es E; X₁₉ no es T; X₂₀ no es M; X₂₁ no es T; X₂₂ no es I; X₂₃ no es I; X₂₄ no es Y; X₂₅ no es I; X₂₆ no es S; X₂₇ no es F; X₂₈ no es F; X₂₉ no es A; X₃₀ no es D; X₃₁ no es A; X₃₂ no es T; X₃₃ no es V; X₃₄ no es M,

y combinaciones de las mismas, en las que la polimerasa quimérica está caracterizada con una alta fidelidad y alta capacidad de procesamiento, tasa de elongación, resistencia a la sal, tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR o termoestabilidad.

- 15 También se describen en el presente documento polimerasas quiméricas definidas por la secuencia consenso

XXXXTXXXXDXXXXXXIXXXXXEXXXYXXXEXXXFXXXXKXXXAXXXXXX
 XXAXXXXTVTVKRXXXQXXXXRXVEXXXFTXXXXXAXDXIXXXXXX
 XXYXXXXXXXXXXXXXXXXVXXXXDXXXXMXXXXXXXXXXXXXXXXXAEXXLX
 XXXXXEGRXXXXXXXXXXXXDXXXTXXXXXXXXXXXXWXXXXXXXXVLIXXXXX
 20 NXXXXXXKXXCXXXXNFALXXXXXXXXXXXXIXMXXRFXXXXXXXXXXXXXPX
 XRXXXXXXXXXXXXXXXXVXXQXXXXXXXXEXTTXXXTXXXXXXXXRXXXXX
 XXVXXXXXXXXXXXXAXXXXXVXXPXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXV
 XXXXXSXEXYQXXXXEXTTXXFXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXAXXXXXXXXXXX
 XXXXXLXXXXNXXIXXXXXKXXXXIXXXXXXXXXHXXXXXXXXTXXEXQX

- 25 XXXKIXXXXXKXXLXXXXFXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXKXXELVW
 XXLXXFXXXLIXXXXXLYXXXXGESXEIXXXLXLXXXXAXXXXXX
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXITXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXALX
 XDXXXXKXXXXXXXXTEXXSKXXVXXXXVHXXXXDXKDXXTXXXXXX
 XRXXRXRXRXRTXXSXXXXKXSXRXGDXXPFDFXXTXXXXXXXXXXXX

- 30 XXXXEXXRAXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXSAXXKXPGT (SEQ ID NO: 38), en la que X es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, y en la que la polimerasa quimérica tiene una fidelidad mayor que la de KOD y una capacidad de procesamiento, una tasa de elongación, una resistencia a la sal, una tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR o una termoestabilidad mayores que Pfu.

- 35 También se describen en el presente documento polimerasas quiméricas definidas por la secuencia consenso

XIXDTDYXTXDGXPXRIFKXXGFXXYDXXFEPYFYALLKDDSAIXXXXXXA
 XRHGTVTVKRXXXQXKFLRXRVVWXLXFTHPQDVPAXDXIXHXVIDIYE
 YDIPFAKRYLIDXGLVPMGEDXLXXXXDIETXYHEGXFEAGXXLMISYADXEG
 ARVITWKXVDLPYDVVSTEXEMIKRXXVVEKDPDLIXYXGDNFDXAYLKXR
 40 CEXLGNFALRXXXXXEPKIXXMGXRFAVEXKGRXHFDLXPXXRXTXNLPTYXL
 XXVYEXVXGQKXXXXXEEITXWETXXXXXXARYSMEDAXVTXELGXEFXPM
 EAXLXLVGPXWDVXRSSTGNLVEWXLXAYXRNEVAPNKPSXEEYQXRXXE
 XYTGXFVXEPEKGLWXXXXLDXXALYPSIIXXHNVSPDTLXLEXCNXYDIAPXVG
 XKFKCDIPGFIPSLXHLXXXRQXXKTXMXEQDPXKIXLDYRQKAXKLLXNSFY
 45 GYXGYXKARWYXXECAESVTXWGRKYIELVWXELEXXFGFKLYIDTDGLYATIP
 GGESXEIKXXLXFLXYINAXLPGALELEYEXFYXRGFFVXXXXKYAXIDEEXXITR
 GLEXVRRDWSXXAKETXAVLEALLDXVXKAVXXXXXTEXXSKYXVPXEKL
 VIHEQITRDXXDYATGPHVAXAKRLXXRXXXRPGTXISYXXLKGSGRXGDRXIPF
 DEFXXTKHXDYDXXYIENQVLPAPERXLRAGFYXXXXLXXQXXQXGLSAWXXP XGT (SEQ ID NO: 39), en la que X

- 50 es cualquier aminoácido o un enlace peptídico.

También se describen en el presente documento polimerasas quiméricas que contienen un primer dominio que tiene una secuencia al menos un 80 % (por ejemplo, al menos un 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) idéntica a una secuencia aminoacídica que se encuentra en un dominio exonucleasa, un dominio
 55 N-terminal, y/o un dominio de pulgar de una primera ADN polimerasa; y un segundo dominio que tiene una secuencia al menos un 80 % (por ejemplo, al menos un 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) idéntica a una secuencia aminoacídica que se encuentra en un dominio de palma y/o dedos de una segunda ADN polimerasa. En algunas realizaciones, la polimerasa quimérica está caracterizada con una mayor fidelidad que la polimerasa KOD y mayor capacidad de procesamiento, tasa de elongación, resistencia a la sal,

termoestabilidad o tolerancia a TMAC que la polimerasa Pfu.

También se describen en el presente documento métodos de diseño de polimerasas quiméricas. Dichos métodos pueden incluir las etapas de: (a) proporcionar un dominio N-terminal, un dominio exonucleasa, y/o un dominio de pulgar basado en una primera ADN polimerasa; (b) proporcionar un dominio de palma y/o dedos basado en una segunda ADN polimerasa; (c) combinar los dominios de la etapa (a) y la etapa (b) para formar una polimerasa quimérica; donde la polimerasa quimérica tiene una fidelidad mayor que la de la primera ADN polimerasa y una capacidad de procesamiento, una tasa de elongación, una resistencia a la sal, una tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR o una termoestabilidad mayor que la de la segunda ADN polimerasa. En algunas realizaciones, la polimerasa quimérica está caracterizada con una mayor fidelidad que la polimerasa KOD y mayor capacidad de procesamiento, tasa de elongación, resistencia a la sal, termoestabilidad o tolerancia a TMAC que la polimerasa Pfu.

En el presente documento se describen ADN polimerasas que incluyen polimerasa KOD, polimerasa TNA1, *Thermococcus* sp. 9 grados N-7, T4, T7 y phi29. Otras ADN polimerasas desveladas en el presente documento incluyen polimerasas aisladas de *Pyrococcus furiosus*, *P. abyssi*, *T. gorgonarius*, *T. litoralis*, *T. zilligii*, *T. sp. GT* o *P. sp. GB-D*.

La ADN polimerasa quimérica de la invención contiene el dominio N-terminal, el dominio 3'-5' exonucleasa y el dominio de pulgar de polimerasa KOD y el dominio de la palma y los dedos de polimerasa Pfu.

También se describen en el presente documento métodos para mejorar la fidelidad de una ADN polimerasa. Dichos métodos pueden incluir una etapa de reemplazar una secuencia en el dominio de palma y/o dedos de la ADN polimerasa de interés con una secuencia correspondiente de una ADN polimerasa diferente que está caracterizada con mayor fidelidad con respecto a la ADN polimerasa de interés.

También se describen en el presente documento métodos para mejorar la capacidad de procesamiento, tasa de elongación, resistencia a la sal, tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR o termoestabilidad de una ADN polimerasa. Dichos métodos pueden incluir una etapa para reemplazar una secuencia en el dominio N-terminal, el dominio exonucleasa y/o el dominio de pulgar de la ADN polimerasa de interés con una secuencia correspondiente de una ADN polimerasa diferente que está caracterizada con mayor capacidad de procesamiento, tasa de elongación, resistencia a la sal, tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR o termoestabilidad con respecto a la ADN polimerasa de interés.

Por lo tanto, se describen en el presente documento diversas polimerasas quiméricas que incluyen polimerasas quiméricas diseñadas y/o mejoradas usando métodos como se describe en el presente documento. Las polimerasas quiméricas como se describe en el presente documento pueden contener una secuencia aminoacídica al menos un 80 % idéntica a la SEQ ID NO: 16 (la secuencia aminoacídica Kofu como se muestra en la sección Secuencias). Otras polimerasas quiméricas descritas en el presente documento contienen la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 16. Aún otras polimerasas quiméricas descritas en el presente documento contienen una secuencia aminoacídica al menos un 80 % idéntica a la SEQ ID NO: 15 (la secuencia aminoacídica Pod como se muestra en la sección Secuencias). Aún otras polimerasas quiméricas descritas en el presente documento contienen la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 15.

La presente invención también proporciona kits y composiciones que contienen diversas polimerasas quiméricas descritas en el presente documento y usos de las mismas (por ejemplo, métodos de amplificación de fragmentos de ADN usando ADN polimerasas quiméricas de la invención). Además, la presente invención proporciona secuencias nucleotídicas que codifican diversas polimerasas quiméricas descritas en el presente documento y vectores y/o células que contienen las secuencias nucleotídicas de acuerdo con la invención.

50 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los dibujos únicamente son con fines de ilustración y no de limitación.

La figura 1 representa un alineamiento de dominios en ADN polimerasas de tipo B de origen natural ejemplares y ADN polimerasas quiméricas ejemplares, Kofu y Pod. Los dominios de polimerasas KOD y Pfu que se intercambiaron en las quimeras Kofu y Pod se han indicado anteriormente el alineamiento.

La figura 2 representa que una polimerasa quimérica Pod ejemplar contiene el dominio N-terminal, el dominio 3'-5' exonucleasa y el dominio de pulgar de Pfu y el dominio de la palma y los dedos de KOD y la polimerasa quimérica Kofu recíproca contiene el dominio N-terminal, el dominio 3'-5' exonucleasa y el

dominio de pulgar de KOD y el dominio de la palma y los dedos de Pfu.

La figura 3 representa resultados ejemplares que muestran la termoestabilidad de KOD, Pfu, Kofu y Pod.

La figura 4 representa resultados ejemplares que muestran la resistencia a la sal de KOD, Pfu, Kofu y Pod.

La figura 5 representa resultados ejemplares que muestran la tolerancia a TMAC de KOD, Pfu, Kofu y Pod.

5

DEFINICIONES

Aminoácido: Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido", en su sentido más amplio, se refiere a cualquier compuesto y/o sustancia que pueda estar incorporado en una cadena polipeptídica. En algunas realizaciones, un aminoácido tiene la estructura general $H_2N-C(H)(R)-COOH$. En algunas realizaciones, un aminoácido es un ácido de origen natural. En algunas realizaciones, un aminoácido es un aminoácido sintético; en algunas realizaciones, un aminoácido es un D-aminoácido; en algunas realizaciones, un aminoácido es un L-aminoácido. "Aminoácido típico" se refiere a cualquiera de los veinte L-aminoácidos típicos que se encuentran comúnmente en péptidos de origen natural. "Aminoácido no típico" se refiere a cualquier aminoácido, distinto de los aminoácidos típicos, independientemente de si se prepara sintéticamente o se obtiene de una fuente natural. Como se usa en el presente documento, "aminoácido sintético" comprende aminoácidos modificados químicamente, incluyendo, pero sin limitación, sales, derivados de aminoácidos (tales como amidas) y/o sustituciones. Los aminoácidos, incluyendo los aminoácidos carboxi- y/o amino-terminales en los péptidos, pueden modificarse por metilación, amidación, acetilación y/o sustitución por otros grupos químicos. Los aminoácidos pueden participar en un enlace disulfuro. El término "aminoácido" se usa indistintamente con "residuo aminoacídico" y puede referirse a un aminoácido libre y/o a un residuo aminoacídico de un péptido. Será evidente por el contexto en el que se utilice el término, si se refiere a un aminoácido libre o a un residuo de un péptido. Ha de apreciarse que todas las secuencias de residuos aminoacídicos se representan en el presente documento por fórmulas cuya orientación izquierda y derecha está en la dirección convencional del extremo amino al extremo carboxi.

25

Par de bases (pb): Como se usa en el presente documento, par de bases se refiere a una pareja de adenina (A) con timina (T), o de citosina (C) con guanina (G) en una molécula de ADN bicatenario.

Polimerasa quimérica: Como se usa en el presente documento, la expresión "polimerasa quimérica" (también denominada como "quimera") se refiere a cualquier polimerasa que contiene dos o más dominios heterólogos, secuencias aminoacídicas, péptidos y/o proteínas unidos covalentemente o no covalentemente para producir una polimerasa que no se encuentra en la naturaleza. Típicamente, una polimerasa quimérica contiene un primer dominio unido a un segundo dominio, en la que el primer y segundo dominios no se encuentran en la misma relación en la naturaleza. Típicamente, el primer dominio se obtiene a partir de una primera ADN polimerasa y un segundo dominio se obtiene a partir de una segunda ADN polimerasa. Típicamente, la primera y segunda ADN polimerasas están caracterizadas con al menos una característica funcional distinta (por ejemplo, capacidad de procesamiento, tasa de elongación, fidelidad, tolerancia a la sal, tolerancia a aditivos PCR o termoestabilidad). Como se usa en el presente documento, una secuencia obtenida a partir de una ADN polimerasa de interés se refiere a cualquier secuencia que se encuentra en la ADN polimerasa de interés, o cualquier secuencia que es al menos un 70 % (por ejemplo, al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) idéntica a una secuencia aminoacídica que se encuentra en la ADN polimerasa de interés. Una "polimerasa quimérica" de acuerdo con la invención puede contener dos o más secuencias aminoacídicas de polimerasas relacionadas o similares (por ejemplo, proteínas que comparten secuencias y/o estructuras similares), unidas para formar una nueva proteína funcional. Una "polimerasa quimérica" de acuerdo con la invención puede contener dos o más secuencias aminoacídicas de polimerasas no relacionadas, unidas para formar una nueva proteína funcional. Por ejemplo, una polimerasa quimérica de la invención puede ser una fusión "interespecie" o "intergénica" de estructuras proteicas expresadas por diferentes tipos de organismos.

Complementariedad: Como se usa en el presente documento, el término "complementariedad" se refiere al amplio concepto de complementariedad de secuencia entre regiones de dos cadenas polinucleotídicas o entre dos nucleótidos a través de apareamiento de bases. Se sabe que un nucleótido de adenina es capaz de formar enlaces hidrógeno específicos ("apareamiento de bases") con un nucleótido que es timina o uracilo. De forma análoga, se sabe que un nucleótido de citosina es capaz de realizar un apareamiento de bases con un nucleótido de guanina.

Afinidad de unión a ADN: Como se usa en el presente documento, la expresión "afinidad de unión a ADN" se refiere típicamente a la actividad de una ADN polimerasa en la unión de ácido nucleico del ADN. En algunas realizaciones, la actividad de unión a ADN puede medirse en un ensayo de desplazamiento de dos bandas. Por ejemplo, en algunas realizaciones (en base al ensayo de Guagliardi y col. (1997) J. Mol. Biol. 267: 841-848), el ácido nucleico bicatenario (el fragmento HindIII-EcoRV de 452 pb del gen *S.solfataricus lacS*) se marca con ^{32}P con respecto a una

actividad específica de al menos aproximadamente $2,5 \times 10^7$ cpm/ μg (o al menos aproximadamente 4000 cpm/fmol) usando métodos convencionales. Véase, por ejemplo, Sambrook y col. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY) en 9.63-9.75 (que describe marcaje terminal de ácidos nucleicos). Se prepara una mezcla de reacción que contiene al menos aproximadamente 0,5 μg del polipéptido en aproximadamente 10 μl de tampón de unión (tampón fosfato sódico 50 mM (pH 8,0), glicerol al 10 %, KCl 25 mM, MgCl_2 25 mM). La mezcla de reacción se calienta a 37 °C durante 10 min. A la mezcla de reacción se le añaden aproximadamente 1×10^4 a 5×10^4 cpm (o aproximadamente 0,5-2 ng) del ácido nucleico bicatenario marcado y se incuba durante 10 min más. La mezcla de reacción se carga sobre un gel de poli(acrilamida) nativo en 0,5 x tampón Tris-borato. La mezcla de reacción se somete a electroforesis a temperatura ambiente. El gel se seca y se somete a autoradiografía usando métodos convencionales. Cualquier descenso detectable de la movilidad del ácido nucleico bicatenario marcado indica la formación de un complejo de unión entre el polipéptido y el ácido nucleico bicatenario. Dicha actividad de unión a ácido nucleico puede cuantificarse usando métodos densitométricos convencionales para medir la cantidad de radioactividad en el complejo de unión con respecto a la cantidad total de radioactividad en la mezcla de reacción inicial. Se conocen en la técnica otros métodos de medición de la afinidad de unión a ADN (véase, por ejemplo, Kong y col. (1993) *J. Biol. Chem.* 268(3): 1965-1975).

Dominio: Como se usa en el presente documento, el término "Dominio", como se usa en el presente documento, se refiere a una secuencia aminoacídica de un polipéptido (por ejemplo, polimerasa) que comprende una o más funciones o propiedades definidas.

Tasa de elongación: Como se usa en el presente documento, la expresión "tasa de elongación" se refiere a la velocidad media a la que una ADN polimerasa se extiende a una cadena polimérica. Como se usa en el presente documento, una alta tasa de elongación se refiere a una tasa de elongación mayor de 25 nt/s (por ejemplo, mayor de 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140 nt/s).

Actividad enzimática: Como se usa en el presente documento, la expresión "actividad enzimática" se refiere a la especificidad y eficiencia de una ADN polimerasa. La actividad enzimática de una ADN polimerasa también se denomina como "actividad polimerasa", que típicamente se refiere a la actividad de una ADN polimerasa en la catalización de la síntesis dirigida a plantilla de un polinucleótido. La actividad enzimática de una polimerasa puede medirse usando diversas técnicas y métodos que se conocen en la técnica. Por ejemplo, pueden prepararse diluciones seriadas de polimerasa en tampón de dilución (por ejemplo, Tris.Cl 20 mM, pH 8,0, KCl 50 mM, NP 40 al 0,5 %, y Tween-20 0,5 %). Para cada dilución, pueden eliminarse 5 μl y añadirse a 45 μl de una mezcla de reacción que contiene TAPS 25 mM (pH 9,25), KCl 50 mM, MgCl_2 2 mM, dATP 0,2 mM, dGTP 0,2 mM, dTTP 0,2 mM, dCTP 0,1 mM, 12,5 μg de ADN activado, $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ 100 μM (0,05 $\mu\text{Ci/nmol}$) y agua desionizada estéril. Las mezclas de reacción pueden incubarse a 37 °C (o 74 °C para ADN polimerasas termoestables) durante 10 minutos y después se detienen enfriando inmediatamente la reacción a 4 °C y añadiendo 10 μl de EDTA 60 mM enfriado con hielo. De cada mezcla de reacción puede eliminarse una alícuota de 25 μl . Puede eliminarse dCTP marcado radioactivamente unincorporado de cada alícuota por filtración en gel (Centri-Sep, Princeton Separations, Adelphia, N.J.). El eluato de columna puede mezclarse con fluido de centelleo (1 ml). La radioactividad en el eluato de columna se cuantifica con un contador de centelleo para determinar la cantidad de producto sintetizado por la polimerasa. Una unidad de actividad polimerasa puede definirse como la cantidad de polimerasa necesaria para sintetizar 10 nmol de producto en 30 minutos (Lawyer y col. (1989) *J. Biol. Chem.* 264: 6427-647). Se conocen en la técnica otros métodos de medición de la actividad polimerasa (véase, por ejemplo, Sambrook y col. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY)).

Fidelidad: Como se usa en el presente documento, el término "fidelidad" se refiere a la precisión de polimerización de ADN por ADN polimerasa dependiendo de plantilla. La fidelidad de una ADN polimerasa se mide típicamente por la tasa de error (la frecuencia de incorporación de un nucleótido inexacto, es decir, un nucleótido que no es complementario con el nucleótido de la plantilla). La precisión de la fidelidad de la polimerización de ADN se mantiene tanto por la actividad polimerasa como a la actividad 3'-5' exonucleasa de una ADN polimerasa. La expresión "alta fidelidad" se refiere a una tasa de error menor de $4,45 \times 10^{-6}$ (por ejemplo, menos de $4,0 \times 10^{-6}$, $3,5 \times 10^{-6}$, $3,0 \times 10^{-6}$, $2,5 \times 10^{-6}$, $2,0 \times 10^{-6}$, $1,5 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-6}$, $0,5 \times 10^{-6}$) mutaciones/nt/duplicación. La fidelidad de tasa de error de una ADN polimerasa puede medirse usando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las tasas de error de las ADN polimerasas pueden ensayarse usando el ensayo de fidelidad por PCR de *lacI* PCR descrito en Cline, J. y col. (1996) *NAR* 24: 3546-3551. En resumen, un fragmento de 1,9 kb que codifica el gen diana *lacI/OlacZ α* se amplifica a partir de ADN plasmídico pPRIAZ usando 2,5 U de ADN polimerasa (es decir, cantidad de enzima necesaria para incorporar 25 nmoles de dNTP totales en 30 min a 72 °C) en el tampón PCR apropiado. Los productos PCR que contienen *lacI* se clonan entonces en brazos GT10 lambda, y el porcentaje de mutantes *lacI* (FM, frecuencia de mutación) se determina en un ensayo de cribado de color, como se describe (Lundberg, K. S.,

Shoemaker, D. D., Adams, M. W. W., Short, J. M., Sorge, J. A., y Mathur, E. J. (1991) *Gene* 180: 1-8). Las tasas de error se expresan como frecuencia de mutación por pb por duplicación (FM/pb/d), donde pb es el número de sitios detectables en la secuencia génica *lacI* (349) y d es el número de duplicaciones diana efectivas. De forma análoga a lo anterior, cualquier plásmido que contenga el gen diana *lacIOlacZ α* puede usarse como plantilla para el análisis por PCR. El producto PCR puede clonarse en un vector diferente de GT lambda (por ejemplo, el plásmido) que permite un cribado de color azul/blanco.

Unido: Como se usa en el presente documento, "unido" se refiere a cualquier método conocido en la técnica para conectar funcionalmente dominios polipeptídicos, incluyendo, sin limitación, fusión recombinante con o sin dominios intermedios, fusión intermediada, asociación no covalente, y enlace covalente, incluyendo enlace disulfuro, enlace hidrógeno, enlace electrostático, y enlace conformacional.

Nucleótido: Como se usa en el presente documento, una unidad monomérica de ADN o ARN consiste en un resto azúcar (pentosa), un fosfato y una base heterocíclica nitrogenada. La base se une al resto azúcar a través del carbón glucosídico (1' carbono de la pentosa) y esa combinación de base y azúcar es un nucleósido. Cuando el nucleósido contiene un grupo fosfato unido en la posición 3' o 5' de la pentosa se denomina un nucleótido. Una secuencia de nucleótidos unidos operativamente se denomina típicamente en el presente documento como una "secuencia de bases" o "secuencia nucleotídica", y se representa en el presente documento por una fórmula cuya orientación de izquierda a derecha está en la dirección convencional del extremo 5' al extremo 3'.

Oligonucleótido o polinucleótido: Como se usa en el presente documento, el término "oligonucleótido" se define como una molécula que incluye dos o más desoxirribonucleótidos y/o ribonucleótidos, preferiblemente más de tres. Su tamaño exacto dependerá de muchos factores que, a su vez, dependen de la última función o uso del oligonucleótido. El oligonucleótido puede obtenerse sintéticamente o por clonación. Como se usa en el presente documento, el término "polinucleótido" se refiere a una molécula polimérica compuesta por monómeros nucleotídicos unidos covalentemente en una cadena. ADN (ácido desoxirribonucleico) y ARN (ácido ribonucleico) son ejemplos de polinucleótidos.

Polimerasa: Como se usa en el presente documento, una "polimerasa" se refiere a una enzima que cataliza la polimerización del nucleótido (es decir, la actividad polimerasa). Generalmente, la enzima iniciará la síntesis en el extremo 3' del cebador anclado a una secuencia plantilla polinucleotídica, y avanzará hacia el extremo 5' de la cadena plantilla. Una "ADN polimerasa" cataliza la polimerización de desoxinucleótidos.

Capacidad de procesamiento: Como se usa en el presente documento, "capacidad de procesamiento" se refiere a la capacidad de una polimerasa para permanecer unida a la plantilla y realizar múltiples reacciones de modificación. Las "reacciones de modificación" incluyen, pero sin limitación, polimerización y escisión exonucleolítica. En algunas realizaciones, "capacidad de procesamiento" se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para realizar una secuencia de etapas de polimerización sin intervenir la disociación de la enzima de las cadenas crecientes de ADN. Típicamente, la "capacidad de procesamiento" de una ADN polimerasa se mide por la longitud de los nucleótidos (por ejemplo, 20 nts, 300 nts, 0,5-1 kb, o más) que se polimerizan o se modifican sin intervenir la disociación de la ADN polimerasa de la cadena creciente de ADN. La "capacidad de procesamiento" puede depender de la naturaleza de la polimerasa, la secuencia de una plantilla de ADN, y las condiciones de reacción, por ejemplo, la concentración de sal, la temperatura o la presencia de proteínas específicas. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta capacidad de procesamiento" se refiere a una capacidad de procesamiento mayor de 20 nts (por ejemplo, mayor de 40 nts, 60 nts, 80 nts, 100 nts, 120 nts, 140 nts, 160 nts, 180 nts, 200 nts, 220 nts, 240 nts, 260 nts, 280 nts, 300 nts, 320 nts, 340 nts, 360 nts, 380 nts, 400 nts, o superior) por asociación/disociación con la plantilla. La capacidad de procesamiento puede medirse de acuerdo con los métodos definidos en el presente documento y en el documento WO 01/92501 A1.

Cebador: Como se usa en el presente documento, el término "cebador" se refiere a un oligonucleótido, ya sea de origen natural o producido sintéticamente, que es capaz de actuar como un punto de inicio de la síntesis de ácidos nucleicos al ponerse en condiciones en las que se induce la síntesis de un producto de extensión de cebador que es complementario a una cadena de ácido nucleico, por ejemplo, en presencia de cuatro trifosfatos nucleotídicos diferentes y una enzima termoestable en un tampón apropiado ("tampón" incluye un pH, resistencia iónica, cofactores, etc., apropiados) y a una temperatura adecuada. El cebador es preferiblemente monocatenario para una eficiencia máxima en la amplificación, pero, como alternativa, puede ser bicatenario. Si es monocatenario, el cebador se trata en primer lugar para separar sus cadenas antes de usarse para preparar productos de extensión. Preferiblemente, el cebador es un oligodesoxirribonucleótido. El cebador debe ser suficientemente largo para cebar la síntesis de productos de extensión en presencia de la enzima termoestable. Las longitudes exactas de los

cebadores dependerán de muchos factores, incluyendo la temperatura, la fuente del cebador y el uso del método. Por ejemplo, dependiendo de la complejidad de la secuencia diana, el cebador oligonucleotídico contiene típicamente 15-25 nucleótidos, aunque puede contener más o menos nucleótidos. Las moléculas de cebador corto requerirán generalmente temperaturas inferiores para formar complejos híbridos suficientemente estables con la
5 plantilla.

Resistencia a sal: Como se usa en el presente documento, la expresión "resistencia a la sal" (también denominada como tolerancia a la sal) se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para mantener sustancialmente su actividad enzimática en presencia de sal o aditivos PCR (por ejemplo, TMAC). En algunas realizaciones, la
10 resistencia a la sal o aditivos PCR se mide por la concentración de sal máxima a la que una ADN polimerasa está aún activa. La concentración de sal máxima difiere para cada polimerasa y se conoce en la técnica, o puede determinarse experimentalmente de acuerdo con los métodos en la técnica. Por ejemplo, Pfu se inhibe a sal 30 mM (en una reacción PCR).

Síntesis: Como se usa en el presente documento, el término "síntesis" se refiere a cualquier método *in vitro* para preparar una nueva cadena de polinucleótido o alargar un polinucleótido existente (es decir, ADN o ARN) de una manera dependiente de la plantilla. La síntesis, de acuerdo con la invención, incluye amplificación, que aumenta el número de copias de una secuencia plantilla polinucleotídica con el uso de una polimerasa. La síntesis polinucleotídica (por ejemplo, la amplificación) da como resultado la incorporación de nucleótidos en un
20 polinucleótido (es decir, un cebador), formando de este modo una nueva molécula polinucleotídica complementaria a la plantilla polinucleotídica. La molécula polinucleotídica formada y su plantilla pueden usarse como plantillas para sintetizar moléculas polinucleotídicas adicionales. La "síntesis de ADN", como se usa en el presente documento, incluye, pero sin limitación, PCR, el marcaje del polinucleótido (es decir, para sondas y cebadores oligonucleotídicos), secuenciación de polinucleótidos.

Molécula de ADN plantilla: Como se usa en el presente documento, la expresión "molécula de ADN plantilla" se refiere a una cadena de un ácido nucleico a partir de la cual se sintetiza una cadena de ácido nucleico complementaria por medio de una ADN polimerasa, por ejemplo, en una reacción de extensión de cebador.

Manera dependiente de la plantilla: Como se usa en el presente documento, la expresión "manera dependiente de la plantilla" se refiere a un proceso que implica la extensión dependiente de la plantilla de una molécula de cebador (por ejemplo, síntesis de ADN por ADN polimerasa). La expresión "manera dependiente de la plantilla" se refiere típicamente a la síntesis polinucleotídica de ARN o ADN en la que la secuencia de la cadena recién sintetizada de polinucleótido se rige por las reglas ya conocidas del apareamiento de bases complementarias (véase, por ejemplo,
35 Watson, J. D. y col., En: Molecular Biology of the Gene, 4ª Ed., W. A. Benjamin, Inc., Menlo Park, Calif. (1987)).

Enzima termoestable: Como se usa en el presente documento, la expresión "enzima termoestable" se refiere a una enzima que es termoestable (también denominada como termorresistente) y cataliza (facilita) la polimerización de nucleótidos para formar productos de extensión de cebador que son complementarios a una secuencia plantilla polinucleotídica. Típicamente, se prefieren polimerasas estables termoestables en un proceso de termociclado en el que los ácidos nucleicos bicatenarios se desnaturalizan por exposición a una alta temperatura (por ejemplo, aproximadamente 95 °C) durante el ciclo PCR. Una enzima termoestable descrita en el presente documento eficaz para una reacción de amplificación por PCR satisface al menos un criterio, es decir, la enzima no se desnaturaliza de forma irreversible (inactivada) cuando se somete a las temperaturas elevadas durante el tiempo necesario para
45 realizar la desnaturalización de ácidos nucleicos bicatenarios. La desnaturalización irreversible para los fines en el presente documento se refiere a la pérdida permanente y completa de actividad enzimática. Las condiciones de calentamiento necesarias para la desnaturalización dependerán, por ejemplo, de la concentración de sal del tampón y la longitud y la composición nucleotídica de los ácidos nucleicos que se desnaturalizan, pero típicamente variarán de aproximadamente 90 °C a aproximadamente 98 °C durante un tiempo que depende principalmente de la temperatura y la longitud del ácido nucleico, típicamente de aproximadamente 0,2 a cuatro minutos. Pueden tolerarse temperaturas mayores según la concentración de sal del tampón y/o la composición GC del ácido nucleico aumenta. En algunas realizaciones, las enzimas termoestables no se desnaturalizarán de forma irreversible a aproximadamente 90 °C-100 °C. Típicamente, una enzima termoestable adecuada para la invención tiene una temperatura óptima a la que funciona que es superior de aproximadamente 40 °C, que es la temperatura por debajo
50 de la cual la se promueve la hibridación del cebador con respecto a la plantilla, aunque, dependiendo de (1) la concentración de magnesio y la sal y (2) la composición y longitud del cebador, la hibridación puede producirse a mayor temperatura (por ejemplo, 45 °C - 70 °C). Cuanto mayor es la temperatura óptima para la enzima, mayor es la especificidad y/o selectividad del proceso de extensión dirigido al cebador. Sin embargo, las enzimas que están activas por debajo de 40 °C (por ejemplo, a 37 °C) también están dentro del alcance de esta invención, siempre que
55

sean termoestables. En algunas realizaciones, la temperatura óptima varía de aproximadamente 50 °C a 90 °C (por ejemplo, 60 °C-80 °C).

5 *Tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR*: Como se usa en el presente documento, la expresión "tolerancia a TMAC u otro potenciador PCR" (también denominado como resistencia a TMAC u otro potenciador PCR) se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para mantener sustancialmente su actividad enzimática en presencia de TMAC u otros potenciadores PCR (por ejemplo, glicerol, DMSO, betaína, amidas, otras sales tetrametilamonio).

DESCRIPCIÓN DETALLADAS DE LA INVENCIÓN

10

La presente invención proporciona, entre otras cosas, ADN polimerasas quiméricas.

ADN polimerasas

15 Las ADN polimerasas quiméricas pueden diseñarse a partir de cualquier ADN polimerasa, en particular, polimerasas termoestables. Típicamente, las ADN polimerasas se agrupan en seis familias: A, B, C, D, X y Y. Las familias A, B, C se agrupan basándose en sus homologías de secuencia aminoacídica con respecto a polimerasas *E. coli* I, II y III, respectivamente. La familia X no tiene polimerasas *E. coli* homólogas. Las polimerasas de la familia B incluyen, pero sin limitación, *E. coli* pol II, polimerasas de arqueas, ADN polimerasas de bacteriófagos PRD1, phi29, M2, T4,
20 polimerasas α , Δ , ϵ eucariotas, y muchas polimerasas víricas. Otras ADN polimerasas incluyen polimerasas de arqueas (por ejemplo, polimerasas de euriarqueotas).

Las polimerasas de arqueas incluyen, pero sin limitación, ADN polimerasas de arqueas (por ejemplo, *Thermococcus litoralis* (Vent™, GenBank: AAA72101), *Pyrococcus furiosus* (Pfu, GenBank: D12983, BAA02362), *Pyrococcus*
25 *woesii*, *Pyrococcus* GB-D (Deep Vent™, GenBank: AAA67131), *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 (KOD, GenBank: BD175553, BAA06142; *Thermococcus* sp. cepa KOD (Pfx, GenBank: AAE68738)), *Thermococcus gorgonarius* (Tgo, Pdb: 4699806), *Sulfolobus solataricus* (GenBank: NC002754, P26811), *Aeropyrum pernix* (GenBank: BAA81109), *Archaeoglobus fulgidus* (GenBank: 029753), *Pyrobaculum aerophilum* (GenBank: AAL63952), *Pyrodictium occultum* (GenBank: BAA07579, BAA07580), *Thermococcus* 9 grado Nm (GenBank: AAA88769,
30 Q56366), *Thermococcus fumicolans* (GenBank: CAA93738, P74918), *Thermococcus hydrothermalis* (GenBank: CAC18555), *Thermococcus* sp. GE8 (GenBank: CAC12850), *Thermococcus* sp. JDF-3 (GenBank: AX135456; WO0132887), *Thermococcus* sp. TY (GenBank: CAA73475), *Pyrococcus abyssi* (GenBank: P77916), *Pyrococcus glycovorans* (GenBank: CAC12849), *Pyrococcus horikoshii* (GenBank: NP 143776), *Pyrococcus* sp. GE23 (GenBank: CAA90887), *Pyrococcus* sp. ST700 (GenBank: CAC 12847), *Thermococcus pacificus* (GenBank:
35 AX411312.1), *Thermococcus zilligii* (GenBank: DQ3366890), *Thermococcus aggregans*, *Thermococcus barossii*, *Thermococcus celer* (GenBank: DD259850.1), *Thermococcus profundus* (GenBank: E14137), *Thermococcus siculi* (GenBank: DD259857.1), *Thermococcus thio-reducens*, *Thermococcus onnurineus* NA1, *Sulfolobus acidocaldarium*, *Sulfolobus tokodaii*, *Pyrobaculum caldifontis*, *Pyrobaculum islandicum* (GenBank: AAF27815), *Methanococcus jannaschii* (GenBank: Q58295), *Desulfurococcus species* TOK, *Desulfurococcus*, *Pyrolobus*, *Pyrodictium*,
40 *Staphylothermus*, *Vulcanisaetta*, *Methanococcus* (GenBank: P52025) y otras polimerasas de arqueas B, tales como GenBank AAC62712, P956901, BAAA07579)). Las polimerasas de la familia A y B de temperatura estable representativas adicionales incluyen, por ejemplo, polimerasas extraídas de las bacterias termófilas de la especie *Thermus* (por ejemplo, *flavus*, *ruber*, *thermophilus*, *lacteus*, *rubens*, *aquaticus*), *Bacillus stearothermophilus*, *Thermotoga maritima*, *Methanothermus fervidus*.

45

También se describen en el presente documento ADN polimerasas que aún no se han aislado. Dichas polimerasas incluyen polimerasas de fusión. Las polimerasas de fusión contienen generalmente un dominio de proteína adicional en el extremo N o C que cambia el fenotipo de la polimerasa de fusión en comparación con la polimerasa sin el dominio adicional. Las polimerasas ejemplares incluyen, pero sin limitación, polimerasas con dominios de unión a
50 ADN bicatenarios condensados en el extremo C o N. Los ejemplos adicionales de polimerasas de fusión incluyen aquellas con dUTPasa condensada al extremo N o C (solicitud de patente de Estados Unidos 20070190538).

Las NA polimerasas pueden contener secuencias obtenidas a partir de dos o más ADN polimerasas que tienen al menos una característica funcional distinta. Las características funcionales ejemplares incluyen, pero sin limitación,
55 capacidad de procesamiento, tasa de elongación, fidelidad, resistencia a la sal o aditivo PCR (por ejemplo, potenciadores PCR), termoestabilidad, actividad de desplazamiento de la cadena, actividad exonucleasa, función de lectura anticipada de uracilo, selectividad nucleotídica, capacidad de incorporar análogos modificados, y actividad de la transcriptasa inversa. Por ejemplo, algunas ADN polimerasas están caracterizadas con alta fidelidad. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta fidelidad" se refiere a una tasa de error menor de $4,45 \times 10^{-6}$ (por

ejemplo, menor de $4,0 \times 10^{-6}$, $3,5 \times 10^{-6}$, $3,0 \times 10^{-6}$, $2,5 \times 10^{-6}$, $2,0 \times 10^{-6}$, $1,5 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-6}$, $0,5 \times 10^{-6}$ mutaciones/nt/duplicación. Algunas ADN polimerasas están caracterizadas con una alta capacidad de procesamiento. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta capacidad de procesamiento" se refiere a una capacidad de procesamiento mayor de 20 nts (por ejemplo, mayor de 40 nts, 60 nts, 80 nts, 100 nts, 120 nts, 140 nts, 160 nts, 180 nts, 200 nts, 220 nts, 240 nts, 260 nts, 280 nts, 300 nts, 320 nts, 340 nts, 360 nts, 380 nts, 400 nts, o superior) por asociación/disociación con la plantilla. Algunas ADN polimerasas están caracterizadas con una alta tasa de elongación. Como se usa en el presente documento, la expresión "alta tasa de elongación" se refiere a una tasa de elongación mayor de 25 nt/s (por ejemplo, mayor de 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140 nt/s). Algunas enzimas están caracterizadas con una alta resistencia a la sal (también denominada tolerancia a la sal). Como se usa en el presente documento, la expresión "alta resistencia a la sal" (también denominada como alta tolerancia a la sal) se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para mantener sustancialmente su actividad en una concentración de sal mayor de 30 mM (por ejemplo, mayor de 35 mM, 40 mM, 45 mM, 50 mM). Además, algunas enzimas están caracterizadas con resistencia a aditivos PCR. Ciertos aditivos PCR son potenciadores PCR. Por ejemplo, Kovarova y col. mostraron que las sales TMA, DMSO, betaína y formamida actúan como potenciadores PCR (Kovarova y Draber. (2000) Nucl. Acids. Res. 28(13), e70). Otro ejemplo de potenciadores PCR es glicerol. Algunas enzimas están caracterizadas con resistencia a potenciadores PCR, en particular, TMAC (también denominada como tolerancia a TMAC). Como se usa en el presente documento, la expresión "alta tolerancia a TMAC" se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa para mantener sustancialmente su actividad enzimática a una concentración de TMAC (cloruro de tetrametilamonio) mayor de 10 mM (por ejemplo, mayor de 15 mM, 20 mM). Algunas características de las ADN polimerasas ejemplares se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de ADN polimerasas ejemplares

Polimerasas	Fidelidad/Tasa de error	Capacidad de procesamiento (nts)	Tasa de elongación (nts/s)	Tolerancia a la sal
Pfu	$2,0 \times 10^{-6}$	>20	25	30 mM
KOD	$4,45 \times 10^{-6}$	~300	106-138	
TNA1		150		
T. zilligii	$2,0 \times 10^{-6}$			
P. abyssi	$0,66 \times 10^{-6}$			
T. gorgonarius	$2,2-3,4 \times 10^{-6}$			

Típicamente, las enzimas con alta tolerancia a la sal también están caracterizadas con una alta capacidad de procesamiento y/o tasa de elongación. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que la tolerancia a la sal afecta a la afinidad de unión entre la polimerasa y el ADN lo que, a su vez, afecta a la capacidad de procesamiento o la tasa de elongación. Típicamente, la unión de polimerasas a ADN implica la interacción de unión entre residuos aminoacídicos cargados positivamente y ADN cargado negativamente. A altas concentraciones de sal, la competición de los aniones de la sal para los residuos aminoacídicos cargados positivamente en las polimerasas conduce a una disminución de la afinidad de unión a ADN. Véase, Pavlov y col. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. 99(21): 13510-13515. Por otro lado, al aumento de los puntos de contacto entre el ADN y la polimerasa puede aumentar la resistencia a la sal de la polimerasa, así como la capacidad de procesamiento o la tasa de elongación ya que los puntos de contacto adicionales entre el ADN y la polimerasa pueden aumentar la afinidad de unión de la polimerasa para ADN y disminuir la tasa de disociación de manera que la polimerasa permanecerá asociada al ADN más tiempo, lo que a su vez conducirá a un aumento de la capacidad de procesamiento. Por ejemplo, Pavlov y col. añadieron motivos hélice-horquilla-hélice (HhH) de la topoisomerasa V a Taq y Pfu. Estos motivos están implicados en la unión a ADN en la topoisomerasa V. Pavlov y col. mostraron que tanto Pfu como Taq se vuelven más resistentes a la sal cuando se condensan a los motivos HhH. Pavlov y col. también mostraron que la fusión HhH tanto a Taq como Pfu aumentó la capacidad de procesamiento de las polimerasas. Como otro ejemplo, las proteínas de unión a dsDNA, por ejemplo, Sso7d, pueden condensarse a ADN polimerasas para aumentar el número de puntos de contacto entre el ADN y las polimerasas (Wang y col. (2004) Nucl. Acids Res. 32(3): 1197-1207). Sso7d es una secuencia de unión a dsDNA no específica de secuencia implicada en garantizar la estabilidad del ADN y/o el empaquetamiento del ADN en *Sulfolobus solfataricus*. La fusión de Sso7d tanto a Taq como Pfu aumentó la resistencia a la sal y la capacidad de procesamiento de las polimerasas.

Las ADN polimerasas ejemplares caracterizadas con una alta capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a la sal y al potenciador PCR incluyen, pero sin limitación, polimerasa KOD, polimerasa TNA1, *Thermococcus* sp. 9 grados N-7, T4, T7 o phi29. Las ADN polimerasas ejemplares caracterizadas con una alta fidelidad incluyen, pero sin limitación, polimerasas aisladas de *Pyrococcus furiosus*, *P. abyssi*, *T. gorgonarius*, *T.*

litoralis, *T. zilligii*, *T. sp.* GT o *P. sp.* GB-D.

Se usan las polimerasas KOD y Pfu para diseñar ADN polimerasas quiméricas (véase las sección Ejemplos).

5 Dominios de ADN polimerasas

Típicamente, las ADN polimerasas arqueanas incluyen al menos los siguientes dominios: dominio N-terminal, dominio exonucleasa (por ejemplo, dominio 3' -> 5' exonucleasa), dominio de palma, dedos y de pulgar (véase la figura 1). El conocimiento de la estructura del dominio, la función y la coordinación se basa principalmente en estudios de la estructura cristalina y mutagénesis dirigida a sitio de diversas ADN polimerasas, en particular, ADN polimerasas arqueanas. Por ejemplo, entre las primeras estructuras cristalinas de las ADN polimerasas de la familia B obtenidas se encontraban las de la ADN polimerasa del bacteriófago RB69 (Wang y col. (1997) Cell, 89: 1087-1099). Entre las primeras estructuras cristalinas de las ADN polimerasas arqueanas resueltas se encontraba ADN polimerasa Tgo (véase, Hopfner y col. 1999 Proc. Natl. Acad. Sci. 96(7), 3600-3605, que se incorpora por referencia en el presente documento). Recientemente, se han indicado las estructuras cristalinas de las siguientes ADN polimerasas arqueanas de la familia B: ADN polimerasa de *Thermococcus sp.* 9°N-7 (Rodríguez y col. (2000) J. Mol. Biol. 299: 447-462), ADN polimerasa KOD1 (Hashimoto y col. 2001 J. Mol. Biol. 306(3), 469-477), ADN polimerasa Pfu (véanse, Patentes de Estados Unidos N° 5.948.663; 5.866.395; 5.545.552; 5.556.772 y Kim y col. (2008) Int. J. Biol. Macromol. 42(4), 356-61).

Se han asignado diversas funciones, tales como unión a sustrato, transferencia nucleotídica, actividad catalítica, corrección de errores, a diversos dominios en base al análisis estructural-funcional de las ADN polimerasas. También se ha sugerido que los dominios se coordinan estrechamente entre sí para completar el proceso de replicación de ADN.

Por ejemplo, la actividad polimerasa se ha asociado a los dominios de palma, dedos y pulgar. En particular, se cree que el subdominio de palma será el sitio catalítico de la polimerasa. La polimerasa cataliza una reacción de transferencia de fosforilo en la que el alfa fosfato del dNTP entrante experimenta ataque nucleófilo del extremo cebador OH. Típicamente, son importantes tres cadenas laterales carboxilato para este sitio activo. Estos residuos pueden unir dos iones metálicos (Mg⁺⁺) lo que puede facilitar la desprotonación del extremo OH y la formación de un estado de transición en el alfa fosfato del dNTP. Se cree que el dominio de pulgar interactúa con el menor surco del dsDNA recién sintetizado y también con el nucleótido entrante. El dominio de pulgar está menos conservado pero típicamente tiene una estructura en gran parte helicoidal. El dominio de los dedos puede tener una función en la fijación de la plantilla y la especificidad nucleotídica. Como el dominio de pulgar, es probable que interactúe con el nucleótido entrante. El dominio de pulgar puede contener hélices α , y/o cadenas β . Se cree que las ADN polimerasas no unidas forman conformaciones abiertas de los dominios de dedos y pulgar, y cuando el ADN está unido, los dos dominios se desplazan hacia el dominio de palma para mantener la plantilla de ADN y el cebador más estrechamente y para sondar el apareamiento de bases Watson-Crick entre el nucleótido entrante y el nucleótido plantilla. La presencia de un nucleótido que forma un par de bases Watson-Crick con la plantilla facilita la formación de una conformación apropiada del sitio activo de la polimerasa y la posterior incorporación de este nucleótido. Para una revisión, véase Hamilton y col. (2001) BioTechniques 31: 370-383. Se indicó que la mutagénesis en el dominio de palma/dedos puede afectar a la selectividad nucleotídica y la afinidad y la mutagénesis en el dominio de pulgar pueden afectar a la afinidad de unión a dsDNA. Se describen aminoácidos importantes en los dominios de palma, dedos y pulgar en la Publicación de la Solicitud de Estados Unidos N° 20060281109.

La función de lectura anticipada de uracilo se ha asociado al dominio N-terminal. Por ejemplo, las ADN polimerasas arqueanas de la familia B son capaces de reconocer el uracilo no reparado en una cadena plantilla y paralizar la polimerización en la dirección 5' de la lesión para impedir una mutación A-T. Se identificó que un "bolsillo" en los dominios N-terminal de las ADN polimerasas arqueanas estaba situado para interactuar con la cadena plantilla y proporcionar esta función de lectura anticipada de uracilo (Fogg y col. (2002) Nature Structural Biology 9(12), 922-927).

El dominio exonucleasa está asociado a la actividad 5' -> 3' exonucleasa, la actividad 3' -> 5' exonucleasa, o ambas, lo que se requiere para eliminar el nucleótido insertado incorrectamente. Cuando se incorpora un nucleótido desigual, la cadena plantilla/cebador se une a la polimerasa más débilmente y/o está mal alineado con respecto al sitio activo de la polimerasa haciendo que el nucleótido desigual se desplace al sitio activo del dominio exonucleasa y se elimine.

Se cree que la fidelidad se ve afectada por la proporción de la polimerasa y la actividad exonucleasa, lo que puede

verse influenciado por la tasa de disociación, el cambio conformacional, y la tasa de incorporación nucleotídica en presencia de nucleótidos desiguales. También se ha sugerido que el equilibrio entre la actividad 3' -> 5' exonucleasa y la actividad polimerasa está mediado por un bucle flexible que contiene el motivo Y-GG/A localizado entre los dominios N-terminal y exonucleasa y los dominios polimerasa C-terminal (es decir, los dominios de palma, dedos y 5 de pulgar). Véase, Bohlke y col. (2000) Nucl. Acids Res. 28(20), 3910-3917. Un bucle único del dominio exonucleasa, y la punta del pulgar son importantes para la coordinación de las actividades de *proofreading* y polimerasa en las ADN polimerasas. La mutagénesis dirigida a sitio en este bucle, especialmente en H147 en ADN polimerasa KOD, sugirió que las interacciones electroestáticas e hidrófobas entre este bucle y el pulgar afectan a la relación entre la actividad exonucleasa y la actividad polimerasa y, por lo tanto, a la fidelidad. Véase, Kuroita y col. J. Mol. Biol. (2005) 351, 291-298.

Intercambio de dominio

Pueden combinarse dominios heterólogos de diferentes ADN polimerasas (por ejemplo, polimerasas con al menos 15 una característica funcional distinta) para formar una polimerasa quimérica. Los dominios adecuados incluyen dominios N-terminal de origen natural, dominios exonucleasa, dominios de palma, dedos y/o de pulgar que se encuentran en diversas ADN polimerasas. Los dominios N-terminal de origen natural, los dominios exonucleasa, los dominios de palma, dedos y/o de pulgar en diversas ADN polimerasas están bien definidos. Por ejemplo, un dominio N-terminal puede incluir una secuencia correspondiente a los restos aminoacídicos 26 a 105 de la polimerasa KOD (SEQ ID NO: 11); un dominio exonucleasa puede incluir una región correspondiente a los residuos aminoacídicos 20 156 a 301 de polimerasa KOD (SEQ ID NO: 11); un dominio de pulgar puede incluir una región correspondiente a los residuos aminoacídicos 612 a 749 de polimerasa KOD (SEQ ID NO: 11); y el dominio de palma y dedos puede incluir una región correspondiente a los residuos aminoacídicos 394 a 563 de polimerasa Pfu (SEQ ID NO: 9).

25 Los dominios o posiciones correspondientes en diversas ADN polimerasas pueden determinarse por el alineamiento de las secuencias aminoacídicas. El alineamiento de las secuencias aminoacídicas puede conseguirse de diversas maneras que están dentro de la capacidad en la técnica, por ejemplo, usando un software informático públicamente disponible tal como el software BLAST, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir el alineamiento, incluyendo cualquier algoritmo necesario para 30 conseguir un alineamiento máximo sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan. Preferiblemente, se usa el software WU-BLAST-2 para determinar la identidad de secuencia aminoacídica (Altschul y col., Methods in Enzymology 266, 460-480 (1996); <http://blast.wustl.edu/blast/README.html>). WU-BLAST-2 usa varios parámetros de búsqueda, la mayor parte de los cuales se ajustan a los valores por defectos. Los parámetros ajustables se ajustan con los siguientes valores: espacio de solapamiento = 1, fracción de solapamiento = 0,125, umbral de palabra (T) = 11. Los parámetros de puntuación HSP (S) y HSP S2 son valores dinámicos y se establecen por el 35 propio programa, dependiendo de la composición de la secuencia particular, sin embargo, los valores mínimos pueden ajustarse y se ajustan como se ha indicado anteriormente. Se muestra un ejemplo de alineamiento en la figura 1.

40 En algunas realizaciones, un dominio adecuado puede ser una variante (por ejemplo, mutante o fragmento) de una secuencia de dominio de origen natural. Por ejemplo, un dominio adecuado puede tener una secuencia que es al menos un 70 % (por ejemplo, al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) idéntica a una secuencia aminoacídica de un dominio de origen natural que se encuentra en una ADN polimerasa de interés.

45 Se contempla adicionalmente que las secuencias que definen el dominio N-terminal, el dominio exonucleasa, los dominios de palma, dedos y/o pulgar pueden relacionarse con ciertas características enzimáticas de las ADN polimerasas, tales como, fidelidad o tasa de error, tasa de elongación, capacidad de procesamiento y resistencia a la sal. Por ejemplo, como se describe en la sección de Ejemplos, los presentes inventores han demostrado que las 50 secuencias que definen los dominios N-terminal, exonucleasa y/o de pulgar pueden correlacionarse con las características asociadas a la tasa de elongación, capacidad de procesamiento, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o resistencia a la sal; y que las secuencias que definen el dominio de palma y/o dedos pueden correlacionarse con las características asociadas a la fidelidad o la tasa de error de las ADN polimerasas.

55 Además, basándose en los alineamientos de secuencia entre diversas ADN polimerasas (véase, por ejemplo, la figura 1), se contempla adicionalmente que los dominios correlativos a una alta capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o resistencia a la sal pueden definirse por una o más de las siguientes secuencias consenso positivas:

Adicionalmente, o como alternativa, un dominio correlativo a una alta fidelidad puede definirse por la secuencia consenso negativa (que define un dominio de palma y dedos):

EX₁GLWENIVYLDFRX₂LYPSIIITHNVSPDTLNX₃EGCKX₄YDX₅APQVGHX₆FCKDX₇P
GFIPSLGX₈LLEERQKIX₉KMKX₁₀TX₁₁DPIEX₁₂X₁₃LLDYRQX₁₄AIKX₁₅LANSX₁₆YG

- 5 YGYAX₁₇ARWYCKEACESVTAWGRX₁₈YIX₁₉X₂₀X₂₁X₂₂KEX₂₃EEX₂₄GFKVX₂₅YX₂₆
DTDGX₂₇X₂₈ATIPGX₂₉X₃₀X₃₁EX₃₂X₃₃KKKAX₃₄E (SEQ ID NO: 37), en la que X₁ no es R; X₂ no es S; X₃ no es R; X₄ no es E; X₅ no es V; X₆ no es R; X₇ no es F; X₈ no es D; X₉ no es K; X₁₀ no es A; X₁₁ no es I; X₁₂ no es R; X₁₃ no es K; X₁₄ no es R; X₁₅ no es I; X₁₆ no es Y; X₁₇ no es R; X₁₈ no es E; X₁₉ no es T; X₂₀ no es M; X₂₁ no es T; X₂₂ no es I; X₂₃ no es I; X₂₄ no es Y; X₂₅ no es I; X₂₆ no es S; X₂₇ no es F; X₂₈ no es F; X₂₉ no es A; X₃₀ no es D; X₃₁ no es A; X₃₂ no es T; X₃₃ no es V; X₃₄ no es M.

Por lo tanto, los dominios apropiados pueden tomarse u obtenerse a partir de ADN polimerasas con distintas características funcionales para diseñar una ADN polimerasa quimérica con combinaciones deseables de características funcionales. Los métodos pueden incluir las etapas de: (a) proporcionar un dominio N-terminal, un dominio exonucleasa, y/o un dominio de pulgar en base a una primera ADN polimerasa; (b) proporcionar un dominio de palma y/o dedos basado en una segunda ADN polimerasa; (c) combinar los dominios de la etapa (a) y la etapa (b) para formar una polimerasa quimérica. Las primera y segunda ADN polimerasas descritas en el presente documento pueden caracterizarse con al menos una característica distinta. Por ejemplo, la primera ADN polimerasa puede caracterizarse con una alta capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o resistencia a la sal, y la segunda ADN polimerasa puede caracterizarse con una alta fidelidad. La primera ADN polimerasa como se describe en el presente documento, puede caracterizarse con una alta fidelidad y la segunda ADN polimerasa puede caracterizarse con una alta capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o resistencia a la sal. Las polimerasas quiméricas descritas en el presente documento pueden diseñarse para tener una capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC o resistencia a la sal sustancialmente similar a la de la primera ADN polimerasa y una fidelidad sustancialmente similar a la de la segunda ADN polimerasa. Las polimerasas quiméricas diseñadas como se describe en el presente documento tienen una fidelidad mayor que la de la primera ADN polimerasa y la capacidad de procesamiento, tasa de elongación o resistencia a la sal mayor que la de la segunda ADN polimerasa.

30 También se describen métodos para proporcionar la fidelidad, capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o resistencia a la sal de una ADN polimerasa. Dichos métodos pueden incluir una etapa de reemplazar una secuencia en el dominio palma-dedos de la ADN polimerasa de interés con una secuencia correspondiente de una ADN polimerasa diferente que está caracterizada con mayor fidelidad con respecto a la ADN polimerasa de interés.

35 También se describen métodos que incluyen una etapa de reemplazar una secuencia dentro del dominio N-terminal, el dominio exonucleasa y/o el dominio de pulgar de la ADN polimerasa de interés con una secuencia correspondiente de una ADN polimerasa diferente que está caracterizada con mayor capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC o resistencia a la sal con respecto a la ADN polimerasa de interés.

45 Como un ejemplo no limitante, los presentes inventores han diseñado una ADN polimerasa quimérica Kofu y su quimera recíproca POD en base a la polimerasa KOD y la polimerasa Pfu (véase la sección Ejemplos). Como se analiza en la sección de ejemplos, Kofu contiene el dominio N-terminal, el dominio exonucleasa y el dominio de pulgar de la polimerasa KOD y el dominio de palma-dedos de la polimerasa Pfu. La secuencia de la polimerasa Kofu se proporciona en la SEQ ID NO: 16. La quimera recíproca POD contiene el dominio N-terminal, el dominio exonucleasa y el dominio de pulgar de la polimerasa Pfu y el dominio de palma-dedos de la polimerasa KOD. La secuencia de la polimerasa POD se proporciona en la SEQ ID NO: 15.

50 Como se analiza en la sección de ejemplos, la polimerasa quimérica Kofu muestra la fidelidad de replicación aproximada de Pfu, pero la velocidad de elongación, capacidad de procesamiento, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y rendimiento por PCR similar a KOD. Como alternativa, la polimerasa quimérica Pod muestra la fidelidad de replicación aproximada de KOD, pero la velocidad de elongación, capacidad de procesamiento, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y rendimiento por PCR similar a Pfu.

55 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona variantes de la polimerasa quimérica Kofu que contienen una secuencia aminoacídica al menos un 95 % (por ejemplo, al menos un 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) idéntica a la SEQ ID NO: 16 (secuencia aminoacídica Kofu). En realizaciones particulares, las variantes de polimerasa quimérica Kofu de acuerdo con la invención tienen una capacidad de procesamiento, tasa de elongación,

termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o fidelidad sustancialmente similares a Kofu.

En algunas realizaciones, las variantes de polimerasas quiméricas Kofu de acuerdo con la presente invención se definen por la secuencia consenso

5 XXXXTXXXXDXXXXXXIXXXXXEXXXYXXXEXXFXXXXKXXAXXXXXX
 XXAXXXXTVTVKRXKXQXXXXXRXVEXXXFTXXXXXAXDXIXXXXXX
 XYXXXXXXXXXXXXXXXXVXXXXDXXXMXXXXXXXXXXXXXXXXXAEXXLX
 XXXXXEGXRXXXXXXXXVXXXXDXXXXXXXXXXXXXVVKXXXXVLIXXXX
 NXXXAXKXXCXKXXXXNFALXXXXXXXXXXIXMXXRFXXXXXXXXXXXXXPX
 10 XRXXXXXXXXXXXXXXXXVXXQXXXXXXXXEXXTTXXXTXXXXXXXXRXKXXX
 XXVXXXXXXXXXXXXAXXXXXVXXPXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXV
 XXXXXSXEYQXXXXEXXTXXFXXXXXKXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
 XXXXXLXXXNXIXXXXXXKXXXXIXXXXXXXXXXXHXXXXXXXXXTXXEXQX
 XXXKIXXXXXKXXXLXXXXFXXXXXXXXKXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXELVW
 15 XLXXXFXXXLXIXXXLYXXXXGESXEIXXXLXLXXXAXXXXAXXXXX
 XXXXXXXXXXXXXXXXIXXXXXXXXXITXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXALX
 XDXXXXKXXXXXXXXTEXXSKXXVXXXXVHXXXXXDXKDXXTXXXXXX
 RXXXXRXXXXRXXTXXSXXXXKXXRXGDXXPFDFXXTXXXXXXXXXXXXX
 XXXXEXXRAXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXSAXKXPGT (SEQ ID NO: 38), en la que X es cualquier aminoácido o
 20 un enlace peptídico.

En algunas realizaciones, las variantes de polimerasas quiméricas Kofu de acuerdo con la presente invención se definen por la secuencia consenso

XIXDTDYXTXDGXPXRIFKXXGFEFXXYDXXFEPYFYALLKDDSAIXXXXXXA
 25 XRHGTVXTVKRXXXXQXKFLRXRVEVWXLXFTHPQDVPAXDXIXHXVIDIYE
 YDIPFAKRYLIDGLVPMEGDEXLXMXDIETXYHEGXFEAEGXXLMISYADXEG
 ARVITWKKXXDLFYLVSTEXEMIKRXXXVVKEDPDVLIYXGDNFDXAYLKXR
 CEXLGNFALRXKXXXXEPKIXXMGXRFAVEXKGRXHFDLXPXXRXTXNLPTYXL
 XXVYEXVXGQXKXXXXEITTXWETXXXXXXXXARYSMEDAXVTXELGXEFPX
 30 EAXLXLVGXPXWDVXRSSTGNLVEWLLXXAYXRNEVAPNKPSXEEYQXRXXE
 XYTGXFVXEPEKGLWXXXXLDXXALYPSIIXHNVSPDTLXLEXCNXYDIAPXVG
 XKFKDIPGFIPSLXHLXXXRQXXKTXMXEQDPXKIXLDYRQKAXKILLXNSFY
 GYGXYKARWYXXECAESVTXWGRKYIELVWXELEXFGFKLYIDTDGLYATIP
 GGEXEIKXXLXFLXYINAXLPGALELEYEXFYXRGFFVXKKKYAXIDEXXITTR
 35 GLEXVRRDWSXXAKETXAVLEALLDXVXKAVXXVXXTEXXSKYXVPXEKL
 VIHEQITRDXXDYXATGPHVAXAKRLXXRGXXRPGTXISYXXLKSGRXXGDRXIPF
 DEFXXTKHXDYXXYYIENQVLPAPERXLRAGFYXXXLXXQXXQXGLSAWXXP XGT (SEQ ID NO: 39), en la que X
 es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40 En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona variantes de POD polimerasas quiméricas que contienen una secuencia aminoacídica al menos un 80 % (por ejemplo, al menos un 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) idéntica a la SEQ ID NO: 15 (secuencia aminoacídica Pod). En realizaciones particulares, las variantes de polimerasas quiméricas POD de acuerdo con la presente invención tienen una capacidad de procesamiento, tasa de elongación, termoestabilidad, tolerancia a TMAC y/o fidelidad similares a POD.

45 *Expresión de ADN polimerasas quiméricas de la invención*

Las técnicas de ADN recombinante convencionales (por ejemplo, digestión de enzima de restricción, ligación, PCR) pueden usarse para diseñar ADN polimerasas quiméricas de acuerdo con la presente invención. Pueden aplicarse
 50 métodos bien conocidos en la técnica para expresar y aislar ADN polimerasas quiméricas. Muchos vectores de expresión bacteriana contienen elementos de secuencia o combinaciones de elementos de secuencia que permiten una expresión inducible de alto nivel de la proteína codificada por una secuencia extraña. Los vectores de expresión están disponibles en el mercado, por ejemplo, en Novagen (<http://www.emdbiosciences.com/html/NVG/AllTables.html#>).

55 Además, las bacterias que expresan una forma inducible integrada del gen de la ARN polimerasa T7 pueden transformarse con un vector de expresión que lleva un gen de ADN polimerasa quimérica unido al promotor T7. La inducción de la ARN polimerasa T7 por la adición de un inductor apropiado, por ejemplo, isopropil-p-D-tiogalactopiranosido (IPTG) para un promotor lac-inducible, induce la expresión de alto nivel del gen quimérico del

promotor T7.

Pueden seleccionarse cepas huésped apropiadas de bacterias a partir de las disponibles en la técnica por un experto en la técnica. Como un ejemplo no limitante, se usa comúnmente la cepa de *E. coli* BL-21 para la expresión de proteínas exógenas, ya que es deficiente en proteasa con respecto a otras cepas de *E. coli*. Para situaciones en las que el uso de codón para el gen de polimerasa particular difiere al normalmente observado en los genes de *E. coli*, hay cepas de BL-21 que están modificadas para llevar genes tRNA que codifican tRNA con anticodones más raros (por ejemplo, genes tRNA argU, ileY, leuW y proL), lo que permite una expresión de alta eficiencia de los genes quiméricos clonados (están disponibles varias cepas celulares BL21-CODON PLUS™ que llevan tRNA de codón raro en Stratagene, por ejemplo). Adicionalmente, o como alternativa, los genes que codifican las ADN polimerasas pueden estar optimizados por codón para facilitar la expresión en *E. coli*. Las secuencias optimizadas por codón pueden sintetizarse químicamente.

Hay muchos métodos conocidos por los expertos en la técnica que son adecuados para la purificación de una ADN polimerasa quimérica de la invención. Por ejemplo, el método de Lawyer y col. (1993, PCR Meth. & App. 2: 275) está bien adaptado para el aislamiento de ADN polimerasas expresadas en *E. coli*, ya que se diseñó originalmente para el aislamiento de la polimerasa Taq. Como alternativa, puede usarse el método de Kong y col. (1993, J. Biol. Chem. 268: 1965, incorporado en el presente documento por referencia), que emplea una etapa de desnaturalización por calor para destruir las proteínas huésped, y etapas de purificación de dos columnas (sobre columnas DEAE-Sepharose y heparina-Sepharose) para aislar la ADN polimerasa altamente activa y aproximadamente pura al 80 %.

Adicionalmente, los mutantes de ADN pueden aislarse por un fraccionamiento de sulfato de amonio seguido de columnas de Q Sepharose y ADN celulosa, o por absorción de contaminantes sobre una columna HiTrap Q seguido de gradiente de elución de una columna de heparina HiTrap.

Usos de ADN polimerasas quiméricas de la invención

Pueden usarse ADN polimerasas quiméricas de la presente invención para cualquier método que implique la síntesis de polinucleótidos. Los métodos de síntesis de polinucleótidos se conocen bien por un experto en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en Molecular Cloning, segunda edición, Sambrook y col., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989). Por ejemplo, las ADN polimerasas quiméricas de la presente invención tienen una diversidad de usos en la tecnología de ADN recombinante incluyendo, pero sin limitación, etiquetado de ADN por traducción de Nick, síntesis de ADN bicatenario en la clonación de ADN, secuenciación de ADN, y amplificación, detección y/o clonación de secuencias de ácido nucleico usando reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

En algunas realizaciones, la invención proporciona enzimas fuertes, rápidas y precisas para PCR. PCR se refiere a un método *in vitro* para amplificar una secuencia plantilla polinucleotídica específica. La técnica de PCR se describe en numerosas publicaciones, incluyendo, PCR: A Practical Approach, M. J. McPherson, y col., IRL Press (1991), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, de Innis, y col., Academic Press (1990), y PCR Technology: Principals and Applications for DNA Amplification, H. A. Erlich, Stockton Press (1989). La PCR también se describe en muchas Patentes de Estados Unidos, incluyendo las Patentes de Estados Unidos N° 4.683.195; 4.683.202; 4.800.159; 4.965.188; 4.889.818; 5.075.216; 5.079.352; 5.104.792; 5.023.171; 5.091.310; y 5.066.584.

Se espera que las ADN polimerasas quiméricas con mayor capacidad de procesamiento, tasa de elongación y/o fidelidad reduzcan la tasa de error, mejoren la eficacia y la tasa de éxito de una amplificación de largo alcance (mayor rendimiento, mayores dianas amplificadas), y/o reduzcan la cantidad de plantilla de ADN requerida.

Están disponibles en la técnica diversas aplicaciones de amplificación por PCR específicas (para revisiones, véase, por ejemplo, Erlich, 1999, Rev Immunogenet., 1: 127-34; Prediger 2001, Methods Mol. Biol. 160: 49-63; Jurecic y col., 2000, Curr. Opin. Microbiol. 3: 316-21; Triglia, 2000, Methods Mol. Biol. 130: 79-83; MacClelland y col., 1994, PCR Methods Appl. 4: S66-81; Abramson y Myers, 1993, Current Opinion in Biotechnology 4: 41-47

Como ejemplos no limitantes, la presente invención puede usarse en aplicaciones de PCR incluyendo, pero sin limitación, i) PCR *hot-start* de inicio en caliente, que reduce una amplificación no específica; ii) PCR *touch-down* que comienza a una alta temperatura de hibridación, después disminuye la temperatura de hibridación en etapas para reducir el producto PCR no específico; iii) PCR anidada que sintetiza un producto más fiable usando un conjunto externo de cebadores y un conjunto interno de cebadores; iv) PCR inversa para la amplificación de regiones que flanquean una secuencia conocida. En este método, el ADN se digiere, el fragmento deseado se circulariza por

- ligación, después por PCR usando cebador complementario a la secuencia conocida que se extiende hacia fuera; v) AP-PCR (cebado arbitrario)/RAPD (ADN polimorfo amplificado al azar). Estos métodos crean huellas genómicas a partir de especies con secuencias diana poco conocidas por amplificación usando oligonucleótidos arbitrarios; vi) RT-PCR que usa ADN polimerasa dirigida a ARN (por ejemplo, transcriptasa inversa) para sintetizar ADNc que se usa después para PCR. Este método es extremadamente sensible para detectar la expresión de una secuencia específica en un tejido o células. También puede usarse para cuantificar transcripciones de ARNm; vii) RACE (amplificación rápida de extremos de ADNc). Esto se usa cuando la información sobre la secuencia de ADN/proteína es limitada. El método amplifica los extremos 3' o 5' de los ADNc que generan fragmentos de ADNc únicamente con un cebador específico cada uno (más un cebador adaptador). Después, los productos RACE de solapamiento pueden combinarse para producir ADNc de longitud completa; viii) DD-PCR (PCR de visualización diferencial) que se usa para identificar genes expresados diferencialmente en diferentes tejidos. La primera etapa en DD-PCR implica RT-PCR, después se realiza la amplificación usando cebadores cortos intencionalmente no específicos; ix) PCR Multiplex en la que dos o más dianas únicas de secuencias de ADN en el mismo espécimen se amplifican simultáneamente. Puede usarse una secuencia de ADN como control para verificar la calidad de PCR; x) Q/C-PCR (comparativa cuantitativa) que usa una secuencia de ADN de control interno (pero de diferente tamaño) que compite con el ADN diana (PCR competitiva) por el mismo conjunto de cebadores; xi) PCR recursiva, que se usa para sintetizar genes. Los oligonucleótidos usados en este método son complementarios a tramos de un gen (>80 bases), de forma alternativa a las cadenas directas y a las cadenas antisentido con extremos de solapamiento (-20 bases); xii) PCR asimétrica; xiii) PCR *In Situ*; xiv) Mutagénesis PCR dirigida a sitio; xv) DOP-PCR que usa cebadores parcialmente degenerados para la amplificación de todo el genoma; xvi) PCR cuantitativa usando SYBR verde o sondas oligonucleotídicas para detectar la amplificación; xvii) amplificación del genoma completo usando bibliotecas de fragmentos de ADN ligadas a adaptador como plantilla, y xviii) PCR propensa a error, en la que las condiciones se optimizan para dar un aumento del número de mutaciones en el producto PCR.
- 25 Debe entenderse que esta invención no se limita a ningún sistema de amplificación particular. Según se desarrollan otros sistemas, estos sistemas pueden beneficiarse de la práctica de esta invención.

Kits

- 30 La invención también contempla formatos de kits que incluyen un paquete unitario que tiene uno o más recipientes que contienen ADN polimerasas quiméricas de la invención y composiciones de las mismas. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona kits que incluyen adicionalmente recipientes de diversos reactivos usados para la síntesis polinucleotídica, incluyendo la síntesis en PCR.
- 35 Los kits de la invención de acuerdo con la presente invención también pueden contener uno o más de los siguientes elementos: precursores polinucleotídicos, cebadores, tampones, instrucciones y controles. Los kits pueden incluir recipientes de reactivos mezclados juntos en las proporciones adecuadas para realizar los métodos de acuerdo con la invención. Los recipientes de reactivo contienen preferiblemente reactivos en cantidades unitarias que eluden las etapas de medición al realizar los métodos objeto.

40

Ejemplos

Ejemplo 1. Diseños de quimeras de ADN polimerasas KOD y Pfu

- 45 Las dos enzimas seleccionadas para incluir en este experimento fueron ADN polimerasa *Pyrococcus furiosus* (*Pfu*) y ADN polimerasas *Thermococcus Kodarensis* (KOD). Las dos enzimas tienen una estructura de dominio similar y tienen una identidad del 79 % a nivel aminoacídico usando alineamientos blastP (véase la Tabla 2). Las estructuras de dominio de *Pfu* y KOD se ilustran en la figura 1.

Tabla 2. Alineamiento ClustalW de Pfu y KOD

PFU	1	MILDVDYITEEGKPVIRLFKKENGKFKIEHDRTFRPYIYALLRDDSKIEEVKKITGERHG	60
KOD	1	...T...D...I...E...Y...E...F...K...A...A...A...	60
PFU	61	KIVRIVDVEKVEKKFLGKPIVWKLYLEHPQDVPTIREKVRHPPAVVDIFEYDIPFAKRY	120
KOD	61	TV.TVKR...Q...R.VE...FT...A..D.I...I..Y.....	120
PFU	121	LIDKGLIPMEGEEELKILAFDIETLYHEGEEFGKGPIMISYADENEAKVITWKNIDLPY	180
KOD	121V...D...M.....AE...L.....EG.R.....V....	180
PFU	181	VEVVSSSEREMIKRFLRIIREKDPDIIVTYNGDSFDFPYLAKRAEKLGIKLTIGRDGSEPK	240
KOD	181	.D...T.....VVK...VLI...N..A..K..C.....NFAL.....	240
PFU	241	MQRIGDMTAVEVKGRIFDLYHVITRTINLPTYTLEAVYEAIFGPKPEKVYADEIAKAWE	300
KOD	241	I..M..RF.....P..R.....V..Q.....E..TT... 300	
PFU	301	SGENLERVAKYSMEDAKATYELGKEFLPMEIQLSRLVGQPLWDVSRSSSTGNLVEWFLLRK	360
KOD	301	T.....R.....V.....A....I..S.....	360
PFU	361	AYERNEVAPNKPSEEEYQRRRESYTGGFVKEPEKGLWENIVYLDFRALYPSIIITHNVS	420
KOD	361L....D.K.LA..~.Q..E.. Y....R.....S.....	419
PFU	421	PDTLNLEGCKNYDIAPQVGHKFKDIPGFIPSLLGHLLEERQKIKTKMKETQDPIEKILL	480
KOD	420R...E..V.....R...F.....D.....K...A..I...RK..	479
PFU	481	DYRQKAIKLLANSFYGYGYAKARWYCKEACAESVTAWGRKYIELVWKELEEKFGFKVLYI	540
KOD	480	...R...I...Y.....R.....E..TMTI..I..Y...I..S	539
PFU	541	DTDGLYATIPGGESEEEKKALEFVKYINSKLPGLLELEYEGFYKRGFFVTKKRYAVIDE	600
KOD	540	...FF....ADA.TV...M..L...A...A.....K.....	599
PFU	601	EGKVITRGGLEIVRRDWEIAKETQARVLETILKHGDVVEAVRIVKEVIQKLANYEIPPEK	660
KOD	600	...IT.....AL..D...K.....TE..SK..V....	659
PFU	661	LAIYEQITRPLHEYKAIGPHVAVAKKLAAGVKIKPGMVIGYIVLRGDGPISNRILAE	720
KOD	660	.V.H....D.KD...T.....R...R...R...T..S...K.S.R.GD...PFD.	719
PFU	721	YDPKHKYDAEYYIENQVLPVLRILEGFGYRKEDLRYQKTRQVGLTSWLNKKS*	776
KOD	720	F..T.....E...RA.....SA..KP.GT*	775
PFU		(SEQ ID NO:9)	
KOD		(SEQ ID NO:11)	

Pfu y KOD tienen características fenotípicas muy distintas, en particular, con respecto a la tasa de elongación, capacidad de procesamiento y tasa de error (véase la Tabla 3):

5

Tabla 3

	<i>Pfu</i>	KOD
Tasa de elongación:	25 nt/s	106-138 nt/s (Takagi y col. 1997)
Capacidad de procesamiento:	>20 nt	~300 nt (Takagi y col. 1997)
Tasa de error (mutaciones/nt/duplicación):	1,5 x 10 ⁻⁶	4,45 x 10 ⁻⁶ (datos internos)

Por lo tanto, el objetivo era encontrar combinaciones quiméricas de estas dos enzimas que mostrasen la tasa de error comparable a Pfu (2,0 x 10⁻⁶) con la capacidad de procesamiento y/o tasa de elongación comparable a KOD (~300 nt/s y 106-138 nt/s respectivamente). Una enzima con las características que se han mencionado anteriormente tiene utilidad como una enzima fuerte, rápida y precisa para PCR.

Se insertaron sitios de restricción en la secuencia nucleotídica optimizada por codón de polimerasas KOD y Pfu en posiciones que flanquean aproximadamente el dominio de la polimerasa de las enzimas (véase el Ejemplo 2). Por ejemplo, los sitios PvuII y EcoRI que flanquean el dominio de polimerasa (el dominio de palma y dedos) se usaron

para reemplazar el dominio polimerasa de Pfu con el de KOD para generar la quimera considerada Pod (figura 2). Esta quimera contiene el dominio N-terminal, el dominio 3'-5' exonucleasa y el dominio de pulgar de Pfu y el dominio de la palma y los dedos de KOD. El intercambio recíproco, produciendo la quimera Kofu, se generó reemplazando el dominio polimerasa (palma y dedos) de KOD con el de Pfu.

5

Ejemplo 2. Optimización de codón y síntesis de ADN polimerasas *Pyrococcus furiosus* y *Thermococcus kodakarensis*

Las secuencias de ADN nativas para polimerasa *Pyrococcus furiosus* I (SEQ ID NO: 1) y polimerasa *Thermococcus kodakarensis* I (SEQ ID NO: 2) se recuperaron de Genbank. Estas dos secuencias de ADN estaban optimizadas por codón *in silico* por Codon Devices (Cambridge, Massachusetts) para su expresión en *E. Coli* resultante en la SEQ ID NO: 3 para la secuencia de ADN del gen optimizado por codón de polimerasa Pfu I y la SEQ ID NO: 4 para la secuencia de ADN del gen optimizado por codón de polimerasa KOD I. Los dos genes optimizados por codón se sintetizaron químicamente y se clonaron en pUC19 por Codon Devices (Cambridge, Massachusetts) dando como resultado la SEQ ID NO: 7 para la polimerasa Pfu I y la SEQ ID NO: 8 para la polimerasa KOD I.

Ejemplo 3: Clonación de las secuencias polimerasa KOD y Pfu I optimizadas por codón en el vector de expresión pKBexp.

20 Las construcciones pUC 19 optimizadas por codón de polimerasa KOD (SEQ ID NO: 8) y Pfu (SEQ ID NO: 7) se clonaron en el vector pKBexp como se indica a continuación:

El vector pKBexp contiene dos sitios Eco31I con protuberancias no complementarias que permiten la clonación direccional de insertos usando una enzima de restricción individual. Los genes de polimerasa KOD y Pfu se diseñaron con dos sitios Eco31I flanqueantes que permitieron una clonación direccional y en marco en pKBexp.

El ADN purificado del vector pKBexp se digirió con Eco31I y se purificó a partir de un gel de agarosa. Asimismo, las construcciones de ADN pUC optimizadas por codón KOD y Pfu (SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 7) se digirieron con Eco31I y los fragmentos de insertos de aproximadamente 2,3 kilobases se cortaron de un gel de agarosa y se purificaron. Se ligaron 30 ng de genes de polimerasa KOD o Pfu con 15 ng de pKBexp digerido usando ADN ligasa T4. Las reacciones de ligación se purificaron y se usaron para transformar *E. coli* DH10B competente. Se hicieron minipreps de ADN de clones resistentes a ampicilina. La presencia de insertos se confirmó por la digestión de los minipreps con XbaI y HindIII, dos enzimas que flanquean el inserto. La clonación de la secuencia del gen de polimerasa KOD en pKBexp considerada pKB11 y el gen de polimerasa Pfu en pKBexp considerado pKB14 se confirmó por secuenciación de ADN.

Ejemplo 4: Intercambio de dominios de secuencias de ADN de genes de polimerasa KOD y Pfu I

Las secuencias optimizadas con codón de genes de la polimerasa KOD (SEQ ID NO: 5) y Pfu (SEQ ID NO: 3) I se diseñaron con sitios de restricción que flanquean aproximadamente los dominios de dedo y palma de la polimerasa KOD y Pfu. La secuencia optimizada por codón de KOD contiene un sitio de restricción PvuII y un sitio de restricción EcoRI. La secuencia optimizada por codón de Pfu contiene un sitio de restricción PvuII y un sitio de restricción EcoRI.

El ADN purificado de pKB 11 y pKB 14 digirieron cada uno las enzimas de restricción EcoRI y PvuII. El fragmento grande (4,7 kb) y el fragmento pequeño (0,7 kb) de cada digestión se extrajeron por separado y se purificaron en gel de agarosa. Los fragmentos pequeños de cada digestión de restricción contenían los dominios de dedo y palma de KOD y Pfu respectivamente. Los fragmentos grandes digeridos y purificados (que contenían el vector de expresión y los fragmentos de polimerasa restantes) se desfosforilaron usando Shrimp Alkaline Phosphate. La construcción considerada POD se creó por ligación de 30 ng del fragmento grande Pfu de 4,7 kb (residuos aa 1 a 335 y 567 a 778 de ADN polimerasa Pfu con 10 ng del fragmento pequeño KOD de 0,7 kb (correspondiente a los residuos aminoácidos 336 a 565 de ADN polimerasa KOD SEQ ID NO: 11). Por lo tanto, POD incluye los dominios N-terminal, exonucleasa y de pulgar de ADN polimerasa Pfu y los dominios de palma y dedo de KOD. La construcción considerada Kofu se hizo por ligación de 30 ng del fragmento grande KOD de 4,7 kb (correspondiente a los residuos aminoácidos 1 a 335 y 566 a 777 de ADN polimerasa KOD SEQ ID NO: 11) con 10 ng del fragmento pequeño Pfu de 0,7 kb (correspondiente a los residuos aminoácidos 336 a 566 de ADN polimerasa Pfu SEQ ID NO: 11). Por lo tanto, Kofu incluye los dominios N-terminal, exonucleasa y de pulgar de ADN polimerasa KOD y los dominios de palma y dedo de Pfu. Las reacciones de ligación se usaron para transformar *E. coli* DH10B. La construcción de Pod (SEQ ID NO: 13) y Kofu (SEQ ID NO: 14) se confirmó por secuenciación de ADN. Las estructuras de dominio de

POD y Kofu se ilustran en la figura 1. La expresión y la purificación de las polimerasas quiméricas se hacen usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se revisa en la "Descripción detallada de la invención".

Ejemplo 5. Termoestabilidad de KOD, Pfu, Kofu y Pod

5 Se incubaron 10 ng de cada enzima a 98 °C durante 240, 120, 60, 30, 15, 8, 4, 2, 1 o 0 min en un volumen de 10 µl que contenía lo siguiente: Tris-HCl 20 mM pH 8,0, MgCl₂ 2 mM, (NH₄)₂SO₄ 6 mM, KCl 25 o 50 mM (25 mM para Pfu y Pod, 50 mM para KOD y Kofu). A cada tubo se le añadieron 10 µl mezcla de cebador/plantilla después de la incubación con calor. La mezcla de cebador-plantilla contenía lo siguiente: Tris-HCl 20 mM pH 8,0, MgCl₂ 2 mM,
 10 (NH₄)₂SO₄ 6 mM, dNTP 0,6 mM, 0,6 µM cada uno de los cebadores HPRT1-F1 (5'-tttgaaacatctggagtctt-3' (SEQ ID NO: 40)) y HPRT1-R1 (5'-gcccaaagggaaactgatagtc-3' (SEQ ID NO: 41)), 2 ng de ADN genómico humano por µl, y KCl 25 o 50 mM (25 mM para Pfu y Pod, 50 mM para KOD y Kofu). Las amplificaciones se realizaron con el siguiente protocolo de ciclado: 3 minutos a 95 °C, 35 x (20 segundos a 98 °C, 20 segundos a 60 °C, 20 segundos a 72 °C), 20 segundos a 72 °C. Los productos de PCR se analizaron sobre un gel de agarosa (véase la figura 3).
 15 Como se ilustra en la figura 3, no se observó amplificación para Pfu después de la pre-incubación de la enzima durante 4 horas a 98 °C. Por el contrario, KOD, Kofu y Pod fueron capaces de amplificar un producto de PCR en todos los puntos temporales ensayados.

Ejemplo 6. Ensayos de fidelidad

20 La fidelidad de las enzimas se determinó por un método similar al descrito por Cline y col. y referencias en el mismo (Nucl. Acids Res., 1996, 24(18): 3546-3551). Lacl se amplificó por PCR a partir de *E. coli* y se clonó en pUC19 para degenerar pKB-LaclQZalfa plasmídico (SEQ ID NO: 17). pKB-LaclQZalfa sirvió tanto como plantilla para la amplificación por PCR de Lacl en los ensayos de fidelidad como un vector para la clonación del Lacl amplificado en
 25 cribado de colonias azul/blanco.

Se configuraron 2 x 50 µl reacciones PCR (para cada enzima), usando 70 ng de plantilla plasmídica pKB-LaclQZalfa (equivalente a 25 ng de diana lacl) y 2,5 U de cada enzima para amplificar el fragmento laclOZalfa de 1.386 Kb. Las condiciones de PCR fueron como se indica a continuación: La amplificación con Pfu y Pod se hizo en tampón Pfu (Fermentas); KOD y Kofu en Novagen tampón KOD 1. Concentraciones finales de MgCl₂ 2 mM, 0,4 µM cada uno de
 30 los cebadores M13-40 (GTTTTCCAGTCACGAC (SEQ ID NO: 42)) y PKBlac-1R (GGTATCTTTATAGTCCTGTGCG (SEQ ID NO: 43)) y 0,2 mM cada dNTP. Los parámetros de ciclado para Pfu y Pod fueron: 94 °C 4 minutos, 30 x (94 °C 15 segundos, 55 °C 15 segundos, 72 °C 3 minutos), 72 °C 6 minutos. Los parámetros de ciclado para KOD y Kofu fueron: 94 °C 2 minutos, 30 x (98 °C 15 segundos, 55 °C 2 segundos, 72 °C 20 segundos), 72 °C 30 segundos.

35 El rendimiento de los productos de PCR se cuantificaron por medio de electroforesis en gel y se calculó el número de duplicaciones de la plantilla. Los productos de PCR se digirieron con XbaI, NcoI y DpnI, se purificaron en gel (sin exposición a luz UV) y se ligaron en pKB-LaclQZalfa digerido con XbaI-NcoI. *E. coli* se transformó con las mezclas de ligación y las células se pusieron en placas sobre placas de LB-Amp-X-gal. El número de colonias de color azul,
 40 colonias de color blanco y el número total de colonias se registraron. La tasa de error *f* se calculó como $f = -\ln(F)/(d \times (pb))$, donde *F* = fracción de colonias de color blanco ((colonias totales menos colonias de color azul)/colonias totales), *d* = número de duplicaciones de plantilla y *b* = 349 (únicamente se puntúan 349 pb del amplicón *lacl*). Se resumen resultados ejemplares en la Tabla 4. Como se muestra en la Tabla 4, Pfu y Kofu tienen una fidelidad similar y su fidelidad es mayor que la de KOD y Pod.

45

Tabla 4: Fidelidad de KOD, Pfu, Kofu y Pod

	Colonias de color blanco	Duplicaciones	Colonias de color azul	Colonias totales	Fidelidad <i>f</i> (x 10 ⁶)
KOD	21130	7,77	246	21376	4,27
Pfu	19270	7,76	77	19347	1,47
Kofu	12817	5,8	39	12856	1,50
Pod	22039	7,19	221	22260	3,98

Ejemplo 7. Ensayos de la capacidad de procesamiento

50 La capacidad de procesamiento puede determinarse y calcularse usando ensayos descritos en (Wang y col. Nucl. Acids Res, 2004, 32(3): 1197-1207; y Von Hippel y col. NY Acad Sci 1994; 726: 118-131). En resumen, se añaden 0,8 pmoles de un cebador marcado con 5'FAM (-40M13LFF, 5'FAM-

TTTTCCCAGTCACGACGTTGTTAAACGACGGCC-3' (SEQ ID NO: 44)) a 1,6 pmoles de ADN ssM13mp18 en presencia de Tris-HCl 20 mM pH 8,0, KCl 25 mM, MgCl₂ 2,5 mM, dNTP 0,3 mM en un volumen de 16 µl. El cebador se hibrida a la plantilla por calentamiento a 95 °C durante 2 minutos seguido de enfriamiento lento a 72 °C en un termociclador a una velocidad de 0,1 °C/segundo, incubación durante 10 minutos a 72 °C y enfriamiento adicional a 0,1 °C/segundo a 4 °C. Las polimerasas se diluyeron en Tris-HCl 20 mM pH 8,0, KCl 25 mM. La plantilla cebada y las polimerasas diluidas se calientan a 72 °C y la reacción se inicia añadiendo 4 µl de polimerasa diluida a 16 µl de plantilla cebada. Las polimerasas se diluyen para dar relaciones de polimerasa:plantilla de 1:10-1:10000. Las reacciones se terminan después de diversos puntos temporales añadiendo EDTA a una concentración final de 10 mM.

10

Las reacciones de extensión se analizaron en un analizador genético ABI 3130XL. La longitud media del producto se determina para cada reacción. La longitud media del producto se define como la longitud del producto a la que la intensidad de fluorescencia total de todos los productos hasta esa longitud equivale al 50 % de la suma de las intensidades de fluorescencia de todos los productos detectables. Las trazas para estas muestras donde la longitud media del producto no cambia con un cambio en la concentración de la polimerasa o el tiempo de incubación se usan para calcular la de procesamiento de acuerdo con Von Hippel y col. (Von Hippel y col. NY Acad Sci 1994; 726:118-131). Cada pico (I) con un nivel de fluorescencia significativamente por encima del nivel de base se integra para dar la intensidad de fluorescencia de ese pico (ni). La intensidad de fluorescencia total (nT) es la suma de la fluorescencia de todos los picos. Los datos de integración se representan como log(ni/nT) frente a n-1, donde n es el número de nucleótidos incorporados. Los datos se adaptan a la siguiente ecuación: $\log(ni/nT) = (n-1)\log Pi + \log(1-Pi)$. Pi, el factor de capacidad de procesamiento microscópica, se define como la probabilidad de no terminar la extensión en la posición i. La longitud de extensión de cebador promedia se determina a partir de $1/(1-Pi)$.

Ejemplo 8. Resistencia a la sal de KOD, Pfu, Kofu y Pod

25

Estudios anteriores (Pavlov y col. (2002) Proc Natl Acad Sci. 99(21), 13510-13515; Wang y col. (2004) Nucl Acids Res. 32(3), 1197-1207) han mostrado que hay una relación directa entre el aumento de la tolerancia de las polimerasas a la sal y la capacidad de procesamiento de las polimerasas. Para todas las polimerasas ensayadas (de la familia A o la familia B), se descubrió que las polimerasas con un aumento de la tolerancia a la sal también tienen un aumento de la capacidad de procesamiento. Por lo tanto, se comparó la tolerancia a la sal de estas quimeras con la de las polimerasas precursoras como un indicador de la capacidad de procesamiento.

La concentración de proteínas de las KOD, Pfu, Kofu y Pod purificadas se determinó usando un Bioanalyzer 2100 (Agilent, Santa Clara, CA, Estados Unidos) con el kit Protein 230 del mismo proveedor. Las polimerasas se ensayaron en PCR en tiempo real con cantidades crecientes de KCl añadido. Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 µl que contenía Tris-HCl 20 mM pH 8,0, (NH₄)₂SO₄ 6 mM, MgCl₂ 2 mM, DMSO al 3 %, 10 ng de polimerasa, 20 ng de ADN genómico humano, 0,3 mM cada dNTP, 0,25X SYBR verde (Invitrogen, Carlsbad, CA, Estados Unidos). Se preparó una reserva diluida 20X SYBR verde en DMSO, 0,3 µM de cebador directo HPRT1-F1 (5'-tttggaaacatctggagtct -3' (SEQ ID NO: 40)) y 0,3 µM de cebador inverso HPRT1-R1(5'- gcccaaaggggaactgatagtc -3' (SEQ ID NO: 41)). Se añadió KCl a concentraciones finales de 10, 25, 50, 75, 100 o 125 mM. La amplificación por PCR se realizó en un termociclador de tiempo real Corbett 6000 HRM (Corbett Life Science, Sidney, Australia) con el siguiente protocolo de ciclo: 3 minutos a 95 °C, 40 ciclos de (10 segundos a 95 °C, 20 segundos a 60 °C, 20 segundos a 72 °C, adquisición de datos), seguido de una etapa de análisis de curva de fusión de: ascenso de 72 °C a 95 °C en etapas a 1 °C, esperar durante 5 segundos antes de la adquisición de datos al final de cada etapa. Se analizaron 8 µl de cada muestra en un gel de agarosa al 1,5 %. Se cargaron 5 µl de mezcla Fermentas GeneRuler™, cat N° SM0333 (Fermentas, Vilnius, Lituania) sobre el gel como un marcador de ADN. Se muestran resultados ejemplares en la figura 4.

Ejemplo 9. Tolerancia a TMAC de KOD, Pfu, Kofu y Pod

50

Las sales que contienen tetrametilamonio mejoran las reacciones por PCR como se muestra por Kovarova y col. (Kovarova, M. y Draber, P.; Nucl. Acids Res. (2000) 28(13) e70-). Una de dichas sales es cloruro de tetrametilamonio (TMAC). Por lo tanto, se comparó la tolerancia a TMAC de estas quimeras con la de las polimerasas precursoras.

Las polimerasas se ensayaron por PCR en tiempo real con cantidades en aumento de TMAC añadido. Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 µl que contenía Tris-HCl 20 mM pH 8,0, (NH₄)₂SO₄ 6 mM, MgCl₂ 2 mM, KCl 25 mM, 10 ng de polimerasa, 20 ng de ADN genómico humano, 0,3 mM cada dNTP, 0,25X SYBR Verde (Invitrogen, Carlsbad, CA, Estados Unidos). Se preparó una reserva diluida 20X SYBR Verde en DMSO, 0,3 µM de cebador directo HPRT1-F1 (5'-tttggaaacatctggagtct -3' (SEQ ID NO: 40)) y 0,3 µM de cebador inverso HPRT1-

R1(5'- gcccaaaggggaactgatagtc -3' (SEQ ID NO: 41)). Se añadió TMAC a concentraciones finales de 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 o 120 mM. La amplificación por PCR se realizó en un termociclador de tiempo real Corbett 6000 HRM (Corbett Life Science, Sidney, Australia) con el siguiente protocolo de ciclado: 3 minutos a 95 °C, 40 ciclos de (10 segundos a 95 °C, 20 segundos a 50 °C, 20 segundos a 72 °C, adquisición de datos), seguido de una etapa de análisis de curva de fusión de: ascenso de 72 °C a 95 °C en etapas a 1 °C, esperar durante 5 segundos antes de la adquisición de datos al final de cada etapa. Se analizaron 8 µl de cada muestra sobre un gel de agarosa al 1,5 %. Se cargaron 5 µl de mezcla Fermentas GeneRuler™, cat no. SM0333 (Fermentas, Vilnius, Lituania) sobre el gel como un marcador de ADN. Se muestran resultados ejemplares en la figura 5.

10 Ejemplo 10. Quimeras adicionales de polimerasa KOD y Pfu

Este ejemplo está diseñado para mostrar que las posiciones en las que el intercambio entre dominios tiene lugar pueden variar.

15 Se hacen quimeras adicionales intercambiando los dominios de palma y dedo de las polimerasas KOD y Pfu donde la posición exacta del intercambio varía ligeramente en comparación con las posiciones para Kofu y Pod. Se hace Kofu-II (SEQ ID NO: 26) reemplazando los residuos aminoacídicos 305 a 615 de KOD (SEQ ID NO: 12) con los aminoácidos 305 a 616 de Pfu (SEQ ID NO: 10). Pod-II (SEQ ID NO: 27) se hace reemplazando los aminoácidos 305 a 616 de Pfu (SEQ ID NO: 10) con los aminoácidos 305 a 615 de KOD (SEQ ID NO: 12).

20 Kofu-III (SEQ ID NO: 28) se hace reemplazando los residuos aminoacídicos 396 a 564 de KOD (SEQ ID NO: 12) con los aminoácidos 397 a 565 de Pfu (SEQ ID NO: 10). Pod-III (SEQ ID NO: 29) se hace reemplazando los aminoácidos 397 a 565 de Pfu (SEQ ID NO: 10) con los aminoácidos 396 a 564 de KOD (SEQ ID NO: 12).

25 La secuencia aminoacídica de las quimeras Kofu-II, Pod-II, Kofu-III y Pod-III se traducen de forma inversa y se optimizan con codón para su expresión en *E. coli*. Se añaden secuencias nucleotídicas adicionales que contienen sitios de restricción Eco31I a los extremos 5' y 3' de la construcción para facilitar la clonación en un vector de expresión. Más específicamente, las secuencias 5' y 3' pueden diseñarse de manera que las protuberancias, después de la digestión del ADN con Eco31I, sean complementarios con las protuberancias en un vector de expresión particular (por ejemplo, pKB). La optimización por codón y la síntesis génica se realizan por GeneArt GmbH. La expresión y la purificación de las polimerasas quiméricas se realizan usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se revisa, en la "Descripción detallada de la invención". La termoestabilidad, fidelidad, capacidad de procesamiento, resistencia a la sal y resistencia a TMAC de las polimerasas quiméricas se determinan como se describe en los Ejemplos 5 a 9.

35 Ejemplo 11. Quimeras de polimerasas *T. litoralis* y 9 grados N-7

Las quimeras 9Nli y Li9N están diseñadas en base al alineamiento en la figura 1. Pueden hacerse intercambiando los dominios de palma y dedo entre las ADN polimerasas de *T. litoralis* y *Thermococcus* sp. 9 grados N-7. La identidad de secuencia total entre estas dos polimerasas es del 77 % sobre el nivel aminoacídico.

La quimera 9Nli puede hacerse reemplazando la región de palma y dedo de la polimerasa 9N con la región de palma y dedo de la polimerasa *T. litoralis*. En este ejemplo particular, 9Nli se hace reemplazando los aminoácidos 347 a 580 de polimerasa 9N (SEQ ID NO: 18) con los aminoácidos 349 a 583 de polimerasa *T. litoralis* (SEQ ID NO: 19).

45 La secuencia de la región codificante de 9Nli se proporciona como la SEQ ID NO: 20.

La quimera Li9N puede hacerse reemplazando el dominio de palma y dedo de la ADN polimerasa de *T. litoralis* con el dominio dedo de la ADN polimerasa de 9 grados Norte. En este ejemplo particular, Li9N se hace reemplazando los aminoácidos 349 a 583 de polimerasa *T. litoralis* (SEQ ID NO: 19) con los aminoácidos 347 a 580 de polimerasa de 9 grados N-7 (SEQ ID NO: 18). La secuencia de la región codificante de Li9N se proporciona como la SEQ ID NO: 21.

Ejemplo 12. Quimeras de ADN polimerasas tipo B *T. gorgonarius* y *T. zilligii*

55 Las quimeras GoZi y ZiGo están diseñadas en base al alineamiento en la figura 1. Se hacen intercambiando los dominios de palma y dedo entre las ADN polimerasas de *T. gorgonarius* y *T. zilligii*. La identidad de secuencia total entre estas dos polimerasas es del 94 % sobre el nivel aminoacídico.

La quimera GoZi puede hacerse reemplazando la región de palma y dedo de la polimerasa *T. gorgonarius* con la

región de palma y dedo de la polimerasa *T. zilligii*. En este ejemplo particular, GoZi se hace reemplazando los aminoácidos 391 a 559 de polimerasa *T. gorgonarius* (SEQ ID NO: 22) con los aminoácidos 391 a 559 de polimerasa *T. zilligii* (SEQ ID NO: 23). La secuencia de la quimera GoZi resultante se proporciona como la SEQ ID NO: 24.

5

La quimera ZiGo puede hacerse reemplazando el dominio de palma y dedo de la ADN polimerasa de *T. zilligii* con el dominio dedo de la ADN polimerasa de *T. gorgonarius*. En este ejemplo particular, ZiGo se hace reemplazando los aminoácidos 391 a 559 de polimerasa *T. zilligii* (SEQ ID NO: 23) con los aminoácidos 391 a 559 de polimerasa *T. gorgonarius* (SEQ ID NO: 22). La secuencia de la región codificante de ZiGo se proporciona como la SEQ ID NO: 25.

10

Tabla 5. Secuencias

Secuencias de ADN nativo de Pfu y KOD

Secuencia 1 (SEQ ID NO: 1)

>Secuencia nucleotídica Pfu nativa de secuencia genómica (Nº Ac. AE010147)

```

1      ATGATTTTAG  ATGTGGATTA  CATAACTGAA  GAAGGAAAAC  CTGTTATTAG  GCTATTCAAA
61     AAAGAGAACG  GAAAATTTAA  GATAGAGCAT  GATAGAACTT  TTAGACCATA  CATTTACGCT
121    CTTCTCAGGG  ATGATTCAAA  GATTGAAGAA  GTTAAGAAA  TAACGGGGGA  AAGGCATGGA
181    AAGATTGTGA  GAATTGTTGA  TGTAGAGAAG  GTTGAGAAA  AGTTTCTCGG  CAAGCCTATT
241    ACCGTGTGGA  AACTTTATTT  GGAACATCCC  CAAGATGTTT  CCACTATTAG  AGAAAAAGTT
301    AGAGAACATC  CAGCAGTTGT  GGACATCTTC  GAATACGATA  TTCCATTTGC  AAAGAGATAC
361    CTCATCGACA  AAGGCCAAT  ACCAATGGAG  GGGGAAGAAG  AGCTAAAGAT  TCTTGCCTTC
421    GATATAGAAA  CCCTCTATCA  CGAAGGAGAA  GAGTTTGGAA  AAGGCCCAAT  TATAATGATT
481    AGTTATGCAG  ATGAAAATGA  AGCAAAGGTG  ATTACTTGG  AAAACATAGA  TCTTCCATAC
541    GTTAGGTTG  TATCAAGCGA  GAGAGAGATG  ATAAAGAGAT  TTCTCAGGAT  TATCAGGGAG
601    AAGGATCCTG  ACATTATAGT  TACTTATAAT  GGAGACTCAT  TCGACTTCCC  ATATTTAGCG
661    AAAAGGGCAG  AAAAAGCTTG  GATTAATTA  ACCATTGGAA  GAGATGGAAG  CGAGCCCAAG
721    ATGCAGAGAA  TAGGCGATAT  GACGGCTGTA  GAAGTCAAGG  GAAGAATACA  TTTCGACTTG
781    TATCATGTAA  TAACRAGGAC  AATAAATCTC  CCAACATACA  CACTAGAGGC  TGTATATGAA
841    GCAATTTTTG  GAAAGCCAAA  GGAGAAGGTA  TACGCCGACG  AGATAGCAAA  AGCCTGGGAA
901    AGTGGAGAGA  ACCTTGAGAG  AGTTGCCAAA  TACTCGATGG  AAGATGCAAA  GGCAACTTAT
961    GAACTCGGGA  AAGAATTCCT  TCCAATGGAA  ATTCAGCTTT  CAAGATTAGT  TGGACAACCT
1021   TTATGGGATG  TTCAAGGTC  AAGCACAGGG  AACCTTGTAG  AGTGGTTCTT  ACTTAGGAAA
1081   GCCTACGAAA  GAAACGAAGT  AGCTCCAAAC  AAGCCAAGTG  AAGAGGAGTA  TCAAAGAAGG
1141   CTCAGGGAGA  GCTACACAGG  TGGATTCCGT  AAAGAGCCAG  AAAAGGGGTT  GTGGGAAAAC
1201   ATAGTATACC  TAGATTTTAG  AGCCCTATAT  CCCTCGATTA  TAATTACCCA  CAATGTTTCT
1261   CCCGATACTC  TAAATCTTGA  GGGATGCAAG  AACTATGATA  TCGCTCCTCA  AGTAGGCCAC
1321   AAGTTCTGCA  AGGACATCCC  TGGTTTTATA  CCAAGTCTCT  TGGGACATTT  GTTAGAGGAA
1381   AGACAAAAGA  TTAAGACAAA  AATGAAGGAA  ACTCAAGATC  CTATAGAAAA  AATACTCCTT
1441   GACTATAGAC  AAAAAGCGAT  AAAACTCTTA  GCAAAATCTT  TCTACGGATA  TTATGGCTAT
1501   GCAAAAGCAA  GATGGTACTG  TAAGGAGTGT  GCTGAGAGCG  TFACTGCCTG  GGGAAAGAAAG
1561   TACATCGAGT  TAGTATGGAA  GGAGCTCGAA  GAAAAGTTTG  GATTTAAAGT  CCTCTACATT
1621   GACACTGATG  GTCTCTATGC  AACTATCCCA  GGAGGAGAAA  GTGAGGAAAT  AAAGAAAAG
1681   GCTCTAGAAT  TTGTAAAATA  CATAAATTC  AAGCTCCCTG  GACTGCTAGA  GCTTGAATAT
1741   GAAGGGTTT  ATAAGAGGGG  ATCTTCGTT  ACGAAGAAGA  GGTATGCAGT  AATAGATGAA
1801   GAAGGAAAAG  TCATTACTCG  TGGTTTAGAG  ATAGTTAGGA  GAGATTGGAG  TGAATTGCA
1861   AAAGAAACTC  AAGCTAGAGT  TTTGGAGACA  ATACTAAAAC  ACGGAGATGT  TGAAGAGCT
1921   GTGAGAAATG  TAAAAGAGT  AATACAAAAG  CTTGCCAATT  ATGAAATTCC  ACCAGAGAAG
1981   CTCGCAATAT  ATGAGCAGAT  AACAAGACCA  TTACATGAGT  ATAAGGCGAT  AGTCTCTCAC
2041   GTAGCTGTTG  CAAAGAAACT  AGCTGCTAAA  GGAGTTAAA  TAAAGCCAGG  AATGGTAATT
2101   GGATACATAG  TACTTAGAGG  CGATGGTCCA  ATTAGCAATA  GGGCAATTC  AGCTGAGGAA
2161   TACGATCCCA  AAAAGCACAA  GTATGACGCA  GAATATTACA  TTGAGAACCA  GGTTCCTCCA
2221   CGCGTACTTA  GGATATTGGA  GGGATTGGA  TACAGAAAGG  AAGACCTCAG  ATACCAAAAAG
2281   ACAAGACAAG  TCGGCCTAAC  TICCTGGCTT  AACATTA  AATCCTAG
    
```

Secuencia 2 (SEQ ID NO:2)

>Secuencia nucleotídica KOD nativa (de secuencia genómica, N° Ac. AP006878)

```

1      ATGATCCTCG ACACTGACTA CATAACCGAG GATGGAAAGC CTGTCATAAG AATTTTCAAG
61     AAGGAAAACG GCGAGTTTAA GATTGAGTAC GACCCGACTT TTGAACCCTA CTTCTACGCC
121    CTCCTGAAAG ACGATTCTGC CATTGAGGAA GTCAAGAAGA TAACCGCCGA GAGGCACGGG
181    ACGGTTGTAA CGGTTAAGCG GGTGAAAAG GTTCAGAAGA AGTTCCTCGG GAGACCAGTT
241    GAGGTCGTGA AACTCTACTT TACTCATCCG CAGGACGTCC CAGCGATAAG GGACAAGATA
301    CGAGAGCATC CAGCAGTTAT TGACATCTAC GAGTACGACA TACCCTTCGC CAAGCGCTAC
361    CTCATAGACA AGGGATTAGT GCCAATGGAA GGCGACGAGG AGCTGAAAAT GCTCGCCTTC
421    GACATTGAAA CTCICTACCA TGAGGGCGAG GAGTTCGCCG AGGGGCCAAT CCTTATGATA
481    AGCTACGCCG ACGAGGAAGG GGCCAGGGTG ATAACTTGA AGAACGTGGA TCTCCCTAC
541    GTTGACGTGC TCTCGACGGA GAGGGAGATG ATAAAGCGCT TCCTCCGTGT TGTGAAGGAG
601    AAAGACCCGG ACGTTCCTCAT AACCTACAAC GGCGACAAC TCGACTTCGC CTATCTGAAA
661    AAGCGCTGTG AAAAGCTCGG AATAAACTTC GCCCTCGGAA GGGATGGAAG CGAGCCGAAG
721    ATTCAGAGGA TGGGCGACAG GTTTGCCGTC GAAAGTGAAG GACGGATACA CTTTCGATCTC
781    TATCCTGTGA TAAGACGGAC GATAAACCTG CCCACATACA CGCTTGAGGC CGTTTATGAA
841    GCCGCTTCGC GTCAGCCGAA GGAGAAGGTT TACGCTGAGG AAATAACCAC AGCCTGGGAA
901    ACCGGCGAGA ACCTTGAGAG AGTCGCCCGC TACTCGATGG AAGATGCGAA GGTCACATAC
961    GAGCTTGGGA AGGATGTTCT TCCGATGGAG GCCCAGCTTT CTCGTTAAT CGGCCAGTCC
1021   CTCTGGGACG TCTCCCGCTC CAGCACTGGC AACCTCGTTG AGTGGTTTCT CCTCAGGAAG
1081   GCCTATGAGA GGAATGAGCT GGCCCCGAAC AAGCCCAGATG AAAAGGAGCT GGCCAGAAGA
1141   CGGCAGAGCT ATGAAGGAGG CTATGTAAAA GAGCCCAGAG GAGGGTTGTG GGAGAACATA
1201   GTGTACCTAG ATTTTAGATC CCTGTACCCC TCAATCATCA TCACCCACAA CGTCTCGCCG
1261   GATACGCTCA ACAGAGAAGG ATGCAAGGAA TATGACGTTG CCCACAGGT CGGCCACCGC
1321   TTCTGCAAGG ACTTCCCAGG ATTTATCCCG AGCCTGCTTG GAGACCTCCT AGAGGAGAGG
1381   CAGAAGATAA AGAAGAAGAT GAAGGCCACG ATTGACCCGA TCGAGAGGAA GCTCCTCGAT
1441   TACAGGCAGA GGGCCATCAA GATCCTGGCA AACAGCTACT ACGGTTACTA CGGCTATGCA
1501   AGGGGCGGCT GGTACTGCAA GGAGTGTGCA GAGAGCGTAA CGGCCTGGGG AAGGGAGTAC
1561   ATAACGATGA CCATCAAGGA GATAGAGGAA AAGTACGGCT TTAAGGTAAT CTACAGCGAC
1621   ACCGACGGAT TTTTGGCCAC AATACCTGGA GCCGATGCTG AAACCGTCAA AAAGAAGGCT
1681   ATGGAGTTCC TCAAGTATAT CAACGCCAAA CTTCCGGGCG CGCTTGAGCT CGAGTACGAG
1741   GGCTTCTACA AACCGGGCTT CTTCGTCACG AAGAAGAAGT ATGCGGTGAT AGACGAGGAA
1801   GGCAAGATAA CAACGCGCGG ACTTGAGATT GTGAGGCGTG ACTGGAGCGA GATAGCGAAA
1861   GAGACGCAGG CGAGGGTTCT TGAAGCTTTG CTAAGGACG GTGACGTCGA GAAGCCCGTG
1921   AGGATAGTCA AAGAAGTTAC CGAAAAGCTG AGCAAGTACG AGGTTCGCCG GGAGAAGCTG
1981   GTGATCCACG AGCAGATAAC GAGGGATTTA AAGGACTACA AGGCAACCGG TCCCCACGTT
2041   GCCGTTGCCA AGAGGTTGGC CGCGAGAGGA GTCAAAATAC GCCCTGGAAC GGTGATAAGC
2101   TACATCGTGC TCAAGGGCTC TGGGAGGATA GCGCACAGGG CGATACCGTT CGACGAGTTC
2161   GACCCGACGA AGCACAAGTA CGACGCCGAG TACTACATG AGAACCAGGT TCTCCAGGCC
2221   GTTGAGAGAA TTCTGAGAGC CTTCCGTTAC CGCAAGGAAG ACCTGCGCTA CCAGAAGACG
2281   AGACAGGTTG GTTTGAGTGC TTGGCTGAAG CCGAAGGGAA CTGGA

```

Secuencias optimizadas por codón de Pfu y KOD

Secuencia 3 (SEQ ID NO: 3)

>Secuencia nucleotídica optimizada con codón Pfu

```

1      ATGATTCTGG ATGTGGACTA TATCACCGAA GAGGGCAAAC CGGTTATACG TTTATTTAAG
61     AAAGAGAATG GTAAATTCAA GATCGAGCAT GACCGCACGT TCCGTCCATA CATTTACGCG
121    TTGCTTCGGG ATGATAGCAA AATTGAGGAA GTCAAAAAGA TCACCCGGGA ACGTCATGGA
181    AAAATAGTAA GAATTGTGGA CGTTGAAAAA GTCGAAAAGA AATTTCTGGG CAAACCGATC
241    ACTGTATGGA AGCTCTATCT GGAACATCCT CAGGATGTGC CCACAATTCT AGAAAAAGTT
301    CGTGAGCACC CAGCCGTCGT GGATATATTT GAATATGACA TCCCTTTTGC AAAACGCTAC
361    TTAATTGATA AAGGCCTGAT CCCGATGGAG GGGGAAGAAG AACTTAAAAA TCTGGCTTTT
421    GACATAGAAA CGCTCTATCA TGAGGGAGAA GAATTTGGCA AAGGTCCTAT CATTATGATT
481    TCTTACGCGG ATGAGAACGA AGCCAAGGTA ATCACTTGGG AAAATATTGA CTGCCGTAC
541    GTTGAAGTGG TCAGITCAGA GCGGGAAATG ATTAACGTT TTTTACGCAT CATTAGAGAG
601    AAAGATCCAG ATATAATCGT TACATATAAC GCGCACTCCT TCGATTTTCC TTACCTGGCA
661    AAACGAGCTG AAAAATTGGG TATTAACCTT ACCATCGGGC GTGACGGATC GGAACCGAAA
721    ATGCAACGCA TTGGCGATAT GACGGCGGTA GAGGIGAAAG GTCGGATACA CTTTGATCTG
781    TATCATGTCA TCACCCGTAC TATTAATCTC CCCACATACA CGTTAGAAGC CGTTTATGAG
841    GCAATATTCG GCAAGCCGAA AGAAAAAGTG TACGCTGACG AAATCGCGAA GGCATGGGAG
901    AGCGGCGAAA ACCTGGAGCG CGTAGCAAAA TATTCTATGG AAGATGCTAA AGCGACCTAC
961    GAATGGGGGA AAGAATTTCT TCCAATGGAA ATTCAGCTGA GTCGTTTAGT CGGACAACCT
1021   CTGTGGGACG TTTACGCTC CTCGACTGGC AATCTCGTGG AGTGGTTTCT GTTGAGAAAA
1081   GCCTATGAAC GAAACGAAGT AGCACCGAAT AAACCAAGCG AGGAAGAATA TCAGCGTCGC
1141   CTTCCGAGAT CTTACACAGG TGGGTTTGTT AAGGAACCGG AGAAAGGCTT TTGGGAAAAA
1201   ATCGTGTATT TAGATTTCCG TGCCTGTGAC CCCAGTATTA TAATCACCCA CAATGTCTCA
1261   CCTGACACCG TCAACTTGGG AGGTTGCAAA AATTATGATA TTGCTCCGCA AGTTGGACAT
1321   AAGTTTGTGA AAGATATTCC GGGCTTCATC CCGTCCCTGC TTGGTCACTT ACTGGAAGAG
1381   CGCCAAAAAA TTAAGACCAA AATGAAAGAG ACTCAGGATC CCATTGAAAA GATCCTGCTC
1441   GATTACCGGC AAAAAGCCAT TAAATTGCTT GCAAACTCGT TTTATGGGTA CTATGGCTAT
1501   GCGAAGGCTC GTTGGTACTG CAAAGAATGT GCCGAGAGCG TGACAGCATG GGTTCGCAAA
1561   TATATAGAAT TAGTATGGAA GGAGCTGGAA GAAAAATTCG GATTCAAAGT CCTGTACATC
1621   GATACGGATG GCCTCTATGC GACCATTCCT GGTGGGGAGT CTGAAGAAAT CAAGAAAAAA
1681   GCCTTGGAAI ICGTTAAGIA CATTAAATAGT AAATTACCGG GACTGCTTGA ACTGGAGTAT
1741   GAAGGCTTCT ACAAAGAGG TTTTTTCGTT ACTAAGAAAC GATATGCCGT AATAGATGAA
1801   GAGGGGAAAG TCATCACACG TGCCTCGAG ATTGTTCCGC GGGACTGGTC AGAGATAGCA
1861   AAGGAAACGC AGGCGCGCGI GCTCGAAACC ATCTTGAAAC ATGGTGATGT AGAGGAAGCC
1921   GTCCGCATTG TTAAGAGAGT GATCCAGAAG TTAGCAAACT ATGAAATTCC ACCGSAAAAA
1981   CTGGCGATAT ACGAGCAAAI CACTCGTCCC CTTACGAAI ATAAAGCTAT TGGACCTCAT
2041   GTAGCCGTCG CGAAGAAACI GGCTGCAAAA GCGTTAAGA TAAAACCAAG TATGGTGATC
2101   GGGTACATTG TACTCCGGG CGACGGTCCG ATTTCCAATA GAGCCATCTT GCGGAGGAA
2161   TATGATCCTA AAAAGCATAA ATACGACGCT GAATATTACA TTGAGAACCA GGTCTTGCCG
2221   GCAGTTCTGC GGATACTTGA AGGATTTGGC TATCGTAAAG AAGATCTGCG CTATCAAAA
2281   ACGGACAGG TGGTCTGAC TAGCTGGTTG AATATCAAAA AATCGTAA

```

Secuencia 4 (SEQ ID NO:4)

>Secuencia nucleotídica optimizada con codón Pfu, 9 nt adicional en área 5'

```

1      ATGGCTAGCG CCAATCTGGA TGTGGACTAT ATCACCGAAG AGGGCAAACC GGTATACGT
61     TTATTTAAGA AAGAGAATGG TAAATTCAAG ATCGAGCATG ACCGCACGTT CCGTCCATAC
121    ATTTACGGCT TGCTTCGGGA TGATAGCAAA ATTGAGGAAG TCAAAAAGAT CACCGGGGAA
181    CGTCATGGAA AAATAGTAAG AATTGTGGAC GTTGAAAAAG TCGAAAAGAA ATTTCTGGGC
241    AAACCGATCA CTGTATGGAA GCTCTATCTG GAACATCCIC AGGATGTGCC CACAATTGCA
301    GAAAAAGTTC GTGAGCACCC AGCCGTCGTG GATATATTTG AATATGACAT CCCTTTTGCA
361    AAACGGCTACT TAATTGATAA AGGCCTGATC CCGATGGAGG GGAAGAAGA ACTTAAAAAT
421    CTGGCTTTTG ACATAGAAAC GCTCTATCAT GAGGGAGAAG AATTTGGCAA AGGTCCCATC
481    ATTAGATTTT CTTACGCGGA TGAGAACGAA GCCAAGGTAA TCAC TTGGAA AAATATTGAC
541    CTGCCGTACG TTGAAGTGGT CAGTTCAGAG CGGGAATGA TTAAACGTTT TTTACGCATC
601    ATTAGAGAGA AAGATCCAGA TATAATCGTT ACATATAACG GCGACTCCTT CGATTTTCTT
661    TACCTGGCAA AACGAGTGA AAAATTGGGT ATTAACCTTA CCATCGGGCG TGACGGATCG
721    GAACCGAAAA TGCAACGCAT TGGCGATATG ACGGCGGTAG AGGIGAAAAG TCGGATACAC
781    TTTGATCTGT ATCATGTCTC CACCCGTAAT ATTAATCTCC CCACATACAC GTTAGAAGCC
841    GTTTATGAGG CAATATTGGG CAAGCCGAAA GAAAAAGTGT ACGCTGACGA AATCGCGAAG
901    GCATGGGAGA GCGGGCAAAA CCTGGAGCCG GTAGCAAAAT ATTCATGGA AGATGCTAAA
961    GCGACCTACG AATTGGGGAA AGAATTTCTT CCAATGAAA TTCAGCTGAG TCGTTTAGTC
1021   GGACAACCTC TGTGGGACGT TTCACGCTCC TCGACTGGCA ATCTCGTGA GTGGTTCCTG
1081   TTGAGAAAAG CCTATGAACG AAACGAAAGT GCACCGAATA AACCAAGCGA GGAAGAATAT
1141   CAGCGTCGCC TTCGCGAGTC TTACACAGGT GGGTTTGTTA AGGAACCGGA GAAAGTCTT
1201   TGGGAAAACA TCGTGTATT AGATTCCGT GCGCTGTACC CCAGTATTAT AATCACCAC
1261   AATGTCTCAC CTGACACGCT CAACTTGGAA GGTGCAAAA ATTAGATAT TGCTCCGCAA
1321   GTTGGACATA AGTTTTGTAA AGATATTCCG GGCTTCATCC CGTCCCTGCT TGGTCACTTA
1381   CTGGAAGAGC GCCAAAAAAT TAAGACAAA ATGAAAGAGA CTCAGGATCC CATTGAAAAG
1441   ATCTGTCTCG ATACCGGCA AAAAGCCAIT AAATIGCTTG CAACTCTGTT TTATGGGTAC
1501   TATGGCTATG CGAAGGCTCG TTGGTACTGC AAAGAATGTG CCGAGAGCGT GACAGCATGG
1561   GGTCCGCAAT ATATAGAATT AGTATGGAAG GAGCTGGAAG AAAAATCCG ATTCAAAAGC
1621   CTGIACATCG ATACGGATGG CCTCTATGCG ACCATCTCTG GTGGGGAGTC TGAAGAAATC
1681   AAGAAAAAAG CCTTGGAAAT CGTTAAGTAC ATTAATAGTA AATTACCGGG ACTGCTTGAA
1741   CTGGAGTATG AAGGCTTCTA CAAAAGAGGT TTTTCGTTA CTAAGAAAAG ATATGCCGIA
1801   ATAGATGAAG AGGGAAAGT CATCACACGT GGCTCGAGA TTGTTCCGG GGCATGGTCA
1861   GAGATAGCAA AGGAACGCA GGCGCGCTG CTCGAAACCA TCTTGAAACA TGGTGATGTA
1921   GAGGAAGCCG TCCGCAATGT TAAAGAGGTG ATCCGAAAGT TAGCAACTA TGAATTTCCA
1981   CCGGAAAAAC TGCCGATATA CGAGCAAATC ACTCGTCCC TTCAGAAATA TAAAGCTAIT
2041   GACCTCATG CACTTTATCA CGAGGGGGAA GAGTTTGCTG AGGGTCCCAT CCTGATGATT
2101   ATGGTGATCG GGTACATTGT ACTCCGCGC GACGGTCCGA TTCCAATAG AGCCATCTTG
2161   GCGGAGGAAT ATGATCTTAA AAAGCATAAA TACGACGCTG AATATTACAT TGAGAACCAG
2221   GTCTTGCCGG CAGTTCTGCG GATACTTGAA GGATTGGCT ATCGTAAAAG AGATCTGCGC
2281   TATCAAAAGA CGCGACAGGT GGGTCTGACT AGCTGGTTGA ATATCAAAA ATCGTAA
    
```

Secuencia 5 (SEQ ID NO:5)

>Secuencia nucleotídica optimizada con codón KOD

```

1      ATGATCTGG ATACCGACTA TATCACGAA GATGGCAAAC CGGTGATACG TATTTTAAAG
61     AAAGAGAATG GTGAGTTCAA AATCGAGTAC GACCGCACTT TTGAGCCATA TTTCTACGCG
121    TTAATGAAGG ACGATAGCGC CATTGAAGAA GTTAAAAAAA TCACCCGAGA GCGGCATGGG
181    ACAGTGGTAA CCGTGAAGAG AGTTGAAAAA GTCCAGAAAA AATTTTGGG ACGACCTGTA
241    GAAGTGTGGA AACTTTATTT CACTCACCCC CAAGATGTTC CGGCTATACG TGATAAAAT
301    CGCGAACATC CAGCGGTATG TGATATTTAC GAATATGATA TACCTTTTGC CAAGCGTTAC
361    CTCATCGACA AAGGCTGGT GCCGATGGAA GGTGATGAAG AATTAATAAT GTTGGCATT
421    GACATTGAAA CACTTTATCA CGAGGGGGAA GAGTTTGCTG AGGGTCCCAT CCTGATGATT
481    TCTTATGCGG ATGAAGAGGG TGCCCGCGTA ATAACCTGGA AGAACGTTGA TCTCCCGTAC
541    GTGGACGTCG TTAGTACGGA ACGGGAAAAT ATCAAACTTT TCCTGCGCGT AGTGAAGAG
601    AAAGATCCAG ACGTCTTAAT TACCTATAAT GGTGATAACT TTGATTTTGC ATACCTGAAA
661    AAAAGATGCG AAAAGTTGGG CATAAATTC GCTCTTGGTC GAGACGGGTC AGAGCCTAAA
721    ATCCAGCGTA TGGGAGATCG CTTTGGCGTT GAAGTGAAG GCCCGATTCA TTTCCAGCTG
781    TATCCGGTAA TTCGTCGCAC TATCAACCTC CCCACATACA CGTTAGAAGC CGTCTATGAG
841    GCAGTTTTTG GTCAACCGAA GGAAGAAAGT TACGCTGAGG AAATTACCAC TGCGTGGGAA
901    ACAGGCGAGA ATCTGGAACG TGTAGCCCGC TATTCTATGG AGGATGCAAA AGTTACCTAT
961    GAATGGGTA AGGAATTTCT TCCAATGGAG GCGCAGCTGT CGAGATTAAT AGGGCAGAGC
1021   CTGTGGGACG TGTCCTGAAG TCAACGGGA AACCTCGTGC AATGGTTTCT GTTGGGAAA
1081   GCATACGAGC GTAATGAACT TGCCCTAAC AAACCGGATG AAAAGGAGCT GGCACGCCGT
1141   CGCCAATCCT ATGAAGGCGG TTACGTTAAA GAACCAAGAG GGGGGTTATG GGAATAATC
1201   GTGTATCTGG ATTTCCGTTG GCTCTACCG AGCATTATCA TTACCACAA CGTATCTCC
1261   GACACTTTGA ATCCGAGGG CTGTAAGAA TATGATGTCG CGCCGAGGT TGGTATAGA
    
```


1321 TTTTGAAGG ACTTCCCAGG ATTTATACCA AGTCIGCTTG GCGATTACT GGAAGAGCGA
 1381 CAAAAATCA AAAAGAAAAT GAAAGCTACA ATCGATCCGA TAGAACGTAA GCTGCTCGAC
 1441 TACCGCCAGC GGGCCATCAA AATTTTGGCA AACTCATATT ATGGTTACTA TGGGTACGCG
 1501 CGTGCTCGCT GGTATTGTAA AGAGTGGCC GAATCCGTGA CGGCATGGGG CCGTGAATAC
 1561 ATCACCATGA CTATTAAGGA GATAGAAGAG AAATATGGTT TCAAAGTAAT CTACTCGGAT
 1621 ACAGACGGAT TCTTTGCGAC GATTCCCGGT GCCGATGCAG AAACCGTCAA GAAAAAGCG
 1681 ATGGAATTCC TTAAGTATAT AAATGCTAAA TTACCTGGTG CCCTGGAGCT GGAATACGAA
 1741 GGGTTTTACA AACCGGGATT CTTTGTACT AAGAAAAAAT ATGCGGTGAT CGACGAGGAA
 1801 GGCAAGATTA CGACCAGAGG CCTCGAGATT GTACGGCGTG ATGGAGCGA AATCGCTAAA
 1861 GAAACACAGG CACGTGTCTT GGAGGCATTA CTGAAAGATG GGGACGTTGA AAAGCGGGTG
 1921 CGAATTGTAA AAGAAGTCAC CGAAAACTT TCTAAGTACG AAGTTCGCC AGAGAACTG
 1981 GTGATACACG AACAAATCAC TCGTGATCTG AAAGACTATA AGGCTACAGG CCCGCATGTA
 2041 GCAGTCGCCA AACGCCTCGC GGCTCGGGT GTTAAAAATC GTCCCGGAAC GGTGATCAGT
 2101 TACATTGTAT TGAAGGGCTC AGGTCGCATA GGGGATAGAG CAATCCCTTT CGACGAGTTT
 2161 GATCCAACCA AACACAAATA TGATGCCGAA TACTATATTG AAAACAGGT CTTGCCGGCG
 2221 GTTGAGCGTA TACTGCGCGC TTTCCGGCTAT CGAAAGGAAG ATCTTCGTTA CCAAAAACT
 2281 AGACAGGTGG GCTGTCCGC ATGGCTCAA CTAAGGGAA CGTAA

Secuencia 6 (SEQ ID NO:6)

->Secuencia nucleotídica optimizada con codón KOD, 9 nt adicional en área 5'

1 ATGGCTAGCG CCATTCTGGA TACCGACTAT ATCACGGAAG ATGGCAAACC GGTGATACGT
 61 ATTTTAAAGA AAGAGAATGG TGAGTTCAAA ATCGAGTACG ACCGCACTTT TGAGCCATAT
 121 TTCTACGCGT TACTGAAGGA CGATAGCGCC ATTGAAGAAG TTAAAAAAAT CACCGCAGAG
 181 CGGCATGGGA CAGTGGTAAAC CGTGAAGAGA GTTGAAAAAG TCCGAAAAA ATTTTGGGA
 241 CGACCTGTAG AAGTGTGGAA ACTTTATTTT ACTCACCCCC AAGATGTICC GGCTATACGT
 301 GATAAAATTC GCGAACATCC AGCGGTCATT GATATTTACG AATATGATAT ACCTTTTGCC
 361 AAGCGTTACC TCATCGACAA AGGCCTGGTG CCGATGGAAG GTGATGAAGA ATTA AAAATG
 421 TTGGCATTCC ACATTGAAA ACITTAICAC GAGGGGGAAG AGTTTGCTGA GGGTCCATC
 481 CTGATGATT CTTATGCGGA TGAAGAGGGT GCCCGCGTAA TAACCTGGAA GAACGTTGAT
 541 CTCCCGTACG TGGACGTCGT TAGTACGGAA CGGGAATGA TCAACGTTT CCTGCGCGTA
 601 GTGAAAGAGA AAGATCCAGA CGTCTTAATT ACCTATAATG GTGATACTT TGATTTTGCA
 661 TACCTGAAAA AAAGATGCGA AAAGTTGGGC ATAAATTTCC CTCTTGGTCC AGACGGGTCA
 721 GAGCCTAAAA TCCAGCGTAT GGGAGATCGC TTTGCGGTTG AAGTGAAGG CCGGATTAT
 781 TTCGACCTGT ATCCGGTAA TCGTCCGACT ATCAACCTCC CCACATACAC GTTAGAAGCC
 841 GTCTATGAGG CAGTTTTTGG TCAACCGAAG GAAAAAGTTT ACGCTGAGGA AATTACCACT
 901 GCGTGGGAAA CAGGCGAGAA TCTGGAACTG TAGCCTCGCT ATTCIATGGA GGATGCAAAA
 961 GTTACCTATG AATTGGGTA GGAATTTCTT CCAATGGAGG CGCAGCTGTC GAGATTAATA
 1021 GGGCAGAGCC TGTGGGACGT GTCTCGAAGT TCAACGGGAA ACCTCGTCCA ATGGTTTCTG
 1081 TTGGCGAAGG CATACGAGCG TAATGAACTT GCCCTAACA AACCAGGATGA AAAGGAGCTG
 1141 GCACGCCGTC GCCAATCCTA TGAAGGCGGT TACGTTAAAG AACCAGAGCG GGGGTTATGG
 1201 GAAAATATCG TGTATCTGGA TTTCCGTTCC CTCTACCCGA GCATTATCAT TACCACAAAC
 1261 GTATCTCCCG ACATTTTGA TCGCGAGGGC TGTAAGAAT ATGATGTCCG CCGCCAGGTT
 1321 GGTACATAGT TTTGCAAGGA CTTCCCGGGA TTTATACCAA GTCTGCTTGG CGATTTACTG
 1381 GAAGAGCCAG AAAAATCAA AAAGAAAATG AAAGCTACAA TCGATCCGAT AGAACGTAAG
 1441 CTGCTCGACT ACCGCCAGCG GGCCATCAA ATTTTGGCAA ACTCATATA TGGTTACTAT
 1501 GGGTACGCGC GTGCTCGCTG GTATTGTAAA GAGTCCGCGC AATCCGTGAC GGCATGGGGC
 1561 CGTGAATACA TCACCATGAC TATTAAGGAG ATAGAAGAGA AATATGGTTT CAAAGTAATC
 1621 TACTCGGATA CAGACGGATT CTTTGCAGC ATTCCCGGTG CCGATGCAGA AACCGTCAAG
 1681 AAAAAAGCGA TGGAATTCCT TAAGTATATA AATGCTAAAT TACCCTGGTCC CCTGGAGCTG
 1741 GAATACGAAG GGTTTTACAA ACGCGGATC TTTGTTACTA AGAAAAATA TGCGGTGATC
 1801 GACGAGGAAG GCAAGATTAC GACCAGAGGC CTCGAGATTG TACGCGTGA TTGAGCGGAA
 1861 ATCGCTAAG AAACACAGGC ACGTGTCTTG GAGGCATTAC TGAAGATGG GAGCGTTGAA
 1921 AAGCGGGTGC GAATTGTAAA AGAAGTCACC GAAAAACTTT CTAAGTACGA AGTTCCGCCA
 1981 GAGAACTGG TGATACACGA ACAATCACT CGTGATCTGA AAGACTATAA GGCTACAGGC
 2041 CCGCATGTAG CAGTCGCCAA ACGCCTCGCG GCTCGGGGTG TTA AAAATTCG TCCCGGAACG
 2101 GTGATCAGTT ACATTGTATT GAAGGGCTCA GGTGCGATAG GGCATAGAGC AATCCCTTTC
 2161 GACGAGTTTG ATCCAACCAA ACACAAATAT GATGCCGAAT ACTATATTGA AAACCAGGTC
 2221 TTGCCGGCGG TTGAGCGTAT ACTGCGCGCT TTCGGCTATC GAAAGGAAGA TCTTCGTTAC
 2281 CAAAAACTA GACAGGTGGG TCTGTCCGCA TGGCTCAAAC CTAAGGGAAC GTAA

Secuencia 7 (SEQ ID NO:7)

->pKB13 - Secuencia nucleotídica optimizada con codón Pfu en vector pUC19

1 TCGCGCGTTT CCGTGATGAC GGTGAAAACC TCTGACACAT GCAGCTCCCG GAGACGGTCA
 61 CAGCTTGTCT GTAAGCGGAT GCCGGGAGCA GACAAGCCCG TCAGGGCGCG TCAGCGGGTG
 121 TTGGCGGGTG TCGGGGCTGG CTTAACTATG CGGCATCAGA GCAGATTGTA CTGAGAGTGC
 181 ACCATATGCG GTGTGAAATA CCGCACAGAT GCGTAAGGAG AAAATACCGC ATCAGGCGCC
 241 ATTCGCCATT CAGGCTCGCC AACTGTTGGG AAGGGCGATC GGTGCGGGCC TCTTCGCTAT

301 TACGCCAGCT GCGGAAAGGG GGATGTGCTG CAAGGCGATT AAGTTGGGTA ACGCCAGGGT
361 TTCCAGCTC ACGACGTTGT AAAACGACGG CCAGTGAATT CCGTCTCAGC GCCATTCTGG
421 ATACCGACTA TATCACGGAA GATGGCAAAC CCGTGATACG TATTTTTAAG AAAGAGAATG
481 GTGAGTTCAA AATCGAGTAC GACCGCACTT TTGAGCCATA TTCTACGCG TTACTGAAGG
541 ACATAGCGC CATTAAGAA GTTAAAAAAA TCACCGCAGA GCGGCATGGG ACAGTGGTAA
601 CCGTGAAGAG AGTTGAAAAA GTCCAGAAAA AATTTTTGGG ACGACCTGTA GAAGTGTGGA
661 AACTTTATTT CACTCACCCC CAAGATGTTT CCGCTATACG TGATAAAATT CGCGAACATC
721 CAGCGGTCAT TGATATTTAC GAATATGATA TACCTTTTGC CAAGCGTTAC CTCATCGACA
781 AAGGCCCTGTT GCCGATGGAA GGTGATGAAG AATTAATAAT GTTGGCATTG GACATTGAAA
841 CACTTTATCA CGAGGGGGAA GAGTTTGCTG AGGTCCCAT CCTGATGATT TCTTATGCGG
901 ATGAAGAGG TGCCCGGTA ATAACCTGGA AGAACGTTGA TCTCCCGTAC GTGGACGTCG
961 TTAGTACGGA ACGGGAAATG ATCAAACGTT TCCTGCGCGT AGTGAAGAG AAAGATCCAG
1021 ACCTCTTAAT TACCTATAAT GGTGATAACT TTGATTTTGC ATACCTGAAA AAAAGATGCG
1081 AAAAGTTGGC CATAAATTTT GCTCTTGGTC GAGACGGGTC AGAGCCTAAA ATCCAGCGTA
1141 TGGGAGATCG CTTTGGCGTT GAAGTGAAG GCCGGATTCA TTTCGACCTG TATCCGGTAA
1201 TTCGTGCGAC TATCAACCTC CCCACATACA CGTTAGAAGC CGTCTATGAG GCAGTTTTTG
1261 TTCAACCGAA GGAAGAAAGT TACGCTGAGG AAATTACCAC TGCGTGGGAA ACAGGGCAGA
1321 ATCTGGAACG TGTAGCCCGC TATTCTATGG AGGATGCAAA AGTTACCTAT GAATTGGGTA
1381 AGGAATTTCT TCCAATGGAG CCGCAGCTGT CGAGATTAAT AGGGCAGAGC CTGTGGGACG
1441 TGICTCGAAG TCCACCGGTA AACCTCGTCG AATGGTTTCT GTTGGCGAAA GCATACGAGC
1501 GTAATGAACT TGCCCTTAAC AAACCGGATG AAAAGGAGCT GGCACGCGCT CGCCAATCCT
1561 ATGAAGGCGG TTACGTTAAA GAACCAGAGC GGGGGTTATG GGAATAATC GTGTATCTGG
1621 AITTCGTTTC GCTCTACCCG AGCATTATCA TTACCCACAA CGTATCTCCC GACACTTGA
1681 ATCGCGAGGG CTGTAAGAA TATGATGTCG CGCCGACAGT TGGTCATAGA TTTTGAAGG
1741 ACTTCCCGGG ATTTATACCA AGTCTGCTTG CCGATTTACT GGAAGAGCGA CAAAAATCA
1801 AAAAGAAAAA TAAAGCTACA ATCGATCCGA TAGAACGTAA GCTGCTCGAC TACCGCCAGC
1861 GGGCCATCAA AATTTTGGCA AACICATATT ATGGTTACTA TGGGTACGGC CGTGCTCGCT
1921 GGTATTGTAA AGATGCGCC GAATCCGTGA CCGCATGGGG CCGTGAATAC ATCACCATGA
1981 CTATTAAGGA GATGAAGAG AAATATGGTT TCAAAGTAA CTACTCGGAT ACAGACGGAT
2041 TCTTTGCGAC GATTCCCGGT GCCGATGCAG AAACCGTCAA GAAAAAGCG ATGGAATTC
2101 TTAAGTATAT AAATGCTAAA TTACCTGGTG CCCTGGAGCT GGAATACGAA GGGTTTTACA
2161 AACGCGGATT CTTTGTACT AAGAAAAAAT ATGCGGIGAT CGACGAGGAA GCGAAGATTA
2221 CGACCAGAGG CCTCGAGATT GTACGGCGTG ATTGGAGCGA AATCGCTAAA GAAACACAGG
2281 CACGTGTCTT GAGGGCATT CTGAAAAGAT GGGACGTTGA AAAGGCGGTG CGAATTGTAA
2341 AAGAAGTCA CGAAAGACTT TCTAAGTACG AAGTTCGCC AGAGAAACTG GTGATACACG
2401 AACAAATCAC TCGTATCTG AAAGACTATA AGGCTACAGG CCCGCATGTA GCAGTCGCCA
2461 AACGCCCTCG GGCTCGGGGT GTTAAAATTC GTCCCGGAAC GGTGATCAGT TACATTGTAT
2521 TGAAGGGCTC AGGTCCGATA GGGGATAGAG CAATCCCTTT CGACGAGTTT GATCAACCA
2581 AACACAAATA TGATGCCGAA TACTATATTG AAAACCAGGT CTTGCCGGCG GTTGAGCGTA
2641 TACTGCGCGC TTTCCGGTAT CGAAAGGAA AGTCTTCGTTA CCAAAAAACT AGACAGGTGG
2701 GTCTGTCCCG ATGGCTCAA CCTAAGGGAA CGTAATGATA TGAGACCGGA TCCTTAGAG
2761 TCGACCTGCA GGCATGCAAG CTTGGCGTAA TCATGGTCAT AGCTGTTTCC TGTGTGAAT
2821 TGTTATCCCG TCACAATTC ACACAACATA CGAGCCGGAA GCATAAAGTG TAAAGCCTGG
2881 GGTGCCTAAT GAGTAGCTA ACTCACATTA ATTGCGTTGC GCTCAGTCC CGTTTCCAG
2941 TCGGAAACCG TGTCGTGCCA GCTGCATTA TGAATCGGCC AACGCGCGGG GAGAGGCGGT
3001 TTGCGTATTG GCGCTCTTC CGTTCCTCG CTCACTGACT CGCTGCGCTC GGTGCTTCGG
3061 CTGCGGGCAG CGGTATCAG TCACCTCAAAG GCGGTAATAC GGTATCCAC AGAATCAGGG
3121 GATAACCGAG GAAAGAATC GTGAGCAAAA GCGCCAGCAA AGGCCAGGAA CCGTAAAAAG
3181 CGCCGCTTGC TGCGTTTTT CCATAGGCTC CGCCCCCTG ACGAGCATCA CAAAAATCGA
3241 CGCTCAAGTC AGAGGTGGCG AAACCCGACA GGACTATAAA GATACCGAGC GTTTCCCTCT
3301 GGAAGCTCCC TCGTGGCTC TCCTGTTCCG ACCCTGCCGC TTACCGGATA CCTGTCCGCC
3361 TTTCTCCCTT CCGGAAGCGT GGGCCTTTCT CATAGCTCAC GCTGTAGGTA TCTCAGTTCG
3421 GTGTAGGTCG TTCGCTCAA GCTGGGCTGT GTGCACGAAC CCCCCTTCA GCGGACCGC
3481 TGCGCCTTAT CCGTAACTA TCGTCTTGG TCCAACCGG TAAGACACGA CTTATCGCCA
3541 CTGGCAGCAG CCACTGGTAA CAGGATTAGC AGAGCGAGGT ATGTAGGCGG TGCTACAGAG
3601 TTCTTGAAGT GGTGGCTTAA CTACGGCTAC ACTAGAAGAA CAGTATTTGG TATCTGCGCT
3661 CTGCTGAAGC CAGTTACCTT CCGAAAAAGA GTTGGTAGCT CTTGATCCGG CAAACAACC
3721 ACCGCTGGTA GCGGTGGTT TTTTGTTCG AAGCAGCAGA TTACGCGCAG AAAAAAGGA
3781 TCTCAAGAAG ATCCTTTGAT CTTTTCTACG GGGTCTGACG CTCAGTGGAA CAAAACTCA
3841 CGTTAAGGGA TTTTGGTCAT GAGATTATCA AAAAGGATCT TCACCTAGAT CCTTTTAAAT
3901 TAAAAATGAA GTTTTAAATC AATCTAAAGT ATATATGAGT AAACCTGGTC TGACAGTTAC
3961 CAATGCTTAA TCAGTGAGGC ACCTATCTCA GCGATCTGTC TATTCTGTTT ATCCATAGTT
4021 GCCTGACTCC CCGTCTGTGA GATAACTACG ATACGGGAGG GCTTACCATC TGGCCCCAGT
4081 GCTGCAATGA TACCOCGAGA CCCACGCTCA CCGGCTCCAG ATTTATCAGC AATAAACCCAG
4141 CCGACCCGAA GGGCCGAGCG CAGAAGTGGT CCTGCAACTT TATCCGCTC CATCCAGTCT
4201 ATTAATTGTT GCCGGGAAGC TAGAGTAAGT AGTTCGCCAG TTAATAGTTT GCGCAACGTT
4261 GTTGCCATTG CTACAGGCAT CGTGGTGTA CGCTCGCTGT TTGGTATGGC TTCATTACGC
4321 TCCGGTTCCC AACGATCAAG CCGAGTTACA TGATCCCCA TGTGTGCAA AAAAGCGGTT

4381 AGCTCCTTCG GTCCCTCCGAT CGTTGTCCAGA AGTAAGTTGG CCGCAGTGT ATCACTCATG
 4441 GTTATGGCAG CACTGCATAA TTCTCTTACT GTCATGCCAT CCGTAAGATG CTTTCTGTG
 4501 ACTGGTGAGT ACTCAACCAA GTCATTCTGA GAATAGTGA TCGCGCGACC GAGTTGCTCT
 4561 TGCCCGCGCT CAATACGGGA TAATACCGCG CCACATAGCA GAACCTTAAA AGTGTCTATC
 4621 ATTGAAAAAC GTTCTTCGGG GCGAAAACTC TCAAGGATCT TACCGCTGTT GAGATCCAGT
 4681 TCGATGTAAC CCACTCGTGC ACCCAACTGA TCTTCAGCAT CTTTACTTT CACCAGCGTT
 4741 TCTGGGTGAG CAAAAACAGG AAGGCCAAAT GCCGCAAAA AGGGAATAAG GGCACACGG
 4801 AAATGTTGAA TACTCATACT CTTCCTTTT CAATATTATT GAAGCATTTA TCAGGGTTAT
 4861 TGTCTCATGA CCGGATACAT ATTTGAATGT ATTTAGAAAA ATAAACAAAT AGGGGTCCG
 4921 CGCACATTC CCGGAAAAGT GCCACCTGAC GTC TAAGAAA CCATTATTAT CATGACATTA
 4981 ACCTATAAAA ATAGGCGTAT CACGAGGCC TTTCTGTC

Secuencia 8 (SEQ ID NO:8)

>pKB8 - Secuencia nucleotídica optimizada con codón KOD en vector pUC19

1 TCGCAGCGTT CGGTGATGAC GGTGAAAACC TCTGACACAT GCAGCTCCCG GAGACGGTCA
 61 CAGCTTGTCT GTAAGCGGAT GCCGGGAGCA GACAAGCCCG TCAGGGCCGC TCAGCGGGTG
 121 TTGGCGGGTG TCGGGGCTGG CTIAACIATG CGGCATCAGA GCAGATTGTA CTGAGAGTGC
 181 ACCATATGCG GTGTGAAATA CCGCACAGAT GCGTAAGGAG AAAATACCGC ATCAGGCGCC
 241 ATTCGCCATT CAGGCTGCGC AACTGTGGG AAGGGCGATC GGTGCGGGCC TCTTCGCTAT
 301 TACGCCAGCT GCGGAAAGGG GGATGTGCTG CAAGGCGATT AAGTTGGGTA ACGCGAGGGT
 361 TTTCCAGCTG ACGAGCTTGT AAAACGACGG CCAGTGAATT CGGTCTCAGC GCCATTCTGT
 421 ATACCGACTA TATCACGGAA GATGGCAAAC CGGTGATACG TATTTTTAAG AAAGAGAATG
 481 GTGAGTTCAA AATCGAGTAC GACCGCACTT TTGAGCCATA TTTCTACCGC TTACTGAAGG
 541 ACGATAGCGC CATTGAAGAA GTTAAAAAAA TCACCGCAGA GCGGCATGGG ACAGTGGTAA
 601 CCGTGAAGAG AGTTGAAAAA GTCCAGAAAA AATTTTTGGG ACGACCTGTA GAAGTGTGGA
 661 AACTTTATTT CACTCACCCC CAAGATGTTT CGGCTATACG TGATAAAAT CGCGAACATC
 721 CAGCGGTGAT TGATATTAC GAATATGATA TACCTTTTGC CAAGCGTTAC CTCATCGACA
 781 AAGGCTGGT GCCGATGGAA GGTGATGAAG AATTAATAAT GTTGGCATTG GACATTGAAA
 841 CACTTTATCA CGAGGGGGAA GAGTTTGTG AGGGTCCCAT CCTGATGATT TCTTATGCGG
 901 ATGAAGAGGG TGCCCGCGTA ATAACCTGGA AGAACGTTGA TCTCCCGTAC GTGGACGTCG
 961 TTAGTACGGA ACGGAAATG ATCAAACGTT TCCTGCGCGT AGTGAAGAG AAAGATCCAG
 1021 ACGICITAA TACCTATAAT GGTGATAACT TTGATTTTGC ATACCTGAA AAAAGATGCG
 1081 AAAAGTTGGG CATAAATTC GCTCTTGGT GAGACGGGTC AGAGCCTAAA ATCCAGCGTA
 1141 TGGGAGATCG CTTTGGCGTT GAAGTGAAG GCCGATTCA TTTCCGACCTG TATCCGGTAA
 1201 TTCGTGCGAC TATCAACCTC CCCACATACA CGTTAGAAGC CGTCTATGAG GCAGTTTTTG
 1261 GTCAACCGAA GGA AAAAGTT TACGCTGAGG AAATTACCAC TGCGTGGGAA ACAGGCGAGA
 1321 ATCTGGAACG TGTGACCCGC TATTCTATGG AGGATGCAAA AGTTACCTAT GAATTGGGTA
 1381 AGGAATTTCT TCCAATGGAG GCGCAGCTGT CGAGATTAAT AGGGCAGAGC CTGTGGGACG
 1441 TGCTCAGAG TTCAACGGGA AACCTCGTGC AATGGTTTCT GTTGGGAAA GCATACGAGC
 1501 GTAATGAAC TGCCTTAAC AAACCGGATG AAAAGGAGCT GGCACCCCGT CGCCAATCCT
 1561 ATGAAGGCGG TTACGTTAAA GAACAGAGC GGGGGTTATG GGAATAATC GTGTATCTGG
 1621 ATTTCCGTTT GCTCTACCG AGCATTATCA TTACCCACAA CGTATCTCCC GACACTTTGA
 1681 ATCCGGAGGG CTGTAAAGAA TATGATGTCG CGCCGAGGT TGGTCATAGA TTTGCAAGG
 1741 ACTTCCGGG ATTTATACCA AGTCTGCTTG GCGATTACT GGAAGAGCGA CAAAAATCA
 1801 AAAAGAAAAT GAAAGCTACA ATCGATCCGA TAGAACGTA GCTGCTCGAC TACCGCCAGC
 1861 GGGCCATCAA AATTTTGGCA AACTCATATT ATGGTTACTA TGGGTACGGC CGTGTCTCGT
 1921 GGTATTGTAA AGAGTGGCCG GAATCCGTA CGGCATGGGG CCGTGAATAC ATCACCATGA
 1981 CTATTAAGGA GATAGAAGAG AAATATGGTT TCAAAGTAAT CTACTCGGAT ACAGACGGAT
 2041 TCTTTGCGAC GATTCCCGGT GCCGATCCAG AAACCGTCAA GAAAAAGCG ATGGAATTCC
 2101 TTAATATAT AAATGCTAAA TTACTTGGTG CCCTGGAGCT GGAATACGAA GGGTTTTACA
 2161 AACGCGGATT CTTTGTACT AAGAAAAAAT ATGCGGTGAT GCAGAGGAA GGCAAGATTA
 2221 CGACCAGAGG CCTCGAGATT GTACGGCTG ATTGGAGCGA AATCGCTAAA GAAACACAGG
 2281 CACGTGCTTT GGAGGCAITTA CTGAAAGATG GGGACGTTGA AAAGGCGGTG CGAATGTAA
 2341 AAGAAGTAC CGAAAAACTT TCTAAGTACG AAGTCCGCC AGAGAACTG GTGATACACG
 2401 AACAAATCAC TCGIGATCTG AAAGACTATA AGGCTACAGG CCCGATGTA GCAGTCGCCA
 2461 AACGCCCTGC GGCCTGGGGT GTTAAAATTC GTCCCGAAC GGTGATCAGT TACATGTAT
 2521 TGAAGGGCTC AGGTCGCATA GGGGATAGAG CAATCCCTT CGACAGGTTT GATCCAACCA
 2581 AACACAAATA TGAAGCCGAA TACTATATTG AAAACCAAGT CTTGCCGGCG GTTGGCGTA
 2641 TACTGCGCGC TTTCCGCTAT CGAAAGGAAG ATCTTCGTTA CCAAAAACT AGACAGGTGG
 2701 GTCTGTCCGC ATGSGCTAAA CCTAAGGGAA CGTAATGATA TGAGACCGGA TCCTCTAGAG
 2761 TCGACCTGCA GGCATGCAAG CTTGGCGTAA TCATGGTCAI AGCTGTTTCC TGTGTGAAAT
 2821 TGTTATCCGC TCACAATCC ACACAACATA CGAGCCGGA GCATAAAGTG TAAAGCCTGG
 2881 GGTGCCATAAT GAGTGAAGTA ACTCACATTA ATTGCGTTGC GCTCACTGCC CGCTTTCCAG
 2941 TCGGGAAACC TGTCTGCCA GCTGCATTA TGAATCGGCC AACCGCGGG GAGAGCGGT
 3001 TTGCGTATTG GGCCTCTTC CGCTTCTTCG CTCACTGACT CGCTGCGCTC GGTCTGTCGG
 3061 CTGCGCGGAG CGGTATCAGC TCACCTAAAG GCGGTAATAC GGTTATCCAC AGAATCAGG
 3121 GATAACGCA GAAAGAACAT GTGAGCAAAA GGCCAGCAA AGGCAGGAA CCGTAAAAAG
 3181 GCCGCGTTGC TGGCGTTTTT CCATAGGCTC GCCTCCCTG ACGAGCATCA CAAAAATCGA


```

3241 CGCTCAAGTC AGAGGTGGCG AAACCCGACA GGAATAAAA GATACCAGGC GTTTCCTCCCT
3301 GGAAGCTCCC TCGTGCCTC TCCTGTTCCG ACCCTGCCGC TTACCGGATA CCTGTCCGCC
3361 TTTCTCCCTT CCGGAAGCGT GGCGCTTCT CATAGCTCAC GCTGTAGGTA TCTCAGTTCCG
3421 GTGTAGGTCG TTGCTCCAA GCTGGGCTGT GTGCACGAAC CCCCCGTTCA GCCCGACCGC
3481 TGCCGCTTAT CCGGTAAC TA TCGTCTTGG TCCAACCCGG TAAGACACGA CTTATCGCCA
3541 CTGGCAGCAG CCACTGGTAA CAGGATTAGC AGAGCGAGGT ATGTAGCGCG TGCTACAGAG
3601 TTCTTGAAGT GGTGGCCTAA CTACGGCTAC ACTAGAAGAA CAGTATTGG TATCTGCGCT
3661 CTGCTGAAGC CAGTTACCTT CGGAAAAAGA GTTGGTAGCT CTGTATCCGG CAAACAAACC
3721 ACCGCTGGTA GCGGTGGTTT TTTTGTTCG AAGCAGCAGA TTACGCGCAG AAAAAAAGGA
3781 TCTCAAGAAG ATCCTTTGAT CTTTCTACG GGGCTGACG CTCAGTGGAA CGAAAACTCA
3841 CGTTAAGGGA TTTTGGTCAT GAGATTATCA AAAAGGATCT TCACCTAGAT CCTTTTAAAT
3901 TAAAAATGAA GTTTTAAATC AATCTAAAGT ATATATGAGT AAACCTGGTC TGACAGTTAC
3961 CAATGCTTAA TCAGTGAGGC ACCTATCTCA GCGATCTGTC TATTTGCTTC ATCCATAGIT
4021 GCCTGACTCC CCGTCTGTGA GATAACTACG ATACGGGAGG GCTTACCATC TGGCCCCAGT
4081 GCTGCAATGA TACCGCGAGA CCCACGCTCA CCGGCTCCAG ATTTATCAGC AATAAACCAG
4141 CCAGCCGGA GGGCCGAGCG CAGAAGTGGT CCTGCAACTT TATCCGCTC CATCCAGTCT
4201 ATTAATGTGT GCCGGGAAGC TAGAGTAAAG AGTTCGCCAG TTAATAGTTT GCGCAACGTT
4261 GTTGCCATTG CTACAGGCAT CGTGGTGTC CGCTCGTCTG TTGGTATGGC TTCATTACAGC
4321 TCCGGTTCCC AAGCATCAAG GCGAGTTACA TGATCCCCCA TGTTGTGCAA AAAAGCGGTT
4381 AGCTCCTTCG GTCTCCGAT CGTTGTCAGA AGTAAGTTGG CCGCAGTGT ATCACTCATG
4441 GTTATGGCAG CACTGCATAA TTCTCTTACT GTCATGCCAT CCGTAAGATG CTTTTCTGTG
4501 ACTGGTGAGT ACTCAACCAA GTCATCTGA GAATAGTGTG TGCGCGGACC GAGTGTCTCT
4561 TGCCCCGGCT CAATACGGGA TAATACCGCG CCACATAGCA GAACTTAAA AGTGTCTATC
4621 ATTGAAAAAC GTTCTTCGGG GCGAAAACTC TCAAGGATCT TACCCTGTT GAGATCCAGT
4681 TCGATGTAAC CCACTCGTGC ACCCAACTGA TCTTCAGCAT CTTTTACTTT CACCAGCGTT
4741 TCTGGGTGAG CAAAAACAGG AAGGCAAAAT GCCGCAAAA AGGGAATAAG GGGGACACGG
4801 AAATGTTGAA TACTCATACT CTTCTTTTT CAATATTAT GAAGCATTTA TCAGGGTTAT
4861 TGTCTCATGA GCGGATACAT ATTTGAATGT ATTTAGAAAA ATAAACAAAT AGGGGTTCCG
4921 CGCACATTIC CCCGAAAAGT GCCACCTGAC GTCTAAGAAA CCATTATTAT CATGACATTA
4981 ACCTATAAAA ATAGGCGTAT CACGAGGCC TTTCTGTC

```

Secuencias aminoacídicas de Pfu y KOD

Secuencia 9 (SEQ ID NO: 9)

>Secuencia aminoacídica Pfu

```

1 MILDVDVYITE EGKPVIRLFK KENGKFKIEH DRTRFRPYIYA LLRDDSKIEE VKKITGERHG
61 KIVRIVDVEK VEKFKLGPFI TWKLYLEHP QDVPTIREKV REHPAVVDIF EYDIPFAKRY
121 LIDKGLIPME GEEELKILAF DIETLYHEGE EFGKGPPIIM SYADENEAKV ITWKNIDLPI
181 VEVVSSEREM IKRFLRIIRE KDPDIIVTYN GDSFDFPYLA KRAEKLGIKL TIGRDGSEPK
241 MQRIGDMTAV EVKGRHIFDL YHVITRTINL PTYTLAIVYE AIFGKPKKEV YADEIAKAWE
301 SGENLERVAK YSMEDAKATY ELGKEFLPME IQLSRLVQGP LWDVSRSSSTG NLVEWFLLRK
361 AYERNEVAPH KPSEEEYQRR LRESYTGGFV KEPEKGLWEN IVYLDPRALY PSIIITHNVS
421 PDTLNLEGCK NYDIAPQVGH KFCKDIPGFI PSLGLHLEE RQKIKTKMKE TQDPIEKILL
481 DYRQKAIKLL ANSFYGYGYG AKARWYCKEC AESVTAWGRK YIELVWKELE EKFGFKVLYI
541 DTDGLYATIP GGESEIIEK ALEFVKYINS KLPGLLELEY EGFYKRGFFV TKKRYAVIDE
601 EGKVIITRGL IVRRDWSEIA KETQARVLET ILKHGDVEEA VRIVKEVIQK LANYEIPPEK
661 LAIYEQITRP LHEYKAIIPH VAVAKKLAAK GVKIKPGMVI GYIVLRGDGP ISNRAILAE
721 YDPKHKHYDA EYYIENQVLP AVLRILEGFG YRKEDLRYQK TRQVGLTSLW NIKKS*

```

Secuencia 10 (SEQ ID NO: 10)

>Secuencia aminoacídica Pfu, 3 aa adicionales en área 5'

```

1 MASAILDVDY ITEEGKPVIR LFKKENGKFK IEHRTFRPY IYALLRDDSK IBEVKKITGE
61 RHGKIVRIVD VEKVEKFLG KPITVWKLXL EHPQDVPTIR EKVREHPAVV DIFEYDIPFA
121 KRYLIDKGLI PMEGEELKI LAFDIETLYH EGEEFSGKPI IMISYADENE AKVITWKNID
181 LPYVEVSSSE REMIKRFLRI IREKDPDIIV TYNGDSFDFP YLAKRAEKLK IKLTIGRDGS
241 EPKMQRIGDM TAVEVKGRIH FDLYHVITRT INLPTYTLEA VYEAIFGKPK EKVYADEIAK
301 AWESGENLER VAKYSMEDAK ATYELGKEFL PMEIQLSRLV GQPLWDVSRG STGNLVEWFL
361 LRKAYERNEV APNKPSEEEY QRRRESYTG GFVKEPEKGL WENIVYLDPR ALYPSIIITH
421 NVSPDTLNLE GCKNYDIAPO VGHKFKDIP GFIPSLGLH LEERQKIKTK MKETQDPIEK
481 ILLDYRQKAI KLLANSFYGY YGAKARWYC KECAESVTAW GRKYIELVWK ELEEKFGFKV
541 LYIDTDGLYA TIPGGESEI KKKALEFVKY INSKLPGLLE LEYEGFYKRG FVVTKKRYAV
601 IDEEGKVI TRGLEIVRDWS EIAKETQARV LETILKHGDV EEAVRIVKEV IQKLANYEIP
661 PEKLAIEYQI TRPLHEYKAI GPHVAVAKKL AAKGVKIKPG MVIGYIVLRG DGPISNRAIL
721 AEEYDPKHKH YDAEYYIENQ VLPVAVLRLE GFGYRKEDLR YQKTRQVGLT SWLNKKS*

```

Secuencia 11 (SEQ ID NO: 11)

>Secuencia aminoacídica KOD

```

1      MILDIDYITE DGKPVIRIFK KENGEFKIEY DRTFEPYFYA LLKDDSAIEE VKKITAERHG
61     TVVTVKRVEK VQKFLGRPV EVWKLYFTHP QDVPVPAIRKI REHPAVIDIY EYDIPFAKRY
121    LIDKGLVPMPE GDEELKMLAF DIETLYHEGE EFAEGPILMI SYADEEGARV ITWKNVDLPY
181    VDVVSTEREM IKRFLRVVKE KDPDVLITYN GDNFDFAYLK KRCEKLGINF ALGRDGSEPK
241    IQRMGDRFAV EVKGRIFHFDL YPVIRRTINL PTYTLEAVYE AVFGQPKEKV YAEIITAWE
301    TGENLVARAR YSMEDAKVTY ELGKEFLPME AQLSRLIGQS LWDVSRSSSTG NLVWFLLRK
361    AYERNELAPN KPDEKELARR RQSYEGGYVK EPERGLWENI VYLDFRSLYP SIIITHNVSP
421    DTLNREGCKE YDVAQVQVGR FCKDFPGFIP SLLGDLEER QKIKKKMKAT IDPIERKLLD
481    YRQRAIKILA NSYYGYGYGA RARWYCKECA ESVTAWGREY ITMTIKEIEE KYGFKVIYSD
541    TDGFFATIPG ADAETVKKKA MEFLKYINAK LPGALELEYE GFYKRGFFVT KKKYAVIDEE
601    GKITTRGLEI VRRDWSEIAK ETQARVLEAL LKDGDEKAV RIVKEVTEKL SKYEVFPEKL
661    VIHEQITRDL KDYKATGPHV AVAKRLAARG VKIRPGTVIS YIVLKGSGRI GDRAIFFDEF
721    DPTKHKYDAE YYIENQVLPV VERILRAFVY RKEDLRYQKT RQVGLSAWLK PKGT
    
```

Secuencia 12 (SEQ ID NO: 12)

>Secuencia aminoacídica KOD, 3 aa adicionales en área 5'

```

1      MASAILDIDY IIEDGKPVIR IFKKENGFEK IEYDRTFEPY FYALLKDDSA IEEVKKITAE
61     RHGTVVTVKR VEKQKQKFLG RPVEVWKLYF THPQDVPVPAIR DKIREHPAVI DIYEYDIPFA
121    KRYLIDKGLV PMEGDEELKM LAFDIETLYH EGEEFAEGPI LMISYADEEG ARVITWKNVD
181    LPYVDVVSTE REMIKRFLRV VKEKDPDVLV TYNGDNDFDA YLKKRCEKLG INFALGRDGS
241    EPKIQRMGDR FAVEVKGRIF FDLYPVIRRT INLPTYTLEA VYEA VFGQPK EKVYAEIIT
301    AWETGENLER VARYSMEDAK VTYELGKEFL PNEAQLSRLI GQSLWDVSRV STGNLVEWFL
361    LRKAYERNEL AFNKPDEKEL ARRRQSYEGG YVKEPERGLW ENIVYLDPRS LYPVSIITHN
421    VSPDITLNREG CKEYDVAQVQ GHRFCKDFPG FIPSLLDLL EERQKIKKKM KATIDPIERK
481    LLDYRQRAIK ILANSYYGYG YARARWYCK ECAESVTAWG REYITMTIKE IEKYGFKVI
541    YSDTDGFFAT IPGADAETVK KKAMEFLKYI NAKLPGALEL EYEGFYKRGF FVTRKKYAVI
601    DEEGKITTRG LEIVRRDWSE TAKETQARVL EALLKDGDEE KAVRIVKEVT EKLSKYEVVP
661    EKLVIHEQIT RDLKDYKATG PHVAVAKRLA ARGVKIRPGT VISYIVLKGK GRIGDRAIFP
721    DEFDP TKHKY DAEYYIENQV LPAVERILRA FGyrkedlry QKTRQVGLSA WLKPKGT*
    
```

Secuencias de ADN de quimeras Pod y Kofu

Secuencia 13 (SEQ ID NO: 13)

>Secuencia aminoacídica optimizada con codón Pod

```

1      ATGGCTAGCG CCATTCTGGA TGTGGACTAT ATCACCGAAG AGGGCAAACC GGTTATACGT
61     TTATTTAAGA AAGAGAATGG TAAATCAAG ATCGAGCATG ACCGCACGTI CCGTCCATAC
121    ATTTACGCGT TGCTTCGGGA TGATAGCAA ATTGAGGAAG TCAAAAAGAT CACCGGGGAA
181    CGTCATGGAA AAATAGTAAG AATTGTGGAC GTTGAAAAAG TCGAAAAGAA ATTTCTGGGC
241    AAACCGATCA CTGTATGGAA GCTCTATCTG GAACATCCTC AGGATGTGCC CACAATTCGA
301    GAAAAAGTTC GTGAGCACC AGCCGTCGTG GATATATTIG AATATGACAT CCCTTTTGA
361    AAACGCTACT TAATTGATAA AGGCCTGATC CCGATGGAGG GGAAGAAGA ACTTAAAT
421    CIGGCTTTTG ACATAGAAAC GCCTATCAT GAGGGAGAAG AATTGGCAA AGGTCCCATC
481    ATTATGATTT CTTACGCGGA TGAGAACGAA GCCAAGGTAA TCCTTGGA AAATATTGAC
541    CTGCCGTACG TTGAAGTGGT CAGTTCAGAG CGGGAATGA TTAACGTTT TTTACGCATC
601    ATTAGAGAGA AAGATCCAGA TATAATCGTT ACATATAACG GCGACTCCTT CGATTTTCTT
661    TACCTGGCAA AACGAGCTGA AAAATTGGGT ATTAACCTTA CCATCGGGCG TGACGGATCG
721    GAACCGAAAA TGCAACGCAT TGGCGATATG ACGGCGGTAG AGGTGAAAAG TCGGATACAC
781    TTTGATCTGT ATCATGTCAT CACCGTACT ATTAATCTCC CCACATACAC GITAGAAAGCC
841    GTTTATGAGG CAATATTCGG CAAGCCGAAA GAAAAAGTGT ACGCTGACGA AATCGCGAAG
901    GCATGGGAGA CGCGCGAAAA CCTGGAGCCG GTAGCAAAAT ATTTATGGA AGATGCTAAA
961    GCGACCTACG AATTGGGGAA AGAATTTCTT CCAATGGAAA TTCAGCTGTC GAGATTAAATA
1021   GGGCAGAGCC TGTGGGACGT GTCTCGAAGT TCAACGGGAA ACCTCGTCGA ATGGTTTCTG
1081   TGTCCGAAAAG CATACGAGCG TAATGAACTT GCCCTAACA AACCGGATGA AAAGGAGCTG
1141   GCACGCCGTC GCCAATCTTA TGAAGCGGT TACGTTAAAG AACAGAGCG GGGGTTATGG
1201   GAAAAATATCG TGTATCTGGA TTTCCGTTCC CTCTACCCGA GCATTATCAT TACCCACAAC
1261   GTATCTCCCG ACACCTTGAA TCGCGAGGGC TGTAAAGAAT ATGATGTCGC GCCGAGGTT
1321   GGTCATAGAT TTTGCAAGGA CTTCGCGGA TTTATACCAA GTCTGCTTGG CGATTTACTG
1381   GAAGAGCGAC AAAAAATCAA AAAGAAAATG AAAGCTACAA TCGATCCGAT AGAACGTAAG
1441   CTGCTCGACT ACCGCCAGCG GCCATCAA ATTTTGGCAA ACTCATATTA TGGTTACTAT
1501   GGGTACGCGC GTGCTCGCTG GTATTGAAA GAGTGCGCCG AATCCGTGAC GGCATGGGGC
1561   CGTGAATACA TCACCATGAC TATTAAGGAG ATAGAAGAGA AATATGGTTT CAAAGTAATC
1621   TACTCGGATA CAGACGGATT CTTTGCAGCG ATTCCCGGTG CCGATGCAGA AACCGTCAAG
1681   AAAAAAGCGA TGGAAATCGT TAAGTACATT AATAGTAAAT TACCGGACI GCTTGAACGT
    
```


1741 GAGTATGAAG GCTTCTACAA AAGAGGTTTT TTCGTTACTA AGAAACGATA TGCCGTAATA
 1801 GATGAAGAGG GGAAGATCAT CACACGTGGC CTCGAGATTG TTCGCCGGGA CTGGTCAGAG
 1861 ATAGCAAAGG AAACGCAGGC GCGCGTGCTC GAAACCATCT TGAAACATGG TGATGTAGAG
 1921 GAAGCCGTCC GCATTGITAA AGAGGTGATC CAGAAGTTAG CAAACTATGA AATTCACCGG
 1981 GAAAAACTGG CGATATACGA GCAAATCACT CGTCCCCTTC ACGAATATAA AGCTATTGGA
 2041 CCTCATGTAG CCGTCGCGAA GAACTGGCT GCAAAGGGC TTAAGATAAA ACCAGGTATG
 2101 GTGATCGGGT ACATTGTACT CCGCGCGCAC GGTCCGATT CCAATAGAGC CATCTGGCG
 2161 GAGGAATATG ATCCTAAAA GCATAAATAC GACGCTGAAT ATTACATTGA GAACCAGGTC
 2221 TTGCCGGCAG TTCTGCGGAT ACTTGAAGGA TTTGGCTATC GTAAAGAAGA TCTGCGCTAT
 2281 CAAAAGACGC GACAGGTGGG TCTGACTAGC TGGTTGAATA TCAAAAAATC GTAA

Secuencia 14 (SEQ ID NO: 14)

->Secuencia aminoacídica optimizada con codón Kofu

1 ATGGCTAGCG CCATTCTGGA TACCGACTAT ATCACGGAAG ATGGCAAACC GGTGATACGT
 61 ATTTTTAAGA AAGAGAATGG TGAGTTCAA AATCGAGTACG ACCGCACATT TGAGCCATAT
 121 TTCTACGCGT TACTGAAGGA CGATAGCGCC ATTGAAGAAG TTAATAAAAT CACCGCAGAG
 181 CCGCATGGGA CAGTGGTAAC CGTGAAGAGA GTTGAAAAAG TCCAGAAAAA ATTTTTGGGA
 241 CGACCTGTAG AAGTGTGGAA ACTTTATTTC ACTCACCCCC AAGATGTTC GGCATATACGT
 301 GATAAAATTC GCGAACATCC AGCGGTCATT GATATTTACG AATATGATAT ACCITTTGCC
 361 AAGCGTTACC TCATCGACAA AGGCCTGGTG CCGATGGAAG GTGATGAAGA ATTAATAATG
 421 TTGGCATTCC ACATTGAAAC ACTTTATCAC GAGGGGGAAG AGTTTGCTGA GGGTCCCATC
 481 CTGATGATT CTTATGCGGA TGAAGAGGGT GCCCGCGTAA TAACCTGGAA GAACGTTGAT
 541 CTCCTGACG TGGACGTCGT TAGTACGGA CCGGAAATGA TCAAACGTTT CCTGCGCGTA
 601 GTGAAGAGA AAGATCCAGA CGTCTAAT ACCTATAATG GTGATAACT TGATTTGCA
 661 TACCTGAAAA AAAGATCGCA AAAGTTGGC ATAAATTTCC CTCTTGCTCG AGACGGGTCA
 721 GAGCTAAAA ICCAGCTGAT GGGAGATCG TTTGCGGTIG AAGTGAAGG CCGGATTCAT
 781 TTGACCTGT ATCCGGTAA TCGTCGCACT ATCAACCTCC CCACATACAC GTTAGAAGCC
 841 GTCTATGAGG CAGTTTTTGG TCAACCGAAG GAAAAAGTTT ACGCTGAGGA AATTACCACT
 901 GCCTGGGAAA CAGGCGAGAA TCTGGAACGT GTAGCCCGCT ATTCTATGGA GGATGCAAAA
 961 GTTACCTATG AATTGGGTAA GGAATTTCTT CCAATGGAGG CGCAGCTGAG TCGTTTAGTC
 1021 GGACAACCTC TGTGGGACGT TTCACGCTCC TCGACTGGCA ATCTCGTGA GTGGTTCCTG
 1081 TTGAGAAAA CCTATGAACG AAACGAAGTA GCACCGAATA AACCAAGCGA GGAAGAATAT
 1141 CAGCGTCGCC TTCGCGAGTC TTACACAGGT GGGTTTGTA AGGAACCGGA GAAAGGTCTT
 1201 TGGGAAAAA TCGTGTATT AGATTTCCGT GCGCTGTACC CCAGTATTAT AATCACCCAC
 1261 AATGCTCAC CTGACACGCT CAACCTGGAA GGTGCAAAA ATTATGATAT TGCTCCGCAA
 1321 GTTGACATA AGTTTTGTA AGATATCCG GGCCTCACC CGTCCCTGCT TGGTCACTTA
 1381 CTGGAAGAGC GCCAAAAAAT TAAGACCAA ATGAAAGAGA CTCAGGATCC CATTGAAAAG
 1441 ATCCTGCTCG ATTACCGGCA AAAGCCATT AAATGCTTG CAAACTCGTT TTATGGGTAC
 1501 TATGGCTATG CGAAGSCTCC TTGCTACTGC AAAGAATGTG CCGAGAGCGT GACAGCATGG
 1561 GGTGCAAAAT ATATAGAAT AGTATGGAAG GAGCTGGAAG AAAAATTCGG ATTCAAAATC
 1621 CTGTACATCG ATACGGATGG CCTCIATGCG ACCATTCCTG GTGGGGAGTC TGAAGAAATC
 1681 AAGAAAAAAG CCTTGAATTT CCTTAAGTAT ATAAATGCTA AAITACCTGG TGCCCTGGAG
 1741 CTGGAATACG AAGGGTTTTA CAAACCGGGA TTCTTTGTTA CTAAGAAAAA ATATGCGGTG
 1801 ATCGACGAGG AAGGCAAGT TACGACCAGA GGCCTCGAGA TTGTACGGCG TGATTTGAGC
 1861 GAAATCGCTA AAGAAACACA GGCACGTGTC TTGGAGGCAT TACTGAAAGA TGGGGACGTT
 1921 GAAAGGCGG TGCGAATTTG AAAAGAAGTC ACCGAAAAAC TTICTAAGTA CGAAGTTCCG
 1981 CCGAGAAAC TGGTGATACA CGAACAAATC ACTCGTGATC TGAAGACTA TAAGGCTACA
 2041 GGCCCGCATG TAGCAGTCGC CAAACGCTC GCGGCTCGGG GTGTTAAAA TCGTCCCGGA
 2101 ACGGTGATCA GTTACATTTG ATTGAAGGGC TCAGGTGCGA TAGGGGATAG AGCAATCCCT
 2161 TTGACGAGT TTGATCCAAC CAAACAAAA TATGATGCCG AATACTATAT TGAAAAACAG
 2221 GTCTTGCCGG CGGTTGAGCG TATACTGCGC GCTTTCCGCT ATCGAAAGGA AGATCTTCGT
 2281 TACCAAAAA CTAGACAGGT GGGTCTGTCC GCATGGCTCA AACCTAAGGG AACGTAA

Secuencias aminoacídicas de quimeras Pod y Kofu

Secuencia 15 (SEQ ID NO: 15)

->Secuencia aminoacídica Pod

1 MASAILDVY ITEEGKPVIR LFKKENGKFK IEHDRTFRPY IYALLRDDSK IEEVKKITGE
 61 RHGKIVRIVD VEKVEKKFLG KPITVWKLYL EHPQDVPIIR EKVREHPAVV DIFEYDIPFA
 121 KRYLIDKGLI PMEGEELKI LAFDIETLYH EGEEFGKGP IIMISYADENE AKVITWKNID
 181 LPYVEVVSSE REMIKRFLRI IREKDPDIIV TYNGDSFDFP YLAKRAEKLK IKLTIGRDGS
 241 EPKMQRIGDM TAVEVKGRH FDLYHVITR INLPTYLEA VYEAFGKPK EKVYADEIAK
 301 AWESGENLER VAKYSMEDAK ATYELGKEFL PMEIQLSRLI GQSLWDVSR SGTNLVWELF
 361 LRKAYERNEL APNKPEKEL ARRRQSYEGG YVKEPERGLW ENIVYLDERS LYPSIIITHN
 421 VSPDTLNREG CKFYDVPQV GHRFCKDFPG FIPSLGLDLL EERQKIKKKM KATIDPIERK
 481 LLDYRQRAIK ILANSYYGY GYARARWYCK ECAESVTAWG REYITMIKE IEKEYGFKVI
 541 YSDTDGFFAT IPGADAETVK KKAMEFVKYI NSKLPGLLEL EYEGFYKRGF FVTKRYAVI
 601 DEEGKVIIRG LEIVRRDWE IAKETQARVL ETILKHGDVE EAVRIVKEVI QKLANYEIPP
 661 EKLAIEYQIT RPLHEYKAIG PHVAVAKKLA AKGVKIKPGM VIGYIVLRGD GPISNRILLA
 721 EEDPKKHKY DAEYYIENQV LPAVLRILEG FGYRKEDLRY QKTRQVGLTS WLNKKS*

Secuencia 16 (SEQ ID NO: 16)

>Secuencia aminoacídica Kofu

```

1      MASAILDTDY ITEDGKPVIR IFKKENGEFK IEYDRTFEPY FYALLKDDSA IEEVKKITAE
61     RHGTVVTVKR VEKVQKFLG RPVEVWKLYF THPQDVPAIR DKIREHPAVI DIYEYDIPFA
121    KRYLIDKGLV PMEGDEELKM LAFDIETLYH EGEEFAEGPI LMISYADEEG ARVITWKNVD
181    LPYVDVVSTE REMIKRFLRV VKEKDPVLI TYNGDNFDFY YLKKRCEKLG INFALGRDGS
241    EPKIQRMGDR FAVEVKGRIH FDLYPVIRRT INLPTYTLEA VYEA VFGQPK EKVYABEITT
301    AWETGENLER VARYSMEDAK VTIELGKEFL PMEAQLSRLV GQPLWDVSRG STGNLVEWFL
361    LRKAYERNEV APNKPSEEEY QRRLRESYTG GFVKEPEKGL WENIVYLDFR ALYPSIIITH
421    NVSPDTLNLE GCKNYDIAPQ VGHKFKDIP GFIPSLGLH LEERQKIKTK MKETQDPIEK
481    ILLDYRQKAI KLLANSFYGY YGYAKARWYC KECAESVTAW GRKYIELVWK ELEERKFGFKV
541    LYIDTDGLYA TIPGGESEEI KKKALEFLKY INAKLPGALE LEYEGFYKRG FVTRKKKYAV
601    IDEEGKITTR GLEIVRRDWS EIAKETQARV LEALLKGDV EKAVRIVKEV TEKLSKYEVP
661    PEKLVIEHQI TRDLKDYKAT GPHVAVAKRL AARGVKIRPG TVISYIVLKG SGRIGDRAIP
721    FDEFDPCHKH YDAEYYIENQ VLPAVERILR AFGYRKEDLR YQKTRQVGLS AWLKPKGT*
    
```

Secuencia 17 (SEQ ID NO: 17)

>pLACIQZa

```

1      TCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCA
61     CAGCTTGTCTGTAAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTACGGGCGCGTCAGCGGGTG
121    TTGGCGGGTGTTCGGGGCTGGCTTAACATATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGC
181    ACCATATGCGGTGTGAAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCC
241    ATTCGCCATTACGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTAT
                                                GT
301    TACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGT
TTTCCCAGTCACGAC >>> Primer M13-40 (SEQ ID NO:42)
361    TTTCCCAGTCACGAGCTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGAT
    
```

XbaI

```

421    CCTCTAGAGCCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACA
481    ATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTG
541    AGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCCG
601    TGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACCGCGGGGAGAGGGCGTTCGCTATTGGGGCGC
661    CAGGGTGGTTTTTCTTTTCCACAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTCACCAGCCTG
721    GCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGCCCCAGCAGGGGAAAATCCTG
781    TTTGATGGTGGTTGACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCAC
841    TACCGAGATATCCGCACCAACCGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTCGCGCCAG
901    CGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTACGATTTG
961    CATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCCGCTTCCGTTCCGCTATCGGCTG
1021   AATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGACGCGCCGAGACAGA
1081   ACTTAATGGGCCCGCTAACAGCGGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCAC
1141   GCCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAACTGTTGATGGGTGCTGGTCCAGA
1201   GACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTGCAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTG
1261   GTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCAC
1321   CGCCGCTTACAGGCTTCGACGCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCACGCTGGCACC
1381   CAGTTGATCGGCGCGAGATTTAATCGCCCGGACAATTTGCGACGGCGGTGCAGGGCCAG
1441   ACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCG
1501   GTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTCCCGGCTTTTCGCAGA
1561   AACGTGGCTGGCCTGGTTTACCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATATCTC
1621   TCGGACATCGTATAACGTTACTGGTTTTCACATTCACCACCCTGAATTGACTCTCTTCCGG
1681   GCGCTATCATGCCATACCGGAAAGGTTTTGCGCCATTCGATGGTGTCAACGTAATGCA
    
```

NcoI

1741 TGCCGCTTCGCCTTCCGGCCACCAGAATAGCCTGCGCCATGGGCTTCCTCGCTCACTGAC
 1801 TCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGTGC GGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATA
 1861 CGGTTATCCACAGAAACAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAGGCCAGCAA
 1921 AAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCT
 1981 GACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAA
 PRIMER PKBLACIR <<< GCTGTCTGATATT

TCTATGG (SEQ ID NO:43)
 2041 AGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCG
 2101 CTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCA
 2161 CGCTGTAGGTATCTCAGTTCCGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAA
 2221 CCCCCCGTTACGCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCG
 2281 GTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGG
 2341 TATGTAGGCGGTGCTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCCTAAC TACGGCTACACTAGAAGA
 2401 ACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGC
 2461 TCTTGATCCGGCAAACAACACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGCAGCAGCAG
 2521 ATTACCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGAC
 2581 GCTCAGTGAACGAAAAC TACGTTAAGGGATTTGGTTCATGAGATTATCAAAAAGGATC
 2641 TTCACCTAGATCCTTTTAAATTA AAAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAAGTATATATGAG
 2701 TAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGT
 2761 CTATTTTCGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAG
 2821 GGCTTACCATCTGGCCCCAGTGTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCA
 2881 GATTTATCAGCAATAAACAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCAACT
 2941 TTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCCGCA
 3001 GTTAATAGTTTTCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTGC
 3061 TTTGGTATGGCTTCATTCAGTCCGGTTC CCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCC
 3121 ATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCC TCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTG
 3181 GCCCGAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATCTCTTACTGTCATGCCA
 3241 TCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGT GAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGT
 3301 ATGCGCGCACCGAGTTGCTCTTGC CCGGCTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGC
 3361 AGAACTTTAAAAGTGTCTCATATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAAC TCTCAAGGATC
 3421 TTACCCTGTTGAGATCCAGTTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCA
 3481 TCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAAATGCCGAAAA
 3541 AAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCTTTTCAATATTAT
 3601 TGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGATTTAGAAA
 3661 AATAAACAAATAGGGGTTCCCGGCACATTTCCCGGAAAAGTGCACCTGACGTCTAAGAA
 3721 ACCATTATTATCATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCAGGAGGCCCTTTTCGTC

Secuencias aminoacídicas de ADN polimerasas de *T. litoralis*, *Thermococcus* sp. 9 grados N-7 y quimeras de las mismas.

Secuencia 18 (SEQ ID NO: 18)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa *Thermococcus* sp. 9 grados N-7 (Nº ac. U47108)

1 MILDTDYITE NGKPVIRVFK KENGEFKIEY DRTFEPYFYA LLKDDSAIED VKKVTAKRHG
 61 TVVKVKRAEK VQKKFLGRPI EVWKLYFNHP QDVPAIRDRI RAHPAVVDIY EYDIPFAKRY
 121 LIDKGLIPME GDEELTMLAF DIETLYHEGE EFGTGPILMI SYADGSEARV ITWKKIDLPI
 181 VDVVSTEKEM IKRFLRVVRE KDPDVLITYN GDNDFAYLK KRCEELGIKF TLGRDSEPK
 241 IQRMGDRFAV EVKGRIHFDL YPVIRRTINL PTYTLAVYE AVFGPKPEKV YAE EIAQAW E
 301 SGEGLERVAR YSMEDAKVTY ELGREFFPME AQLSRLIGQS LWDVSRSTG NLVEWFLLRK
 361 AYKRNELAPN KPDERELARR RGGYAGGYVK EPERGLWDNI VYLDFRSLYP SIIITHNVSP
 421 DTLNREGCKE YDVAPEVGHK FCKDFPGFIP SLLGDLLEER QKIKRKMKAT VDPLEKLLD
 481 YRQRAIKILA NSFYGYGYA KARWYCKECA ESVTAWGREY IEMVIRELEE KFGFKVLYAD
 541 TDGLHATIPG ADAETVKKKA KEFLKYINPK LPGLLELEYE GFYVRGFFVT KKKYAVIDEE
 601 GKITTRGLEI VRRDWSEIAK ETQARVLEAI LKHGDVEEAV RIVKEVTEKL SKYEVPEPEL
 661 VIHEQITRDL RDKYATGPHV AVAKRLAARG VKIRPGTVIS YIVLKGSGRI GDRAIPADEF
 721 DPTKHRYDAE YYIENQVLP A VERILKAFGY RKEDLRYQRT KQVGLGAWLK VKGKK

Secuencia 19 (SEQ ID NO: 19)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa *T. litoralis* (Nº ac. M74198.1)

1 MILDTDYITK DGKPIIRIFK KENGEFKIEL DPHFQPIIYA LLKDDSAIEE IKAIKGERHG
61 KTVRVLDAVK VRKKFLGREV EVWKLIFEHP QDVPAMRGKI REHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDKGLIPME GDEELKLLAF DIETFYHEGD EFGKGEIIMI SYADEEEARV ITWKNIDLPI
181 VDVVSNEREM IKRFVQVVK KDPDVIITYN GDNFDLPYLI KRAEKLGVRL VLGRDKEHPE
241 PKIQRMGDSF AVEIKGRIHF DLFPVVRTI NLPTYTLEAV YEAVLGKTKS KLGAE EIAAI
301 WETEESMKKL AQYSMEDARA TYELGKEFFP MEAELAKLIG QSVWDVSRSS TGNLVEWYLL
361 RVAYARNELA PNKPDEEEYK RRLRTTYLGG YVKEPEKGLW ENIIYLDFRS LYPSTIIVTHN
421 VSPDTLEKEG CKNYDVAPIV GYRFCKDFPG FIPSILGDLI AMRQDIKKKM KSTIDPIEKK
481 MLDYRQRAIK LLANSYYGYM GYPKARWYSK ECAESVTAWG RHYIEMTIRE IEEKFGFKVL
541 YADTDGFYAT IPGEKPELIK KKAKEFLNYI NSKLPGLLEL EYEGFYLRGF FVTKKRYAVI
601 DEEGRITTRG LEVVRDWE IAKETQAKVL EAILKEGSVE KAVEVVRDVG EKIAKYRVPL
661 EKLVIHEQIT RDLKDYKAIG PHVAIAKRLA ARGIKVKPGT IISYIVLKGS GKISDRVILL
721 TEYDPRKHKY PDYIENQV LPAVLRILEA FGYRKEDLRY QSSKQTGLDA WLKR

Secuencia 20 (SEQ ID NO:20)**Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica 9Nli**

1 MILDTDYITE NGKPVIRVFK KENGEFKIEY DRIFEPYFYA LLKDDSAIED VKKVTAKRHG
61 TVVKVKRAEK VQKKFLGRPI EVWKLYFNHP QDVPARDRI RAHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDKGLIPME GDEELTMLAF DIETLYHEGE EFGTGPIIMI SYADGSEARV ITWKKIDLPI
181 VDVVSTEKEM IKRFLRVVRE KDPDVLITYN GDNFDFAYLK KRCEELGIKF TLGRDGSEPK
241 IQRMGDRFAV EVKGRIHFDL YPVIRRTINL PTYTLAVYE AVFGKPKKEV YAE EIAQAW
301 SGEGLERVAR YSMEDAKVTY ELGREFFPME AQLSRLIGQS LWDVSRSSSTG NLVEWYLLRV
361 AYARNELAPN KPDEEEYKRR LRTTYLGGYV KEPEKGLWEN IYLDFRSLY PSIIIVTHNVS
421 PDTLEKEGCK NYDVAPIVGY RFCKDFPGFI PSILGDLIAM RQDIKKMKMS TIDPIEKKML
481 DYRQRAIKLL ANSYYGYMGY PKARWYSKES AESVTAWGRH YIEMTIREIE EKFGFKVLYA
541 DTDGFYATIP GEKPELIKKK AKEFLNYINS KLPGLLELEY EGFYVRGFFV TKKKYAVIDE
601 EGKITTRGLE IVRRDWEIA KETQARVLEA ILKHGDVEEA VRIVKEVTEK LSKYEVPEPK
661 LVIHEQITRD LRDKYKATGPH VAVAKRLAAR GVKIRPGTVI SYIVLKGSGR IGDRAIPADE
721 FDPTRKHRYDA EYIENQVLP AVERILKAFG YRKEDLRYQK TKQVGLGAWL KVKGKK

Secuencia 21 (SEQ ID NO:21)**Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica Li9N**

1 MILDTDYITK DGKPIIRIFK KENGEFKIEL DPHFQPIIYA LLKDDSAIEE IKAIKGERHG
61 KTVRVLDAVK VRKKFLGREV EVWKLIFEHP QDVPAMRGKI REHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDKGLIPME GDEELKLLAF DIETFYHEGD EFGKGEIIMI SYADEEEARV ITWKNIDLPI
181 VDVVSNEREM IKRFVQVVK KDPDVIITYN GDNFDLPYLI KRAEKLGVRL VLGRDKEHPE
241 PKIQRMGDSF AVEIKGRIHF DLFPVVRTI NLPTYTLEAV YEAVLGKTKS KLGAE EIAAI
301 WETEESMKKL AQYSMEDARA TYELGKEFFP MEAELAKLIG QSVWDVSRSS TGNLVEWYLL
361 RKAYKRNELA PNKPDERELA RRRGGYAGGY VKEPERGLWD NIVYLDFRSL YPSIIITHNV
421 SPDTLNREGC KEYDVAPEVG HKFCKDFPGF IPSLLGDLE ERQKIKRKM ATVDPLEKKL
481 LDYRQRAIKI LANSFYGYG YAKARWYCKE CAESVTAWGR EYIEMVIREL EKFGFKVLY
541 ADTDGLHATI PGADAETVKK KAKEFLKYIN PKLPGLLELE YEGFYLRGFF VTKKRYAVID
601 EEGRITTRGL EVVRRDWEI AKETQAKVLE AILKEGSVEK AVEVVRDVVE KIAKYRVPLE
661 KLVIIHQITR DLKDYKAIGP HVAIAKRLAA RGIVKVPGTI IISYIVLKGS KISDRVILLT
721 EYDPRKHKYD PDYIENQVLP PAVLRILEAF GYRKEDLRYQ SSKQTGLDAW LKR

Secuencias aminoacídicas de ADN polimerasas de *T. gorgonarius*, *T. zilligii* y quimeras de las mismas.**Secuencia 22 (SEQ ID NO:22)****Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa *T. gorgonarius* (Nº de ac. 4699806)**

1 MILDTDYITE DGKPVIRVFK KENGEFKIDY DRNFEPYIYA LLKDDSAIED VKKITAERHG
61 TTVRVVRAEK VKKKFLGRPI EVWKLYFTHP QDVPARDKI KEHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDKGLIPME GDEELKMLAF DIETLYHEGE EFAEGPIIMI SYADEEGARV ITWKNIDLPI
181 VDVVSTEKEM IKRFLKVVKE KDPDVLITYN GDNFDFAYLK KRSEKLGKVF ILGREGSEPK
241 IQRMGDRFAV EVKGRIHFDL YPVIRRTINL PTYTLAVYE AIFGQPKKEV YAE EIAQAW
301 TGEGLERVAR YSMEDAKVTY ELGKEFFPME AQLSRLVGSQ LWDVSRSSSTG NLVEWYLLRK
361 AYARNELAPN KPDERELARR RESYAGGYVK EPERGLWENI VYLDFRSLYP SIIITHNVSP
421 DTLNREGCEE YDVAPQVGHK FCKDFPGFIP SILGDLEER QKVKKMKAT IDPIEKKLLD
481 YRQRAIKILA NSFYGYGYA KARWYCKECA ESVTAWGRQY IETTIREIEE KFGFKVLYAD
541 TDGFATIPG ADAETVKKKA KEFLDYINAK LPGLLELEYE GFYKRGFFVT KKKYAVIDEE
601 DKITTRGLEI VRRDWEIAK ETQARVLEAI LKHGDVEEAV RIVKEVTEKL SKYEVPEPKL
661 VIYEQITRDL KDKYKATGPH AVAKRLAARG IKIRPGTVIS YIVLKGSGR IGDRAIPDEF
721 DPAKHKYDAE YIENQVLP VERILRAFYG RKEDLRYQKT RQVGLGAWLK PKT

Secuencia 23 (SEQ ID NO:23)**Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa *T. zilligii***

1 MILDADYITE DGKPVIRVFK KEKGFEFKIDY DRDFEPYIYA LLKDDSAIED IKKITAERHG
61 TTVRVTRAER VKKKFLGRPV EVWKLYFTHP QDVP AIRDKI REHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDRGLIPME GDEELRMLAF DIETLYHEGE EFGEGPILMI SYADEEGARV ITWKNIDL PY
181 VESVSTEKEM IKRFLKVIQE KDPDVLITYN GDNDFAYLK KRSETLGVKF ILGRDGSEPK
241 IQRMGDRFAV EVKGRIHFDL YPVIRRTINL PTYTLETVYE AIFGQPKEKV YAEIARAWE
301 SGEGLERVAR YSMEDAKATY ELGKEFFPME AQLSRLVGQS LWDVSRSTG NLVEWFLLRK
361 AYERNELAPN KPDERELARR AESYAGGYVK EPEKGLWENI VYLDYKSLYP SIIITHNVSP
421 DTLNREGCRE YDVAPQVGHR FCKDFPGFIP SLLGDLLEER QKVKKMKAT VDP IERKLLD
481 YRQRAIKILA NSYGYGYGYA NARWYCRECA ESVTAWGRQY IETTMREIEE KFGFKVLYAD
541 TDGFFATIPG ADAETVKKKA KEFLNYINPR LPGLLELEYE GFYRRGFFVT KKKYAVIDE E
601 DKITTRGLEI VRRDWSEIAK ETQARVLEAI LKHGDVEEAV RIVKEVTEKL SRYEVPPEKL
661 VIYEQITRDL R DYRATGPHV AVAKRLAARG IKIRPGTVIS YIVLKGPGRV GDRAIPFDEF
721 DPAKHRYDAE YYIENQVLP A VERILRAFGY RKEDLRYQKT KQAGLGAWLK PKT

Secuencia 24 (SEQ ID NO:24)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica GoZi

1 MILDADYITE DGKPVIRVFK KENGEFKIDY DRNFEPYIYA LLKDDSAIED VKKITAERHG
61 TTVRVVRAEK VKKKFLGRPI EVWKLYFTHP QDVP AIRDKI KEHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDKGLIPME GDEELKMLAF DIETLYHEGE EFAEGPILMI SYADEEGARV ITWKNIDL PY
181 VDVVSTEKEM IKRFLKVVKE KDPDVLITYN GDNDFAYLK KRSEKLGVKF ILGREGSEPK
241 IQRMGDRFAV EVKGRIHFDL YPVIRRTINL PTYTLEAVYE AIFGQPKEKV YAEIQAWE
301 TGEGLERVAR YSMEDAKVTY ELGKEFFPME AQLSRLVGQS LWDVSRSTG NLVEWFLLRK
361 AYERNELAPN KPDERELARR RESYAGGYVK EPEKGLWENI VYLDYKSLYP SIIITHNVSP
421 DTLNREGCRE YDVAPQVGHR FCKDFPGFIP SLLGDLLEER QKVKKMKAT VDP IERKLLD
481 YRQRAIKILA NSYGYGYGYA NARWYCRECA ESVTAWGRQY IETTMREIEE KFGFKVLYAD
541 TDGFFATIPG ADAETVKKKA KEFLDYINAK LPGLLELEYE GFYKRGFFVT KKKYAVIDE E
601 DKITTRGLEI VRRDWSEIAK ETQARVLEAI LKHGDVEEAV RIVKEVTEKL SKYEVPPEKL
661 VIYEQITRDL KDYKATGPHV AVAKRLAARG IKIRPGTVIS YIVLKGSGRI GDRAIPFDEF
721 DPAKHRYDAE YYIENQVLP A VERILRAFGY RKEDLRYQKT RQVGLGAWLK PKT

Secuencia 25 (SEQ ID NO:25)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica ZiGo

1 MILDADYITE DGKPVIRVFK KEKGFEFKIDY DRDFEPYIYA LLKDDSAIED IKKITAERHG
61 TTVRVTRAER VKKKFLGRPV EVWKLYFTHP QDVP AIRDKI REHPAVVDIY EYDIPFAKRY
121 LIDRGLIPME GDEELRMLAF DIETLYHEGE EFGEGPILMI SYADEEGARV ITWKNIDL PY
181 VESVSTEKEM IKRFLKVIQE KDPDVLITYN GDNDFAYLK KRSETLGVKF ILGRDGSEPK
241 IQRMGDRFAV EVKGRIHFDL YPVIRRTINL PTYTLETVYE AIFGQPKEKV YAEIARAWE
301 SGEGLERVAR YSMEDAKATY ELGKEFFPME AQLSRLVGQS LWDVSRSTG NLVEWFLLRK
361 AYERNELAPN KPDERELARR AESYAGGYVK EPERGLWENI VYLDYKSLYP SIIITHNVSP
421 DTLNREGCEE YDVAPQVGHR FCKDFPGFIP SLLGDLLEER QKVKKMKAT IDP I EKKLLD
481 YRQRAIKILA NSFYGYGYA KARWYCKECA ESVTAWGRQY IETTIREIEE KFGFKVLYAD
541 TDGFFATIPG ADAETVKKKA KEFLNYINPR LPGLLELEYE GFYRRGFFVT KKKYAVIDE E
601 DKITTRGLEI VRRDWSEIAK ETQARVLEAI LKHGDVEEAV RIVKEVTEKL SRYEVPPEKL
661 VIYEQITRDL R DYRATGPHV AVAKRLAARG IKIRPGTVIS YIVLKGPGRV GDRAIPFDEF
721 DPAKHRYDAE YYIENQVLP A VERILRAFGY RKEDLRYQKT KQAGLGAWLK PKT

Secuencias aminoacídicas de quimeras adicionales de ADN polimerasas KOD y Pfu.**Secuencia 26 (SEQ ID NO:26)**

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica Kofu-II.

1 MASAILDIDY ITEDGKPVIR IFKKENGEFK IEYDRIFEPY FYALLKDDSA IEEVKKITAE
61 RHGTVVTVKR VEKVQKKFLG RPVEVWKLYF THPQDVP AIR DKIREHPAVI DIYEYDIPFA
121 KRYLIDKGLV PME GDEELKM LAFDIETLYH EGEEFAEGPI LMISYADEEG ARVITWKNVD
181 LPYVDVVSTE REMIKRFLRV VKEKDPDVL I TYNGDNDF A YLKKRCEKLG INFALGRDGS
241 EPKIQRMGDR FAVEVKGRIH FDLYPVIRRT INLPTYTLEA VYEA VFGQPK EKVYAE EIT T
301 AWETGENLER VAKYSMEDAK ATYELGKEFL PMEIQLSRLV GQPLWDVSR S STGNLVEWFL
361 LRKAYERNEV APNKPSEEEY QRRRLRESYTG GFVKEPEKGL WENIVYLDFR ALYPSIIITH
421 NVSPDILNLE GCKNYDIAPQ VGHKFKCKDIP GFIP SLLGHL LEERQKIKTK MKETQDP I EK
481 ILLDYRQKAI KLLANSFYGY YGYAKARWYC KECAESVTAW GRKYIELVWK ELEEKFGFKV
541 LYIDTDGLYA TIPGGESEEI KKKALEFVKY INSKLPGLLE LEYEGFYKRG FFVTKKRYAV
601 IDEEGKVITR GLEIVRRDWS EIAKETQARV LEALLKGDV EKAVRIVKEV TEKLSKYEVP
661 PEKLVIEHQI TRDLKDYKAT GPHVAVAKRL AARGVKIRPG TVISYIVLKG SGRIGDRAIP
721 FDEFDPTKHK YDAEYYIENQ VLP AVERILR AFGYRKEDLR YQKTRQVGLS AWLKP KGT

Secuencia 27 (SEQ ID NO:27)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica Pod-II.

1 MASAILDVDY ITEEGKPVIR LFKKENGKFK IEHDRTFRPY IYALLRDDSK IEEVKKITGE
 61 RHGKIVRIVD VEKVEKKFLG KPITVWKLYL EHPQDVPTIR EKVREHPAVV DIFEYDIPFA
 121 KRYLIDKGLI PMEGEELKI LAFDIETLYH EGEEFGKGP I IMISYADENE AKVITWKNID
 181 LPYVEVVSSE REMIKRFLRI IREKDPDIIV TYNGDSFDFP YLAKRAEKLK IKLTIGRDS
 241 EPKMQRIGDM TAVEVKGRIH FDLYHVITRT INLPTYTLEA VYEAIFGKPK EKVYADEIAK
 301 AWESGENLER VARYSMEDAK VTYELGKEFL PMEQLSRLI QSLWDVSR S STGNLVEWFL
 361 LRKAYERNEL APNKPDEKEL ARRRQSYEGG YVKEPERGLW ENIVYLDFRS LYPSIIITHN
 421 VSPDTLNREG CKYDVAPQV GHRFCKDFPG FIPSLGDL EERQKIKKKM KATIDPIERK
 481 LLDYRQRAIK ILANSYGYG YGARARWYCK ECAESVTAWG REYITMTIKE IEEKYGFVKI
 541 YSDTDGFFAT IPGADAETVK KKAMEFLKYI NAKLPGAEL EYEGFYKRGF FVTKKKYAVI
 601 DEEGKITTRG LEIVRRDWE IAKETQARVL ETILKHGDVE EAVRIVKEVI QKLANYEIPP
 661 EKLAIYEQIT RPLHEYKAI PHVAVAKKLA AKGVKIKPGM VIGYIVLRGD GPISNRAILA
 721 EEYDPKHKY DAEYYIENQV LPAVLRILEG FGyrkedlry QKTRQVGLTS WLNKKS

Secuencia 28 (SEQ ID NO:28)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica Kofu-III.

1 MASAILDTDY ITEDGKPVIR IFKKENGKFK IEYDRTFEPY FYALLKDDSA IEEVKKITAE
 61 RHGTVVTVKR VEKVQKKFLG RPVEVWKLYF THPQDVPAIR DKIREHPAVI DIYEYDIPFA
 121 KRYLIDKGLV PMEGDEELKM LAFDIETLYH EGEEFAEGPI LMISYADEEG ARVITWKNVD
 181 LPYVDVVSSE REMIKRFLRV VKEKDPDLI TYNGDNDFDA YLKKRCEKLG INFALGRDGS
 241 EPKIQRMGDR FAVEVKGRIH FDLYPVIRRT INLPTYTLEA VYEAIVFGQPK EKVYAEETIT
 301 AWETGENLER VARYSMEDAK VTYELGKEFL PMEQLSRLI QSLWDVSR S STGNLVEWFL
 361 LRKAYERNEL APNKPDEKEL ARRRQSYEGG YVKEPEKGLW ENIVYLDFRS LYPSIIITHN
 421 VSPDTLNREG CKNYDIAPQV GHKFCCKDIPG FIPSLGHL EERQKIKTKM KETQDPIEKI
 481 LLDYRQKAIK LLANSFYGYG YAKARWYCK ECAESVTAWG RKYIELVWKE LEEKFGFKVL
 541 YIDTDGLYAT IPGGESEEEK KKALEFLKYI NAKLPGAEL EYEGFYKRGF FVTKKKYAVI
 601 DEEGKITTRG LEIVRRDWE IAKETQARVL EALLKGDVE KAVRIVKEVT EKLSKYEVPP
 661 EKLVIHEQIT RDLKDYKATG PHVAVAKRLA ARGVKIRPGT VISYIVLKGS GRIGDRAIPF
 721 DEFDPKHKY DAEYYIENQV LPAVERILRA FGyrkedlry QKTRQVGLSA WLKPKGT

Secuencia 29 (SEQ ID NO:29)

Secuencia aminoacídica de ADN polimerasa quimérica Pod-III.

1 MASAILDVDY ITEEGKPVIR LFKKENGKFK IEHDRTFRPY IYALLRDDSK IEEVKKITGE
 61 RHGKIVRIVD VEKVEKKFLG KPITVWKLYL EHPQDVPTIR EKVREHPAVV DIFEYDIPFA
 121 KRYLIDKGLI PMEGEELKI LAFDIETLYH EGEEFGKGP I IMISYADENE AKVITWKNID
 181 LPYVEVVSSE REMIKRFLRI IREKDPDIIV TYNGDSFDFP YLAKRAEKLK IKLTIGRDS
 241 EPKMQRIGDM TAVEVKGRIH FDLYHVITRT INLPTYTLEA VYEAIFGKPK EKVYADEIAK
 301 AWESGENLER VAKYSMEDAK ATYELGKEFL PMEQLSRLV QPLWDVSR S STGNLVEWFL
 361 LRKAYERNEV APNKPSEEEY QRRRESYTG GFVKEPERGL WENIVYLDFR SLYPSIIITH
 421 NVSPDTLNRE GCKYDVAPQ VGHFRFCKDFP GFIPSLGDL LEERQKIKKK MKATIDPIER
 481 KLLDYRQRAI KILANSYGYG YGARARWYC KECAESVTAW GREYITMTIK EIEEKYGFVK
 541 IYSDTDGFFA TIPGADAETV KKKAMEFVKY INSKLPGLE LEYEGFYKRG FVTKKKYAV
 601 IDEEGKVITR GLEIVRRDWS EIAKETQARV LETILKHGDV EAVRIVKEV IQKLANYEIP
 661 PEKLAIYEQI TRPLHEYKAI GPHVAVAKKL AAKGVKIKPG MVIGYIVLRG DGPISNRAIL
 721 AEEYDPKHK YDAEYYIENQ VLPVLRILE GFGyrkedlry YQKTRQVGLT SWLNKKS

EQUIVALENTES

- Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que la experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritos en el presente documento. El
- 5 alcance de la presente invención no pretende limitarse a la Descripción anterior, sino que es como se expone en las reivindicaciones adjuntas. Los artículos "un", "uno", "el" y "la" como se usan en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente otra cosa, debe entenderse que incluyen las referencias al plural. Las reivindicaciones o descripciones que incluyen "o" entre uno o más elementos de un grupo se consideran satisfechos si uno, más de uno, o todos los elementos del grupo están presente, se
- 10 emplean, o de otro modo son relevantes para un producto o proceso determinado, a menos que se indique lo contrario o sea evidente de otro modo a partir del contexto. La invención incluye realizaciones en la que exactamente un elemento del grupo está presente, se emplea o de otro modo, es relevante para un producto o proceso determinado. La invención también incluye realizaciones en las que más de uno, o todos los elementos del grupo están presentes, se emplean, o de otro modo son relevantes para un producto o proceso determinado.
- 15 Cuando los elementos están presentes como listas, por ejemplo, en el grupo Markush o un formato similar, se entenderá que cada subgrupo de los elementos también se desvela, y cualquier elemento puede eliminarse del grupo. Ha de apreciarse que, en general, cuando la invención, o aspectos de la invención, se denominan como comprendiendo particulares elementos, características, etc., ciertas realizaciones de la invención o aspectos de la invención consisten, o consisten básicamente en dichos elementos. Con fines de simplicidad, estas realizaciones no
- 20 se han expuesto específicamente en cada caso en el presente documento.

Ha de apreciarse que, a menos que se indique claramente otra cosa, en cualquier método reivindicado en el presente documento que incluya más de una acción, el orden de las acciones del método no se limita necesariamente al orden en el que las acciones del método se mencionan, sino que la invención incluye 5 realizaciones en las que el orden está limitado de ese modo.

LISTA DE SECUENCIAS

- 10 <110> KapaBiosystems Faurholm, Bjarne McEwan, Paul Bourn, William Rush, Gavin
- <120> ADN Polimerasas quiméricas
- <130> 2006735-0016
- 15 <150> 61/110.862
- <151> 03-11-2008
- <160> 45
- 20 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 2328
- <212> ADN
- 25 <213> Pyrococcus furiosus
- <400> 1

ES 2 571 446 T3

atgattttag atgtggatta cataactgaa gaaggaaaac ctggttattag gctattcaaa	60
aaagagaacg gaaaatttaa gatagagcat gatagaactt ttagaccata catttacgct	120
cttctcaggg atgattcaaa gattgaagaa gttaagaaaa taacggggga aaggcatgga	180
aagattgtga gaattgttga tgtagagaag gttgagaaaa agtttctcgg caagcctatt	240
accgtgtgga aactttattht ggaacatccc caagatgttc ccactattag agaaaaagtt	300
agagaacatc cagcagttgt ggacatcttc gaatacgata ttccatttgc aaagagatac	360
ctcatcgaca aaggcctaath accaatggag ggggaagaag agctaaagat tcttgccttc	420
gatatagaaa ccctctatca cgaaggagaa gagtttgaa aaggcccaath tataatgatt	480
agttatgcag atgaaaatga agcaaagggtg attacttgga aaaacataga tcttccatac	540
gttgagggtg tatcaagcga gagagagatg ataaagagat ttctcaggat tatcagggag	600
aaggatcctg acattatagt tacttataath ggagactcat tcgacttccc atatttagcg	660
aaaagggcag aaaaacttgg gattaaatha accattggaa gagatggaag cgagcccaag	720
atgcagagaa taggcgatat gacggctgta gaagtcaagg gaagaatata tttcgacttg	780
tatcatgtaa taacaaggac aataaathctt ccaacataca cactagaggc tgtatatgaa	840
gcaatthttg gaaagccaaa ggagaaggta tacgccgacg agatagcaaa agcctgggaa	900
agtggagaga accttgagag agttgcaaaa tactcgatgg aagatgcaaa ggcaacttat	960
gaactcggga aagaathcct tccaatggaa attcagctth caagattagt tggacaacct	1020
ttatgggatg tttcaaggtc aagcacaggg aaccttgtag agtggthctt acttaggaaa	1080

ES 2 571 446 T3

gcctacgaaa gaaacgaagt agctccaaac aagccaagtg aagaggagta tcaaagaagg 1140
ctcagggaga gctacacagg tggattcggt aaagagccag aaaaggggtt gtgggaaaac 1200
atagtatacc tagattttag agccctatat ccctcgatta taattaccca caatgtttct 1260
cccgatactc taaatcttga gggatgcaag aactatgata tcgctcctca agtaggccac 1320
aagttctgca aggacatccc tggttttata ccaagtctct tgggacattt gttagaggaa 1380
agacaaaaga ttaagacaaa aatgaaggaa actcaagatc ctatagaaaa aatactcctt 1440
gactatagac aaaaagcgat aaaactctta gcaaattctt tctacggata ttatggctat 1500
gcaaaagcaa gatggtactg taaggagtgt gctgagagcg ttactgcctg gggaagaaag 1560
tacatcgagt tagtatggaa ggagctcgaa gaaagtttg gatttaaagt cctctacatt 1620
gacactgatg gtctctatgc aactatccca ggaggagaaa gtgaggaaat aaagaaaag 1680
gctctagaat ttgtaaaata cataaattca aagctccctg gactgctaga gcttgaatat 1740
gaagggtttt ataagagggg attcttcggt acgaagaaga ggtatgcagt aatagatgaa 1800
gaaggaaaag tcattactcg tggtttagag atagttagga gagattggag tgaaattgca 1860
aaagaaactc aagctagagt tttggagaca atactaaaac acggagatgt tgaagaagct 1920
gtgagaatag taaaagaagt aatacaaaaag cttgccatt atgaaattcc accagagaag 1980
ctcgcaatat atgagcagat aacaagacca ttacatgagt ataaggcgat aggtcctcac 2040
gtagctgttg caaagaaact agctgctaaa ggagttaaaa taaagccagg aatggttaatt 2100
ggatacatag tacttagagg cgatggtcca attagcaata gggcaattct agctgaggaa 2160
tacgatccca aaaagcacia gtatgacgca gaatattaca ttgagaacca ggttcttcca 2220
gcggtactta ggatattgga gggatttga tacagaaagg aagacctcag ataccaaaag 2280
acaagacaag tcggcctaac ttcctggctt aacattaaaa aatcctag 2328

<210> 2
<211> 2325
<212> ADN
<213> Thermococcus sp.

5

<400> 2
atgatcctcg aactgacta cataaccgag gatggaaagc ctgtcataag aattttcaag 60
aagggaaaacg gcgagttaa gattgagtac gaccggactt ttgaacccta cttctacgcc 120
ctcctgaagg acgattctgc cattgaggaa gtcaagaaga taaccgccga gaggcacggg 180
acggttgtaa cggttaagcg ggttgaaaag gttcagaaga agttcctcgg gagaccagtt 240
gaggtctgga aactctactt tactcatccg caggacgtcc cagcgataag ggacaagata 300
cgagagcatc cagcagttat tgacatctac gagtacgaca tacccttcgc caagcgctac 360

ES 2 571 446 T3

ctcatagaca agggattagt gccaatggaa ggcgacgagg agctgaaaat gctcgccttc	420
gacattgaaa ctctctacca tgagggcgag gaggttcgccg aggggccaat cttatgata	480
agctacgccg acgaggaagg ggccagggtg ataacttgga agaacgtgga tctcccctac	540
gttgacgtcg tctcgacgga gagggagatg ataaagcgct tcttccgtgt tgtgaaggag	600
aaagaccgag acgtttctcat aacctacaac ggcgacaact tcgacttcgc ctatctgaaa	660
aagcgctgtg aaaagctcgg aataaacttc gccctcggaa gggatggaag cgagccgaag	720
attcagagga tgggcgacag gtttgccgtc gaagtgaagg gacggataca cttcgatctc	780
tatcctgtga taagacggac gataaacctg cccacataca cgcttgaggc cgtttatgaa	840
gccgtcttcg gtcagccgaa ggagaagggt tacgctgagg aaataaccac agcctgggaa	900
accggcgaga accttgagag agtcgcccgc tactcgatgg aagatgcgaa ggtcacatac	960
gagcttggga aggagttcct tccgatggag gccagcttt ctcgcttaat cggccagttc	1020
ctctgggacg tctcccgtc cagcactggc aacctcgttg agtggttctt cctcaggaag	1080
gcctatgaga ggaatgagct ggccccgaac aagcccgatg aaaaggagct ggccagaaga	1140
cggcagagct atgaaggagg ctatgtaaaa gagcccgaga gagggttgtg ggagaacata	1200
gtgtacctag attttagatc cctgtacccc tcaatcatca tcaccacaa cgtctcgccg	1260
gatacgctca acagagaagg atgcaaggaa tatgacgttg cccacaggt cggccaccgc	1320
ttctgcaagg acttcccagg atttatcccg agcctgcttg gagacctcct agaggagagg	1380
cagaagataa agaagaagat gaaggccacg attgaccga tcgagaggaa gctcctcgat	1440
tacaggcaga gggccatcaa gatcctggca aacagctact acggttacta cggctatgca	1500
agggcgcgct ggtactgcaa ggagtgtgca gagagcgtaa cggcctgggg aaggagtagc	1560
ataacgatga ccatcaagga gatagaggaa aagtacggct ttaaggtaat ctacagcgac	1620
accgacggat tttttgccac aatacctgga gccgatgctg aaacctcaa aaagaaggct	1680
atggagttcc tcaagtatat caacgcaaaa ctccggggcg cgcttgagct cgagtacgag	1740
ggcttctaca aacgcggctt cttcgtcacg aagaagaagt atgcggtgat agacgaggaa	1800
ggcaagataa caacgcggcg acttgagatt gtgaggcggt actggagcga gatagcga	1860
gagacgcagg cgagggttct tgaagctttg ctaaaggacg gtgacgtcga gaaggccgtg	1920
aggatagtca aagaagttac cgaaaagctg agcaagtacg aggttccgcc ggagaagctg	1980
gtgatccacg agcagataac gagggattta aaggactaca aggcaaccgg tccccagtt	2040
gccgttgcca agaggttggc cgcgagagga gtcaaaatac gccctggaac ggtgataagc	2100
tacatcgtgc tcaagggtc tgggagata ggcgacaggg cgataccggt cgacgagttc	2160
gacccgacga agcacaagta cgacgccgag tactacattg agaaccaggt tctcccagcc	2220
gttgagagaa ttctgagagc cttcggttac cgcaaggaag acctgcgcta ccagaagagc	2280
agacaggttg gtttgagtgc ttggctgaag ccgaaggga cttga	2325

ES 2 571 446 T3

<210> 3
 <211> 2328
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia nucleotídica optimizada con codón de Pfu

<400> 3

10

```

atgattctgg atgtggacta tatcaccgaa gagggcaaac cggttatacg tttatttaag      60
aaagagaatg gtaaattcaa gatcgagcat gaccgcacgt tccgtccata catttacgcg      120
ttgcttcggg atgatagcaa aattgaggaa gtcaaaaaga tcaccgggga acgtcatgga      180
aaaatagtaa gaattgtgga cgttgaaaaa gtcgaaaaga aatttctggg caaacccgatc      240
actgtatgga agctctatct ggaacatcct caggatgtgc ccacaattcg agaaaaagtt      300
cgtgagcacc cagccgtcgt ggatatatct gaatatgaca tcccttttgc aaaacgctac      360
ttaattgata aaggcctgat cccgatggag ggggaagaag aacttaaaat tctggctttt      420
gacatagaaa cgctctatca tgaggagaaa gaatttggca aagggtccat cattatgatt      480
tcttacgcgg atgagaacga agccaaggta atcacttggg aaaatattga cctgccgtac      540
gttgaagtgg tcagttcaga gcgggaaatg attaaacggt ttttacgcat cattagagag      600
aaagatccag atataatcgt tacatataac ggcgactcct tcgattttcc ttacctggca      660
aaacgagctg aaaaattggg tattaactt accatcgggc gtgacggatc ggaaccgaaa      720
atgcaacgca ttggcgatat gacggcggta gaggtgaaag gtcggataca ctttgatctg      780
tatcatgtca tcacccttac tattaatctc cccacataca cgttagaagc cgtttatgag      840
gcaatattcg gcaagccgaa agaaaaagtg tacgctgacg aaatcgcgaa ggcattgggag      900
agcggcgaaa acctggagcg cgtagcaaaa tattctatgg aagatgctaa agcgacctac      960
gaattgggga aagaatttct tccaatggaa attcagctga gtcgtttagt cggacaacct     1020
ctgtgggacg tttcacgctc ctcgactggc aatctcgtgg agtggttcct gttgagaaaa     1080
gcctatgaac gaaacgaagt agcaccgaat aaaccaagcg aggaagaata tcagcgtcgc     1140
cttgcgagat cttacacagg tgggtttggt aaggaaccgg agaaaggctt ttgggaaaac     1200
atcgtgtatt tagatttccg tgcgctgtac cccagtatta taatcaccca caatgtctca     1260
cctgacacgc tcaacttggg aggttgcaaa aattatgata ttgctccgca agttggacat     1320
aagttttgta aagatattcc gggcttcacg cgtccctgcg ttggtcactt actggaagag     1380
  
```

ES 2 571 446 T3

```

cgccaaaaaa ttaagaccaa aatgaaagag actcaggatc ccattgaaaa gatcctgctc 1440
gattaccggc aaaaagccat taaattgctt gcaaactcgt tttatgggta ctatggctat 1500
gcgaaggctc gttggtactg caaagaatgt gccgagagcg tgacagcatg gggtcgcaaa 1560
tatatagaat tagtatggaa ggagctggaa gaaaaattcg gattcaaagt cctgtacatc 1620
gatacggatg gcctctatgc gaccattcct ggtggggagt ctgaagaaat caagaaaaaa 1680
gccttggaat tcgttaagta cattaatagt aaattaccgg gactgcttga actggagtat 1740
gaaggcttct acaaaagagg ttttttcggt actaagaaac gatatgccgt aatagatgaa 1800
gaggggaaaag tcatcacacg tggcctcgag attgttcgcc gggactggtc agagatagca 1860
aaggaaacgc aggcgcgcgt gctcgaaacc atcttgaaac atgggtgatgt agaggaagcc 1920
gtccgcattg ttaaagaggt gatccagaag ttagcaaact atgaaattcc accgaaaaaa 1980
ctggcgatat acgagcaaat cactcgtccc ctccacgaat ataaagctat tggacctcat 2040
gtagccgctc cgaagaaact ggctgcaaaa ggcgttaaga taaaaccagg tatggtgatc 2100
gggtacattg tactccgcgg cgacggtccg atttccaata gagccatctt ggcggaggaa 2160
tatgatccta aaaagcataa atacgacgct gaatattaca ttgagaacca ggtcttgccg 2220
gcagttctgc ggatacttga aggatttggc tatcgtaaag aagatctgcg ctatcaaaag 2280
acgcgacagc tgggtctgac tagctggttg aatatcaaaa aatcgtaa 2328

```

<210> 4
 <211> 2337
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia nucleotídica optimizada con codón de Pfu, 9 nt adicional en área 5'

```

<400> 4
atggctagcg ccattctgga tgtggactat atcaccgaag agggcaaacc ggttatacgt 60
ttatttaaga aagagaatgg taaattcaag atcgagcatg accgcacgtt ccgtccatac 120
atttacgctg tgcttcggga tgatagcaaa attgaggaag tcaaaaagat caccggggaa 180
cgtcatggaa aatagtaag aattgtggac gttgaaaaag tcgaaaagaa atttctgggc 240
aaaccgatca ctgtatggaa gctctatctg gaacatcctc aggatgtgcc cacaattcga 300
gaaaaagttc gtgagcacc agccgtcgtg gatataattg aatatgacat cccttttgca 360
aaacgctact taattgataa aggcctgac ccgatggagg ggaagaaga acttaaaatt 420
ctggcttttg acatagaac gctctatcat gagggagaag aatttgcaa aggtcccatc 480
attatgattt cttacgcgga tgagaacgaa gccaaggtaa tcacttgaa aatattgac 540
ctgccgtacg ttgaagtggc cagttcagag cgggaaatga ttaaactgtt tttacgcac 600

```

ES 2 571 446 T3

```

attagagaga aagatccaga tataatcggt acatataacg gcgactcctt cgattttcct      660
tacctggcaa aacgagctga aaaattgggt attaaactta ccatcgggcg tgacggatcg      720
gaaccgaaaa tgcaacgcat tggcgatatg acggcggtag aggtgaaagg tcggatacac      780
tttgatctgt atcatgtcat caccogtact attaactctc ccacatacac gttagaagcc      840
gtttatgagg caatattcgg caagccgaaa gaaaaagtgt acgctgacga aatcgcgaag      900
gcatgggaga gcgggcgaaaa cctggagcgc gtagcaaaat attctatgga agatgctaaa      960
gcgacctacg aattggggaa agaatttctt ccaatggaaa ttcagctgag tcgtttagtc     1020
ggacaacctc tgtgggacgt ttcacgctcc tcgactggca atctcgtgga gtggttctcg     1080
ttgagaaaag cctatgaacg aaacgaagta gcaccgaata aaccaagcga ggaagaatat     1140
cagcgtcgcc ttcgcgagtc ttacacaggt gggtttgta aggaaccgga gaaaggtctt     1200
tgggaaaaca tcgtgtatth agatttccgt gcgctgtacc ccagtattat aatcacccac     1260
aatgtctcac ctgacacgct caacttgaa ggttgcaaaa attatgatat tgctccgcaa     1320
gttggacata agttttgtaa agatattccg ggcttcatcc cgtccctgct tggtcactta     1380
ctggaagagc gccaaaaaat taagacaaa atgaaagaga ctcaggatcc cattgaaaag     1440
atcctgctcg attaccggca aaaagccatt aaattgcttg caaactcgtt ttatgggtac     1500
tatggctatg cgaaggctcg ttggtactgc aaagaatgtg ccgagagcgt gacagcatgg     1560
ggtcgcaaat atatagaatt agtatggaag gagctggaag aaaaattcgg attcaaagtc     1620
ctgtacatcg atacggatgg cctctatgcg accattcctg gtggggagtc tgaagaaatc     1680
aagaaaaaag ccttggaatt cgttaagtac attaaatagta aattaccggg actgcttgaa     1740
ctggagtatg aaggcttcta caaaagaggt tttttcgta ctaagaaacg atatgccgta     1800
atagatgaag aggggaaagt catcacacgt gcctcgaga ttgttcgccg ggactgggtca     1860
gagatagcaa aggaaacgca ggcgcgctg ctcgaaacca tcttgaaca tgggtgatgta     1920
gaggaagccg tccgcattgt taaagaggtg atccagaagt tagcaaaacta tgaaattcca     1980
ccgaaaaaac tggcgatata cgagcaaatc actcgtcccc ttcacgaata taaagctatt     2040
ggacctcatg tagccgtcgc gaagaaactg gctgcaaaag gcgttaagat aaaaccaggt     2100
atggtgatcg ggtacattgt actccgctgc gacggtccga tttccaatag agccatcttg     2160
gcggaggaat atgatcctaa aaagcataaa tacgacgctg aatattacat tgagaaccag     2220
gtcttgccgg cagttctcgg gatacttgaa ggatttggct atcgtaaaga agatctgcgc     2280
tatcaaaaga cgcgacaggt gggctctgact agctgggtga atatcaaaaa atcgtaa     2337

```

<210> 5
 <211> 2325
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 571 446 T3

<220>

<223> Secuencia nucleotídica optimizada con codón de KOD

5

<400> 5

```

atgattctgg ataccgacta taccacggaa gatggcaaac cggtgatacg tatttttaag      60
aaagagaatg gtgagttcaa aatcgagtac gaccgcactt ttgagccata tttctacgcg      120
ttactgaagg acgatagcgc cattgaagaa gttaaaaaaa tcaccgcaga gcggcatggg      180
acagtggtaa ccgatgaagag agttgaaaaa gtccagaaaa aatTTTTTggg acgacctgta      240
gaagtgtgga aactttattt cactcacccc caagatgttc cggctatacg tgataaaatt      300
cgogaacatc cagcggatcat tgatatttac gaatatgata taccttttgc caagcgttac      360
ctcatcgaca aaggcctggt gccgatggaa ggtgatgaag aattaaaat gttggcattc      420
gacattgaaa cactttatca cgagggggaa gagtttgctg aggggtcccat cctgatgatt      480
tcttatgcgg atgaagaggg tgcccgcgta ataacctgga agaacggtga tctcccgta      540
gtggacgtcg ttagtacgga acgggaaatg atcaaactgt tctgctgctg agtgaagag      600
aaagatccag acgtcttaac tacctataat ggtgataact ttgattttgc atacctgaaa      660
aaaagatgag aaaagttggg cataaatttc gctcttggtc gagacgggtc agagcctaaa      720
atccagcgta tgggagatcg ctttgcggtt gaagtgaag gccggattca tttcgacctg      780
tatccggtaa ttcgtcgcac tatcaacctc cccacataca cgttagaagc cgtctatgag      840
gcagtttttg gtcaaccgaa ggaaaagtt tacgctgagg aaattaccac tgcgtgggaa      900
acaggcgaga atctggaacg ttagcccgcc tattctatgg aggatgcaa agttacctat      960
gaattgggta aggaatttct tccaatggag gcgcagctgt cgagattaat agggcagagc     1020
ctgtgggacg tgtctcgaag ttcaacggga aacctcgtcg aatggtttct gttgcggaaa     1080
gcatacgagc gtaatgaact tgcccctaac aaaccgatg aaaaggagct ggcacgccgt     1140
cgccaatcct atgaagcggg ttacgttaaa gaaccagagc gggggttatg ggaaaatata     1200
gtgtatctgg atttccggtc gctctaccgc agcattatca ttaccacaa cgtatctccc     1260
gacactttga atcgcgaggg ctgtaagaa tatgatgtcg cgccgcaggt tggatcataga     1320
ttttgcaagg acttcccggg atttatacca agtctgcttg gcgatttact ggaagagcga     1380
caaaaaatca aaaagaaaat gaaagctaca atcgatccga tagaacgtaa gctgctcgac     1440
tacgccagc gggccatcaa aatTTTggca aactcatatt atggttacta tgggtacgcg     1500
cgtgctcgct ggtattgtaa agagtgcgcc gaatccgta cggcatgggg ccgtaatac     1560
atcaccatga ctattaagga gatagaagag aaatatggtt tcaaagtaat ctactcggat     1620

```

ES 2 571 446 T3

```

acagacggat tctttgcgac gattcccggg gccgatgcag aaaccgtcaa gaaaaaacg 1680
atggaattcc ttaagtatat aatgctaaa ttacctgggtg ccctggagct ggaatacga 1740
gggttttaca aacgcggatt ctttggtact aagaaaaaat atgcgggtgat cgacgaggaa 1800
ggcaagatta cgaccagagg cctcgagatt gtacggcgtg attggagcga aatcgctaaa 1860
gaaacacagg cacgtgtctt ggaggcatta ctgaaagatg gggacgttga aaaggcggtg 1920
cgaattgtaa aagaagtac cgaaaaactt tctaagtacg aagttccgcc agagaaactg 1980
gtgatacacg aacaaatcac tcgtgatctg aaagactata aggctacagg cccgcatgta 2040
gcagtcgcca aacgcctcgc ggctcggggg gttaaaattc gtcccgaac ggtgatcagt 2100
tacattgtat tgaagggctc aggtcgcata ggggatagag caatcccttt cgacgagttt 2160
gatccaacca aacacaaata tgatgccgaa tactatattg aaaaccaggt cttgccggcg 2220
gttgagcgta tactgcgcgc tttcggctat cgaaggaag atcttcgta ccaaaaaact 2280
agacaggtgg gtctgtccgc atggctcaaa cctaagggaa cgtaa 2325

```

```

<210> 6
<211> 2334
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

```

```

<220>
<223> Secuencia nucleotídica optimizada con codón de KOD, 9 nt adicional en área 5'.

```

```

<400> 6
atggctagcg ccattctgga taccgactat atcacggaag atggcaaacc ggtgatacgt 60
atTTTTaaga aagagaatgg tgagttcaaa atcgagtacg accgcacttt tgagccatat 120
ttctacgctg tactgaagga cgatagcgcc attgaagaag ttaaaaaaat caccgcagag 180
cggcatggga cagtggtaac cgtgaagaga gttgaaaaag tccagaaaaa atTTTTgga 240
cgacctglag aagtgtggaa actltatttc actcaccccc aagalgttcc ggctatacgt 300
gataaaattc gcgaacatcc agcggtcatt gatatttacg aatatgatat accttttgcc 360
aagcgttacc tcatcgaca aggcctgggt ccgatggaag gtgatgaaga attaaaaatg 420
ttggcattcg acattgaaac actttatcac gagggggaag agtttgctga ggggccatc 480
ctgatgattt cttatgcgga tgaagagggg gcccgcgtaa taacctggaa gaacgttgat 540
ctcccgtagc tggacgtcgt tagtacggaa cgggaaatga tcaaactgtt cctgcgcgta 600
gtgaaagaga aagatccaga cgtcttaatt acctataatg gtgataactt tgatTTTgca 660
tacctgaaaa aaagatgcga aaagtgggc ataaatttcg ctcttggtcg agacgggtca 720
gagcctaaaa tccagcgtat gggagatcgc tttcgggttg aagtgaaag cggattcat 780

```

ES 2 571 446 T3

```

ttcgacctgt atccgtaat tcgtcgact atcaacctcc ccacatacac gttagaagcc      840
gtctatgagg cagtttttgg tcaaccgaag gaaaaagttt acgctgagga aattaccact      900
gcgtgggaaa caggcgagaa tctggaacgt gtagcccgtt attctatgga ggatgcaaaa      960
gttacctatg aattgggtaa ggaatttctt ccaatggagg cgcagctgtc gagattaata     1020
gggcagagcc tgtgggacgt gtctcgaagt tcaacgggaa acctcgtcga atggtttctg     1080
ttgcggaag  catacgagcg taatgaactt gccctaaca aaccggatga aaaggagctg     1140
gcacgccgtc gccaatccta tgaaggcggg tacgttaaag aaccagagcg ggggttatgg     1200
gaaaatatcg tgtatctgga tttcggttcg ctctaccgga gcattatcat taccacaac     1260
gtatctcccg aactttgaa tcgcgagggc tgtaaagaat atgatgtcgc gccgcagggt     1320
ggtcatagat tttgcaagga cttcccggga tttataccaa gtctgcttgg cgatttactg     1380
gaagagcgac aaaaaatcaa aaagaaaatg aaagclacaa tcgatccgat agaacgtaag     1440
ctgctcgact accgccagcg ggccatcaaa attttgcaa actcatatta tggttactat     1500
gggtacgcgc gtgctcgtg gtattgtaa gagtgcgccg aatccgtgac ggcattggggc     1560
cgtgaataca tcaccatgac tattaaggag atagaagaga aatatggttt caaagtaatc     1620
tactcggata cagacggatt ctttgcgacg attcccgggt ccgatgcaga aaccgtcaag     1680
aaaaaagcga tggaattcct taagtatata aatgctaaat tacctggtgc cctggagctg     1740
gaatacgaag ggttttacia acgcggatcc tttgttacta agaaaaata tgcggtgatc     1800
gacgaggaag gcaagattac gaccagaggc ctcgagattg tacggcgtga ttggagcgaa     1860
atcgctaaag aaacacaggc acgtgtcttg gaggcattac tgaaagatgg ggacgttgaa     1920
aaggcgggtc gaattgtaa agaagtcacc gaaaaacttt ctaagtacga agttccgcca     1980
gagaaactgg tgatacacga acaaatcact cgtgatctga aagactataa ggctacaggc     2040
ccgatgtag  cagtcgcaa acgcctcgcg gctcgggggt taaaattcg tcccggaacg     2100
gtgatcagtt acattgtatt gaagggtca ggtcgcgatg gggatagagc aatccctttc     2160
gacgagtttg atccaaccaa acacaaatat gatgccgaat actatattga aaaccaggtc     2220
ttgccggcgg ttgagcgtat actgcgcgct ttcggctatc gaaaggaaga tcttcgttac     2280
caaaaaacta gacaggtggg tctgtccgca tggctcaaac ctaagggaac gtaa         2334

```

<210> 7

<211> 5017

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> pKB13 - Secuencia nucleotídica optimizada con codón de Pfu en vector pUC19

10 <400> 7

ES 2 571 446 T3

tcgcgcggtt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacgggtca	60
cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg	120
ttggcgggtg tcggggctgg cttactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc	180
accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcagggcgc	240
atcgcgcat caggctgctg aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggcc tcttcgctat	300
tacgccagct ggcgaaagg gtagtgctg caagcggatt aagttgggta acgccagggt	360
ttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggctcagc gccattctgg	420
ataccgacta tatcacgaa gatggcaaac cggtgatacg ttttttaag aaagagaatg	480
gtgagttcaa aatcgagtac gaccgactt ttgagccata tttctacgcg ttactgaagg	540
acgatagcgc cattgaagaa gttaaaaaa tcaccgcaga gcggcatggg acagtggtaa	600
ccgtgaagag agttgaaaa gtccagaaaa aatttttggg acgacctgta gaagtgtgga	660
aactttattt cactcaccoc caagatgttc cggctatacg tgataaaatt cgcgaacatc	720
cagcggcat tgatatttac gaatatgata taccttttgc caagcgttac ctcatcgaca	780
aaggcctggt gccgatggaa ggtgatgaag aattaaat gttggcattc gacattgaaa	840
cactttatca cgagggggaa gagtttctg agggctccat cctgatgatt tcttatgcg	900
atgaagagg tgcccgcgta ataacctgga agaacgttga tctcccgtac gtggacgtcg	960
ttagtacgga acgggaaatg atcaaacgtt tcctgcgcgt agtgaaagag aaagatccag	1020
acgtcttaac tacctataat ggtgataact ttgattttgc atacctgaaa aaaagatgcg	1080
aaaagttggg cataaattc gctcttggtc gagacgggtc agagcctaaa atccagcgt	1140
tgggagatcg ctttgcggtt gaagtgaag gccggattca tttcgacctg tatccggtaa	1200
ttcgtgcac tatcaacctc cccacataca cgttagaagc cgtctatgag gcagttttg	1260
gtcaaccgaa ggaaaaagt tacgctgagg aaattaccac tgcgtgggaa acagcgcgaga	1320
atctggaacg tgtagcccgc tttctatgg aggatgcaaa agttacctat gaattgggta	1380
aggaatttct tccaatggag gcgcagctgt cgagattaat agggcagagc ctgtgggacg	1440
tgtctogaag ttcaacggga aacctcgtcg aatggtttct gttgcgaaa gcatacgagc	1500
gtaatgaact tgcccctaac aaaccgatg aaaaggagct ggcacgccgt cgccaatcct	1560
atgaaggcgg ttacgttaaa gaaccagagc gggggttatg ggaaaatata gtgtatctgg	1620
atctcgttc gctctaccoc agcattatca ttaccacaa cgtatctccc gacactttga	1680
atcgcgaggg ctgtaaagaa tatgatgtcg cccgcaggt tggcataga ttttgaagg	1740
acttcccggg atttatacca agtctgcttg gcgatttact ggaagagcga caaaaaatca	1800

ES 2 571 446 T3

aaaagaaaat gaaagctaca atcgatccga tagaacgtaa gctgctcgac taccgccagc	1860
gggccatcaa aatlttgga aactcatatt atggttacta tgggtacgag cgtgctcgct	1920
ggtattgtaa agagtgcgcc gaatccgtga cggcatgggg ccgtgaatac atcaccatga	1980
ctattaagga gatagaagag aaatatggtt tcaaagtaat ctactcggat acagacggat	2040
tctttgcgac gattcccggg gccgatgcag aaaccgtaa gaaaaaagcg atggaattcc	2100
ttaagtatat aaatgctaaa ttacctggtg ccctggagct ggaatacгаа gggttttaca	2160
aacgcggatt ctttgttact aagaaaaaat atgcggtgat cgacgaggaa ggcaagatta	2220
cgaccagagg cctcgagatt gtacggcgtg attggagcga aatcgctaaa gaaacacagg	2280
cacgtgtcct ggagcatta ctgaaagatg gggacgttga aaaggcggg cgaattgtaa	2340
aagaagtcac cgaaaaactt tctaagtacg aagttccgcc agagaaactg gtgatacacg	2400
aacaaatcac tcgtgatctg aaagactata aggctacagg cccgatgta gcagtcgcca	2460
aacgcctcgc ggctcggggg gttaaaattc gtcccgaac ggtgatcagt tacattgtat	2520
tgaagggctc aggtcgcata ggggatagag caatccctt cgacgagttt gatccaacca	2580
aacacaaata tgatccgaa tactatattg aaaaccaggt cttgccggcg gttgagcgta	2640
tactgcgcg tttcggctat cgaaaggaag atcttcgtta ccaaaaaact agacaggtgg	2700
gtctgtccgc atggctcaaa cctaagggaa cgtaatgata tgagaccgga tcctctagag	2760
tcgacctgca ggcatgcaag cttggcgtaa tcatggatcat agctgtttcc tgtgtgaaat	2820
tgttatccgc tcacaattcc acacaacata cgagccgaa gcataaagtг taaagcctgg	2880
ggtgcctaат gagtgagcta actcacatta attgcgttgc gctcactgcc cgctttccag	2940
tcgggaaacc tgctgtgcca gctgcattaa tgaatcgccc aacgcgcggg gagagcggg	3000
ttcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg	3060
ctgcggcgag cggatcagc tcaactcaaag gcgtaatac ggttatccac agaatcaggg	3120
gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggcagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag	3180
gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga	3240
cgctcaagtc agaggtggcg aaaccgcaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct	3300
ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgcgc ttaccggata cctgtccgcc	3360
ttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg	3420
gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gccgcaccgc	3480
tgcgcttat ccgtaacta tcgtcttgag tccaaccgg taagacacga cttatcgcca	3540
ctggcagcag ccaactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag	3600
ttcttgaagt ggtgcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct	3660

ES 2 571 446 T3

```

ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc 3720
accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga 3780
tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctcgacg ctcagtggaa cgaaaactca 3840
cgtaagggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat 3900
taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac 3960
caatgcttaa tcagtgaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt 4020
gcctgactcc ccgtcgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt 4080
gctgcaatga taccgcgaga cccacgctca ccggctccag atttatcagc aataaaccag 4140
ccagccggaa gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagtct 4200
attaattggt gccggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacggt 4260
gttgccattg ctacaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc 4320
tccggttccc aacgatcaag gcgagttaca tgatccccca tgttgtgcaa aaaagcgggt 4380
agctccttcg gtcctccgat cgttgtcaga agtaagttgg ccgcagtgtt atcactcatg 4440
gttatggcag cactgcataa ttctcttact gtcatgccat ccgtaagatg cttttctgtg 4500
actggtgagt actcaaccaa gtcattctga gaatagtgtg tgccggcgacc gagttgctct 4560
tgcccggcgt caatacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaa agtgctcatc 4620
attgaaaac gttcttcggg gcgaaaactc tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt 4680
tcgatgtaac cactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt 4740
tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaaat gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg 4800
aaatgttgaa tactcatact cttccttttt caatattatt gaagcattta tcagggttat 4860
tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg 4920
cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta 4980
acctataaaa ataggcgtat cacgaggccc tttcgtc 5017

```

<210> 8

<211> 5017

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> pKB8 - Secuencia nucleotídica optimizada con codón de KOD en vector pUC19

10 <400> 8

```
tcgcgcgttt cgggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacgggtca 60
```

```
cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccc tcagggcgcg tcagcgggtg 120
```

ES 2 571 446 T3

ttggcgggtg tccgggctgg cttactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc	180
accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc	240
attcgccatt caggctgcmc aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggcc tcttcgctat	300
tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt	360
tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggctctcagc gccattctgg	420
ataccgacta tatcacggaa gatggcaaac cggtgatacg tatttttaag aaagagaatg	480
gtgagttcaa aatcgagtac gaccgcactt ttgagccata tttctacgcm ttactgaagg	540
acgatagcmc cattgaagaa gttaaaaaaa tcaccgcaga gcggcatggg acagtggtaa	600
ccgtgaagag agttgaaaaa gtccagaaaa aatttttggg acgacctgta gaagtgtgga	660
aactttatct cactcaccoc caagatgttc cggctatacm tgataaaatt cgcgaacatc	720
cagcggctcat tgatatttac gaatatgata taccttttgc caagcgttac ctcatcgaca	780
aaggcctggt gccgatggaa ggtgatgaag aattaaaat gttggcattc gacattgaaa	840
cactttatca cgagggggaa gagtttgcctg agggctccat cctgatgatt tcttatgcmg	900
atgaagaggg tgcccgcgta ataacctgga agaacgttga tctcccgtac gtggacgtcm	960
ttagtacgga acgggaaatg atcaaacgtt tcctgcmcmg agtgaaagag aaagatccag	1020
acgtcttaat tacctataat ggtgataact ttgatcttgc atacctgaaa aaaagatgcm	1080
aaaagttggg cataaatttc gctcttgctc gagacgggct agagcctaaa atccagcmga	1140
tgggagatcm ctttgcggtt gaagtgaag gccggattca tttcgcactg tatccggtaa	1200
ttcgtcmcm tatcaacctc cccacataca cgttagaagc cgtctatgag gcagttttg	1260
gtcaaccgaa ggaaaaagtt tacgctgagg aaattaccac tgcgtgggaa acaggcmgaga	1320
atctggaacg tgtagcccmg tattctatgg aggatgcaaa agttacctat gaattgggta	1380
aggaatttct tccaatggag gcmcmcmgtc cgagattaat agggcmcmcm ctgtgggacg	1440
tgtctcgaag ttcaacggga aacctcmcmg aatggtttct gttgcmgaaa gcatacmcm	1500
gtaatgaact tgcccctaac aaaccmgatg aaaaggagct ggcaccmcmg cmccaatcct	1560
atgaagggcm ttacgttaaa gaaccagagc gggggttatg ggaaaaatc gtgtatctgg	1620
atttcmgtc gctctacccm agcattatca ttaccacaaa cmgtatctcc gacactttga	1680
atcmcmgggg ctgtaaagaa tatgatgcmg cmcmcmcmgt tggatcataga ttttgcaagg	1740
acttcccggg atttatacca agtctcmgtg gcmgtttact ggaagagcmg caaaaaatca	1800
aaaagaaaat gaaagctaca atcmatccga tagaacgtaa gctgctcmgac taccmcmcm	1860
gggcatcaa aattttggca aactcatatt atggttacta tgggtacmcm cmgtctcmgt	1920
ggtattgtaa agagtcmcmg gaatccmgtga cmcmcmcmgg cmgtgaatac atccatgta	1980

ES 2 571 446 T3

ctattaagga gatagaagag aaatatggtt tcaaagtaat ctactcggat acagacggat	2040
tctttgcgac gattcccggt gccgatgcag aaaccgtcaa gaaaaaagcg atggaattcc	2100
ttaagtatat aaatgctaaa ttacctgggtg cctcggagct ggaatacgaa gggttttaca	2160
aacgcggatt ctttgttact aagaaaaaat atgcggtgat cgacgaggaa ggcaagatta	2220
cgaccagagg cctcgagatt gtacggcgtg attggagcga aatcgctaaa gaaacacagg	2280
cacgtgtctt ggaggcatta ctgaaagatg gggacgttga aaaggcggtg cgaattgtaa	2340
aagaagtcac cgaaaaactt tctaagtacg aagttccgcc agagaaactg gtgatacacg	2400
aacaaatcac tcgtgatctg aaagactata aggctacagg cccgcatgta gcagtcgcca	2460
aacgcctcgc ggctcggggg gttaaaattc gtcccggaac ggtgatcagt tacattgtat	2520
tgaagggctc aggtcgcata ggggatagag caatcccttt cgacgagttt gatccaacca	2580
aacacaaata tgatgccgaa tactatattg aaaaccaggt cttgccggcg gttgagcgta	2640
tactgcgcg tttcggctat cgaaaggaag atcttcgtta ccaaaaaact agacaggtgg	2700
gtctgtccgc atggctcaaa cctaaggga cgtaatgata tgagaccgga tcctctagag	2760
tcgacctgca ggcatgcaag cttggcgtaa tcatggatc atgctgtttcc tgtgtgaaat	2820
tgttatccgc tcacaattcc acacaacata cgagccggaa gcataaagt taaagcctgg	2880
ggtgccta at gagtgagcta actcacatta attgcggttc gctcactgcc cgctttccag	2940
tcgggaaacc tgtcgtgcca gctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcgg	3000
ttgcgatttg ggcgctcttc cgcttcctcg ctcactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg	3060
ctgcggcgag cggatcagc tcaactcaaag gcggaatac ggttatccac agaatcaggg	3120
gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag	3180
gccgcggttc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga	3240
cgctcaagtc agaggtgcg aaaccgcaca ggactataaa gataccaggc gtttcccct	3300
ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc	3360
tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg	3420
gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc	3480
tgcgcttat ccggtaacta tcgtcttgag tccaaccgg taagacacga cttatcgcca	3540
ctggcagcag cactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag	3600
ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctcgct	3660
ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc	3720
accgctggta gcggtggttt tttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga	3780

ES 2 571 446 T3

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctcgacg ctcaagtggaa cgaaaactca 3840
 cgttaagga ttttggatcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat 3900
 taaaaatgaa gtttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac 3960
 caatgcttaa tcagtgaaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt 4020
 gcctgactcc cgcctgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt 4080
 gctgcaatga taccgcgaga cccacgctca ccggtccag atttatcagc aataaaccag 4140
 ccagccggaa gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagtct 4200
 attaattggt gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacggt 4260
 gttgccattg ctacaggcat cgtgggtgta cgctcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc 4320
 tccggttccc aacgatcaag gcgagttaca tgatccccc tgttgtgcaa aaaagcggtt 4380
 agctccttcg gtcctccgat cgttgcaga agtaagttgg ccgcagtgtt atcactcatg 4440
 gttatggcag cactgcataa ttctcttact gtcattgcat ccgtaagatg cttttctgtg 4500
 actggtgagt actcaaccaa gtcattctga gaatagtgta tgccggcgacc gagttgctct 4560
 tgcccggcgt caatacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaa agtgctcatc 4620
 attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt 4680
 tcgatgtaac cactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt 4740
 tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaat gccgcaaaa agggaataag ggcgacacgg 4800
 aatggtgaa tactcact cttcctttt caatattatt gaagcattta tcagggttat 4860
 tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg 4920
 cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta 4980
 acctataaaa ataggcgtat cacgaggccc tttcgtc 5017

<210> 9

<211> 775

<212> PRT

<213> Pyrococcus furiosus

5

<400> 9

Met Ile Leu Asp Val Asp Tyr Ile Thr Glu Glu Gly Lys Pro Val Ile
 1 5 10 15

Arg Leu Phe Lys Lys Glu Asn Gly Lys Phe Lys Ile Glu His Asp Arg
 20 25 30

Thr Phe Arg Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Arg Asp Asp Ser Lys Ile
 35 40 45

ES 2 571 446 T3

Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Gly Glu Arg His Gly Lys Ile Val Arg
 50 55 60

Ile Val Asp Val Glu Lys Val Glu Lys Lys Phe Leu Gly Lys Pro Ile
 65 70 75 80

Thr Val Trp Lys Leu Tyr Leu Glu His Pro Gln Asp Val Pro Thr Ile
 85 90 95

Arg Glu Lys Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Phe Glu Tyr
 100 105 110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro
 115 120 125

Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile Ile Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile Lys
 180 185 190

Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile Ile Val Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys Arg Ala Glu
 210 215 220

Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys
 225 230 235 240

Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile
 245 250 255

His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr
 260 265 270

Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys Glu
 275 280 285

ES 2 571 446 T3

Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser Gly Glu Asn
 290 295 300

Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr Tyr
 305 310 315 320

Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu
 340 345 350

Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Val Ala
 355 360 365

Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu Arg Glu Ser
 370 375 380

Tyr Thr Gly Gly Phe Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu Trp Glu Asn
 385 390 395 400

Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr
 405 410 415

His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Leu Glu Gly Cys Lys Asn Tyr
 420 425 430

Asp Ile Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp Ile Pro Gly
 435 440 445

Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly His Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Ile
 450 455 460

Lys Thr Lys Met Lys Glu Thr Gln Asp Pro Ile Glu Lys Ile Leu Leu
 465 470 475 480

Asp Tyr Arg Gln Lys Ala Ile Lys Leu Leu Ala Asn Ser Phe Tyr Gly
 485 490 495

Tyr Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu
 500 505 510

Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Lys Tyr Ile Glu Leu Val Trp Lys Glu
 515 520 525

Leu Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ile Asp Thr Asp Gly

ES 2 571 446 T3

530	535	540
Leu Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Gly Glu Ser Glu Glu Ile Lys Lys Lys 545	550	555
Ala Leu Glu Phe Val Lys Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro Gly Leu Leu 565	570	575
Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys 580	585	590
Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Val Ile Thr Arg Gly 595	600	605
Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln 610	615	620
Ala Arg Val Leu Glu Thr Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu Glu Ala 625	630	635
Val Arg Ile Val Lys Glu Val Ile Gln Lys Leu Ala Asn Tyr Glu Ile 645	650	655
Pro Pro Glu Lys Leu Ala Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Pro Leu His 660	665	670
Glu Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Lys Leu Ala 675	680	685
Ala Lys Gly Val Lys Ile Lys Pro Gly Met Val Ile Gly Tyr Ile Val 690	695	700
Leu Arg Gly Asp Gly Pro Ile Ser Asn Arg Ala Ile Leu Ala Glu Glu 705	710	715
Tyr Asp Pro Lys Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn 725	730	735
Gln Val Leu Pro Ala Val Leu Arg Ile Leu Glu Gly Phe Gly Tyr Arg 740	745	750
Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu Thr Ser 755	760	765
Trp Leu Asn Ile Lys Lys Ser 770	775	

<210> 10

<211> 778

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

ES 2 571 446 T3

<220>

<223> Secuencia aminoacídica Pfu, 3 aa adicionales en área 5'.

5

<400> 10

```

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Val Asp Tyr Ile Thr Glu Glu Gly Lys
 1          5          10          15

Pro Val Ile Arg Leu Phe Lys Lys Glu Asn Gly Lys Phe Lys Ile Glu
          20          25          30

His Asp Arg Thr Phe Arg Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Arg Asp Asp
          35          40          45

Ser Lys Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Gly Glu Arg His Gly Lys
 50          55          60

Ile Val Arg Ile Val Asp Val Glu Lys Val Glu Lys Lys Phe Leu Gly
65          70          75          80

Lys Pro Ile Thr Val Trp Lys Leu Tyr Leu Glu His Pro Gln Asp Val
          85          90          95

Pro Thr Ile Arg Glu Lys Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile
          100          105          110

Phe Glu Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly
          115          120          125

Leu Ile Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp
130          135          140

Ile Glu Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile
145          150          155

Ile Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp
          165          170          175

Lys Asn Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu
          180          185          190

Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile

```

ES 2 571 446 T3

	195	200	205
Ile Val Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys	210	215	220
Arg Ala Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser	225	230	235
Glu Pro Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys		245	250
Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn			260
		265	270
Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys	275	280	285
Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser	290	295	300
Gly Glu Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys	305	310	315
Ala Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu		325	330
			335
Ser Arg Leu Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr		340	345
			350
Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn	355	360	365
Glu Val Ala Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu	370	375	380
Arg Glu Ser Tyr Thr Gly Gly Phe Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu	385	390	395
			400
Trp Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ala Leu Tyr Pro Ser Ile		405	410
			415
Ile Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Leu Glu Gly Cys		420	425
			430
Lys Asn Tyr Asp Ile Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp	435	440	445

ES 2 571 446 T3

Ile Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly His Leu Leu Glu Glu Arg
450 455 460

Gln Lys Ile Lys Thr Lys Met Lys Glu Thr Gln Asp Pro Ile Glu Lys
465 470 475 480

Ile Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Lys Ala Ile Lys Leu Leu Ala Asn Ser
485 490 495

Phe Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu
500 505 510

Cys Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Lys Tyr Ile Glu Leu Val
515 520 525

Trp Lys Glu Leu Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ile Asp
530 535 540

Thr Asp Gly Leu Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Gly Glu Ser Glu Glu Ile
545 550 555 560

Lys Lys Lys Ala Leu Glu Phe Val Lys Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro
565 570 575

Gly Leu Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe
580 585 590

Val Thr Lys Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Val Ile
595 600 605

Thr Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys
610 615 620

Glu Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Thr Ile Leu Lys His Gly Asp Val
625 630 635 640

Glu Glu Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Ile Gln Lys Leu Ala Asn
645 650 655

Tyr Glu Ile Pro Pro Glu Lys Leu Ala Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg
660 665 670

Pro Leu His Glu Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys
675 680 685

ES 2 571 446 T3

Lys Leu Ala Ala Lys Gly Val Lys Ile Lys Pro Gly Met Val Ile Gly
690 695 700

Tyr Ile Val Leu Arg Gly Asp Gly Pro Ile Ser Asn Arg Ala Ile Leu
705 710 715 720

Ala Glu Glu Tyr Asp Pro Lys Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr
725 730 735

Ile Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Leu Arg Ile Leu Glu Gly Phe
740 745 750

Gly Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly
755 760 765

Leu Thr Ser Trp Leu Asn Ile Lys Lys Ser
770 775

<210> 11

<211> 774

<212> PRT

<213> Thermococcus sp.

5

<400> 11

Met Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile
1 5 10 15

Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu Tyr Asp Arg
20 25 30

Thr Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
35 40 45

Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Val Val Thr
50 55 60

Val Lys Arg Val Glu Lys Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Val
65 70 75 80

Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
85 90 95

Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Pro Ala Val Ile Asp Ile Tyr Glu Tyr
100 105 110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Val Pro

ES 2 571 446 T3

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

ES 2 571 446 T3

Pro Asn Lys Pro Asp Glu Lys Glu Leu Ala Arg Arg Arg Gln Ser Tyr
 370 375 380

Glu Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Glu Asn Ile
 385 390 395 400

Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His
 405 410 415

Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys Lys Glu Tyr Asp
 420 425 430

Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe
 435 440 445

Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Ile Lys
 450 455 460

Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Arg Lys Leu Leu Asp
 465 470 475 480

Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Tyr Tyr Gly Tyr
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Ala Arg Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser
 500 505 510

Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Thr Met Thr Ile Lys Glu Ile
 515 520 525

Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Lys Val Ile Tyr Ser Asp Thr Asp Gly Phe
 530 535 540

Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala
 545 550 555 560

Met Glu Phe Leu Lys Tyr Ile Asn Ala Lys Leu Pro Gly Ala Leu Glu
 565 570 575

Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys
 580 585 590

Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu
 595 600 605

ES 2 571 446 T3

Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala
610 615 620

Arg Val Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asp Gly Asp Val Glu Lys Ala Val
625 630 635 640

Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Val Pro
645 650 655

Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Lys Asp
660 665 670

Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala
675 680 685

Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
690 695 700

Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe
705 710 715 720

Asp Pro Thr Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln
725 730 735

Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys
740 745 750

Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu Ser Ala Trp
755 760 765

Leu Lys Pro Lys Gly Thr
770

<210> 12

<211> 777

<212> PRT

5

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia aminoacídica KOD, 3 aa adicionales en área 5'.

10

<400> 12

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys
1 5 10 15

Pro Val Ile Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu
20 25 30

ES 2 571 446 T3

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

ES 2 571 446 T3

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

ES 2 571 446 T3

Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Thr Met Thr Ile
515 520 525

Lys Glu Ile Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Lys Val Ile Tyr Ser Asp Thr
530 535 540

Asp Gly Phe Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys
545 550 555 560

Lys Lys Ala Met Glu Phe Leu Lys Tyr Ile Asn Ala Lys Leu Pro Gly
565 570 575

Ala Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val
580 585 590

Thr Lys Lys Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr
595 600 605

Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu
610 615 620

Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asp Gly Asp Val Glu
625 630 635 640

Lys Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr
645 650 655

Glu Val Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp
660 665 670

Leu Lys Asp Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg
675 680 685

Leu Ala Ala Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr
690 695 700

Ile Val Leu Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe
705 710 715 720

Asp Glu Phe Asp Pro Thr Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile
725 730 735

Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly
740 745 750

Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu

ES 2 571 446 T3

	755	760	765
	Ser Ala Trp Leu Lys Pro Lys Gly Thr		
	770	775	
	<210> 13		
	<211> 2334		
	<212> ADN		
5	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia nucleotídica optimizada con codón Pod		
10	<400> 13		
	atggctagcg ccattctgga tgtggactat atcaccgaag agggcaaacc ggttatacgt		60
	ttatttaaga aagagaatgg taaattcaag atcgagcatg accgcacgtt ccgtccatac		120
	atttacgcgt tgcttcggga tgatagcaaa attgaggaag tcaaaaagat caccggggaa		180
	cgtcatggaa aaatagtaag aattgtggac gttgaaaaag tcgaaaagaa atttctgggc		240
	aaaccgatca ctgtatggaa gctctatctg gaacatcctc aggatgtgcc cacaattcga		300
	gaaaaagttc gtgagcacc agccgtcgtg gatataattg aatatgacat cccttttgca		360
	aaacgctact taattgataa aggcctgac ccgatggagg ggaagaaga acttaaaatt		420
	ctggcttttg acatagaaac gctctatcat gagggagaag aatttgcaa aggtcccatc		480
	attatgattt cttacgcgga tgagaacgaa gccaaggtaa tcaacttgaa aaatattgac		540
	ctgccgtacg ttgaagtggc cagttcagag cgggaaatga ttaaactgtt tttacgcac		600
	attagagaga aagatccaga tataatcgtt acatataacg gcgactcctt cgattttctt		660
	tacctggcaa aacgagctga aaaattgggt attaaactta ccatcgggag tgacggatcg		720
	gaaccgaaaa tgcaacgcat tggcgatatg acggcggtag aggtgaaagg tcggatacac		780
	tttgatctgt atcatgtcat caccgctact attaatctcc ccacatacac gttagaagcc		840
	gtttatgagg caatattcgg caagccgaaa gaaaaagtgt acgctgacga aatcgcgaag		900
	gcatgggaga gcggcgaaaa cctggagcgc gttagcaaat attctatgga agatgctaaa		960
	gcgacctacg aattggggaa agaatttctt ccaatggaaa ttcagctgtc gagattaata		1020
	gggcagagcc tgtgggacgt gtctcgaagt tcaacgggaa acctcgtcga atggtttctg		1080
	ttgcggaaag catacgagcg taatgaactt gccctaaca aaccgatga aaaggagctg		1140
	gcacgccgtc gccaatccta tgaaggcggc tacgttaaag aaccagagcg ggggttatgg		1200
	gaaaatatcg tgtatctgga tttccgttcg ctctaccga gcattatcat taccacaac		1260
	gtatctccc acactttgaa tcgcgagggc tgtaaagaat atgatgtcgc gccgcagggt		1320
	ggcatagat tttgcaagga cttcccggga ttataccaa gtctgcttgg cgatttactg		1380

ES 2 571 446 T3

```

gaagagcgc aaaaaatcaa aaagaaaatg aaagctacaa tcgatccgat agaacgtaag      1440
ctgctcgact accgccagcg ggccatcaaa attttggcaa actcatatta tggttactat      1500
gggtacgcgc gtgctcgctg gtattgtaaa gagtgcgccg aatccgtgac ggcatggggc      1560
cgtgaataca tcacatgac tattaaggag atagaagaga aatatggttt caaagtaatc      1620
tactcggata cagacggatt ctttgcgacg attcccggtg ccgatgcaga aaccgtcaag      1680
aaaaaagcga tggaaatcgt taagtacatt aatagtaaat taccgggact gcttgaactg      1740
gagtatgaag gcttctacaa aagaggtttt ttcgttacta agaaacgata tgccgtaata      1800
gatgaagagg ggaaagtcat cacacgtggc ctcgagattg ttcgccggga ctggtcagag      1860
atagcaaagg aaacgcaggc gcgcgtgctc gaaacatct tgaacatgg tgatgtagag      1920
gaagccgtcc gcattgttaa agagtgatc cagaagttag caaactatga aattccaccg      1980
gaaaaactgg cgatatacga gcaaatcact cgtccccttc acgaatataa agctattgga      2040
cctcatgtag ccgtcgcgaa gaaactggct gcaaaaggcg ttaagataaa accaggtatg      2100
gtgatcgggt acattgtact ccgcggcgac ggtccgattt ccaatagagc catcttgcg      2160
gaggaatatg atcctaaaaa gcataaatac gacgctgaat attacattga gaaccaggtc      2220
ttgccggcag ttctgcggat acttgaagga tttggctatc gtaaagaaga tctgcgctat      2280
caaaagacgc gacaggtggg tctgactagc tggttgaata tcaaaaaatc gtaa      2334

```

<210> 14

<211> 2337

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia nucleotídica optimizada con codón Kofu

10

<400> 14

```

atggctagcg ccattctgga taccgactat atcacggaag atggcaaacc ggtgatacgt      60
atthttaaga aagagaatgg tgagttcaaa atcgagtacg accgcacttt tgagccatat      120
ttctacgcgt tactgaagga cgatagcgcc attgaagaag ttaaaaaaat caccgcagag      180
cggcatggga cagtggtaac cgtgaagaga gttgaaaaag tccagaaaaa atthttggga      240
cgacctgtag aagtgtggaa actttatttc actcaccccc aagatgttcc ggctatacgt      300
gataaaattc gcgaacatcc agcggtcatt gatatttacg aatatgatat accttttgcc      360
aagcgttacc tcatcgacaa aggcctggtg ccgatggaag gtgatgaaga attaaaaatg      420
ttggcattcg acattgaaac actttatcac gagggggaag agtttgctga gggctccatc      480
ctgatgattt cttatgcgga tgaagagggt gcccgcgtaa taacctggaa gaacgttgat      540

```

ES 2 571 446 T3

ctcccgtacg tggacgtcgt tagtacggaa cgggaaatga tcaaacgttt cctgcgcgta 600
 gtgaaagaga aagatccaga cgtcttaatt acctataatg gtgataactt tgattttgca 660
 tacctgaaaa aaagatgcga aaagtgggc ataaatttcg ctcttggtcg agacgggtca 720
 gagcctaaaa tccagcgtat gggagatcgc tttgcggttg aagtgaaagg ccggattcat 780
 ttcgacctgt atccggtaat tcgtcgcact atcaacctcc ccacatacac gttagaagcc 840
 gtctatgagg cagtttttg tcaaccgaag gaaaaagttt acgctgagga aattaccact 900
 gcgtgggaaa caggcgagaa tctggaacgt gtagcccgtt attctatgga ggatgcaaaa 960
 gttacctatg aattgggtaa ggaatttctt ccaatggagg cgcagctgag tcgtttagtc 1020
 ggacaacctc tgtgggacgt ttcacgctcc tcgactggca atctcgtgga gtggttctcg 1080
 ttgagaaaag cctatgaacg aaacgaagta gcaccgaata aaccaagcga ggaagaatat 1140
 cagcgtcgcc ttcgcgagtc ttacacaggt gggtttgta aggaaccgga gaaaggtctt 1200
 tgggaaaaca tcgtgtattt agatttccgt gcgctgtacc ccagtattat aatcaccac 1260
 aatgtctcac ctgacacgct caactggaa ggttgcaaaa attatgatat tgctccgcaa 1320
 gttggacata agttttgtaa agatattccg ggcttcatcc cgtccctgct tggcactta 1380
 ctggaagagc gccaaaaaat taagaccaa atgaaagaga ctgaggatcc cattgaaaag 1440
 atcctgctcg attaccggca aaaagccatt aaattgcttg caaactcgtt ttatgggtac 1500
 tatggctatg cgaaggctcg ttgtactgc aaagaatgtg ccgagagcgt gacagcatgg 1560
 ggtcgcaaat atatagaatt agtatggaag gagctggaag aaaaattcgg attcaaagtc 1620
 ctgtacatcg atacggatgg cctctatgcg accattcctg gtggggagtc tgaagaaatc 1680
 aagaaaaaag ccttgaatt ccttaagtat ataaatgcta aattacctgg tgccctggag 1740
 ctggaatacg aagggtttta caaacgcgga ttctttgta ctaagaaaa atatgcccgtg 1800
 atcgacgagg aaggcaagat tacgaccaga ggctcggaga ttgtacggcg tgattggagc 1860
 gaaatcgcta aagaaacaca ggcacgtgtc ttggaggcat tactgaaaga tggggacgtt 1920
 gaaaaggcgg tgcaattgt aaaagaagtc accgaaaaac tttctaagta cgaagtccg 1980
 ccagagaaac tggatgata cgaacaaatc actcgtgatc tgaaagacta taaggctaca 2040
 ggcccgcatg tagcagtcgc caaacgcctc gcggctcggg gtgttaaaat tcgtcccgga 2100
 acggtgatca gttacattgt attgaagggc tcaggtcgca taggggatag agcaatccct 2160
 ttcgacgagt ttgatccaac caaacacaaa tatgatgccg aatactatat tgaaaaccag 2220
 gtcttgccgg cggttgagcg tatactgcbc gctttcggct atcgaaagga agatcttcgt 2280
 taccaaaaaa ctagacaggt gggctctgccc gcatggctca aacctaaggg aacgtaa 2337
 <210> 15
 <211> 777
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 571 446 T3

<220>

<223> Secuencia aminoacídica Pod

5

<400> 15

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Val Asp Tyr Ile Thr Glu Glu Gly Lys
1 5 10 15

Pro Val Ile Arg Leu Phe Lys Lys Glu Asn Gly Lys Phe Lys Ile Glu
20 25 30

His Asp Arg Thr Phe Arg Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Arg Asp Asp
35 40 45

Ser Lys Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Gly Glu Arg His Gly Lys
50 55 60

Ile Val Arg Ile Val Asp Val Glu Lys Val Glu Lys Lys Phe Leu Gly
65 70 75 80

Lys Pro Ile Thr Val Trp Lys Leu Tyr Leu Glu His Pro Gln Asp Val
85 90 95

Pro Thr Ile Arg Glu Lys Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile
100 105 110

Phe Glu Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly
115 120 125

Leu Ile Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp
130 135 140

Ile Glu Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile
145 150 155 160

Ile Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp
165 170 175

Lys Asn Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu
180 185 190

Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile
195 200 205

ES 2 571 446 T3

Ile Val Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys
 210 215 220

Arg Ala Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser
 225 230 235 240

Glu Pro Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys
 245 250 255

Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn
 260 265 270

Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys
 275 280 285

Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser
 290 295 300

Gly Glu Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys
 305 310 315 320

Ala Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu
 325 330 335

Ser Arg Leu Ile Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr
 340 345 350

Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn
 355 360 365

Glu Leu Ala Pro Asn Lys Pro Asp Glu Lys Glu Leu Ala Arg Arg Arg
 370 375 380

Gln Ser Tyr Glu Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp
 385 390 395 400

Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile
 405 410 415

Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys Lys
 420 425 430

Glu Tyr Asp Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp Phe
 435 440 445

ES 2 571 446 T3

Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln
450 455 460

Lys Ile Lys Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Arg Lys
465 470 475 480

Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Tyr
485 490 495

Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Arg Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys
500 505 510

Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Thr Met Thr Ile
515 520 525

Lys Glu Ile Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Lys Val Ile Tyr Ser Asp Thr
530 535 540

Asp Gly Phe Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys
545 550 555 560

Lys Lys Ala Met Glu Phe Val Lys Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro Gly
565 570 575

Leu Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val
580 585 590

Thr Lys Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Val Ile Thr
595 600 605

Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu
610 615 620

Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Thr Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu
625 630 635 640

Glu Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Ile Gln Lys Leu Ala Asn Tyr
645 650 655

Glu Ile Pro Pro Glu Lys Leu Ala Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Pro
660 665 670

Leu His Glu Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Lys
675 680 685

Leu Ala Ala Lys Gly Val Lys Ile Lys Pro Gly Met Val Ile Gly Tyr

ES 2 571 446 T3

690 695 700

Ile Val Leu Arg Gly Asp Gly Pro Ile Ser Asn Arg Ala Ile Leu Ala
705 710 715 720

Glu Glu Tyr Asp Pro Lys Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile
725 730 735

Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Leu Arg Ile Leu Glu Gly Phe Gly
740 745 750

Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu
755 760 765

Thr Ser Trp Leu Asn Ile Lys Lys Ser
770 775

<210> 16

<211> 778

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia aminoacídica Kofu

10 <400> 16

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys
1 5 10 15

Pro Val Ile Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu
20 25 30

Tyr Asp Arg Thr Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp
35 40 45

Ser Ala Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr
50 55 60

Val Val Thr Val Lys Arg Val Glu Lys Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly
65 70 75 80

Arg Pro Val Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val
85 90 95

Pro Ala Ile Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Pro Ala Val Ile Asp Ile
100 105 110

ES 2 571 446 T3

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

ES 2 571 446 T3

355	360	365
Glu Val Ala Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu 370 375 380		
Arg Glu Ser Tyr Thr Gly Gly Phe Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu 385 390 400		
Trp Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ala Leu Tyr Pro Ser Ile 405 410 415		
Ile Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Leu Glu Gly Cys 420 425 430		
Lys Asn Tyr Asp Ile Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp 435 440 445		
Ile Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly His Leu Leu Glu Glu Arg 450 455 460		
Gln Lys Ile Lys Thr Lys Met Lys Glu Thr Gln Asp Pro Ile Glu Lys 465 470 475 480		
Ile Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Lys Ala Ile Lys Leu Leu Ala Asn Ser 485 490 495		
Phe Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu 500 505 510		
Cys Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Lys Tyr Ile Glu Leu Val 515 520 525		
Trp Lys Glu Leu Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ile Asp 530 535 540		
Thr Asp Gly Leu Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Gly Glu Ser Glu Glu Ile 545 550 555 560		
Lys Lys Lys Ala Leu Glu Phe Leu Lys Tyr Ile Asn Ala Lys Leu Pro 565 570 575		
Gly Ala Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe 580 585 590		
Val Thr Lys Lys Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr 595 600 605		

ES 2 571 446 T3

Thr Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys
610 615 620

Glu Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asp Gly Asp Val
625 630 635 640

Glu Lys Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys
645 650 655

Tyr Glu Val Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg
660 665 670

Asp Leu Lys Asp Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys
675 680 685

Arg Leu Ala Ala Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser
690 695 700

Tyr Ile Val Leu Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro
705 710 715 720

Phe Asp Glu Phe Asp Pro Thr Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr
725 730 735

Ile Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe
740 745 750

Gly Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly
755 760 765

Leu Ser Ala Trp Leu Lys Pro Lys Gly Thr
770 775

<210> 17

<211> 3778

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> pLACIQZa

10

<400> 17

tcgcgcgttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacgggtca 60

cagcttgctct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg 120

ttggcgggtg tcggggctgg cttactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180

ES 2 571 446 T3

accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc	240
atcggcatt caggctgcbc aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggccc tcttcgctat	300
tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caagggcatt aagtgggta acgccagggc	360
tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cgagctcggc acccggggat	420
cctctagagc cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgtgt gaaattgta tccgctcaca	480
attccacaca acatacagc cggaagcata aagtgtaaag cctggggcgc ctaatgagtg	540
agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgcccgctt tccagtcggg aaacctgctg	600
tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag gcggtttgctg tattggcgcc	660
cagggctggt tttcttttca ccagtgcgac gggcaacagc tgattgccct tcaccgctg	720
gcctgcagag agttgcagca agcggctcac gctgggttgc cccagcaggc gaaaatcctg	780
tttgatggtg gttgacggcg ggatataaca tgagctgtct tcggtatcgt cgtatcccac	840
taccgagata tccgcaccaa cgcgcagccc ggactcggta atggcgcgca ttgcccag	900
cgccatctga tcgttgcaa ccagcatcgc agtgggaacg atgccctcat tcagcatttg	960
catggtttgt tgaaaaccg acatggcact ccagtcgctt tcccgttcg ctatcgctg	1020
aatttgattg cgagtgagat atttatgcca gccagccaga cgcagacgcg ccgagacaga	1080
acttaatggg cccgctaaca gcgcgatttg ctggtgacc aatgcgacca gatgctccac	1140
gcccagtcgc gtaccgtctt catgggagaa aataaactg ttgatgggtg tctggtcaga	1200
gacatcaaga aataacgccc gaacattagt gcaggcagct tccacagcaa tggcatcctg	1260
gtcatccagc ggatagttaa tgatcagccc actgacgcgt tgccgcgagaa gattgtgcac	1320
cgccgcttta caggcttcga cgcgcttcg ttctaccatc gacaccacca cgctggcacc	1380
cagttgatcg gcgcgagatt taatcgcgcg gacaatttgc gacggcgcgt gcagggccag	1440
actggaggtg gcaacgcaa tcagcaacga ctgtttgccc gccagttggt gtgccacgcg	1500
gttgggaatg taattcagct ccgcatcgc cgcttcact tttcccgcg ttttcgcaga	1560
aacgtggctg gcctggttca ccacgcggga aacggtctga taagagacac cggcatactc	1620
tgccagatcg tataacgta ctgggtttcac attcaccacc ctgaattgac tctcttcgg	1680
gcgctatcat gccataccgc gaaaggtttt gcgccattcg atggtgtcaa cgtaaatgca	1740
tgccgcttcg ccttcggccc accagaatag cctgcgccc gggcttctc gctcactgac	1800
tcgctgcgct cggtcgctc gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaa ggccgtaata	1860
cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa	1920
aagccagga accgtaaaaa ggccgcgctg ctggcgcttt tccataggct ccgccccct	1980
gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaaccgcgac aggactataa	2040

ES 2 571 446 T3

agataccagg cgtttcccc tggaagctcc ctctgtgcgt ctctgttcc gaccctgcc 2100
 cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca 2160
 cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtccca agctgggctg tgtgcacgaa 2220
 cccccgttc agcccagccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaaccgg 2280
 gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg 2340
 tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtagccta actacggcta cactagaaga 2400
 acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttgtagc 2460
 tcttgatccg gcaaaacaac caccgctggg agcggtggtt tttttgttg caagcagcag 2520
 attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac 2580
 gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc 2640
 ttcacctaga tccttttaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag 2700
 taaacttggg ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt 2760
 ctatttcggt catccatagt tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag 2820
 ggcttaccat ctggcccag tggctcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca 2880
 gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcttgcaact 2940
 ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca 3000
 gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg 3060
 tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc 3120
 atggtgtgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tcggtgtcag aagtaagttg 3180
 gccgcagtgt tactactcat ggttatggca gactgcata attctcttac tgtcatgcca 3240
 tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt 3300
 atgcccgcgac cgagttgctc ttgccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc 3360
 agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc 3420
 ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca 3480
 tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa 3540
 aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat 3600
 tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa 3660
 aataa caaaa taggggttcc ggcacattt cccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa 3720
 accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtc 3778
 <210> 18
 <211> 775
 <212> PRT
 <213> Thermococcus sp.

ES 2 571 446 T3

<400> 18

Met Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asn Gly Lys Pro Val Ile
 1 5 10 15

Arg Val Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu Tyr Asp Arg
 20 25 30

Thr Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
 35 40 45

Glu Asp Val Lys Lys Val Thr Ala Lys Arg His Gly Thr Val Val Lys
 50 55 60

Val Lys Arg Ala Glu Lys Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Ile
 65 70 75 80

Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Asn His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
 85 90 95

Arg Asp Arg Ile Arg Ala His Pro Ala Val Val Asp Ile Tyr Glu Tyr
 100 105 110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro
 115 120 125

Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Thr Met Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Thr Gly Pro Ile Leu Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Gly Ser Glu Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Lys Ile
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Lys Glu Met Ile Lys
 180 185 190

Arg Phe Leu Arg Val Val Arg Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Cys Glu
 210 215 220

ES 2 571 446 T3

Glu Leu Gly Ile Lys Phe Thr Leu Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys
 225 230 235 240

Ile Gln Arg Met Gly Asp Arg Phe Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile
 245 250 255

His Phe Asp Leu Tyr Pro Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr
 260 265 270

Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Val Phe Gly Lys Pro Lys Glu
 275 280 285

Lys Val Tyr Ala Glu Glu Ile Ala Gln Ala Trp Glu Ser Gly Glu Gly
 290 295 300

Leu Glu Arg Val Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Val Thr Tyr
 305 310 315 320

Glu Leu Gly Arg Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Ile Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu
 340 345 350

Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Lys Arg Asn Glu Leu Ala
 355 360 365

Pro Asn Lys Pro Asp Glu Arg Glu Leu Ala Arg Arg Arg Gly Gly Tyr
 370 375 380

Ala Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Asp Asn Ile
 385 390 395 400

Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His
 405 410 415

Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys Lys Glu Tyr Asp
 420 425 430

Val Ala Pro Glu Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe
 435 440 445

Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Ile Lys
 450 455 460

ES 2 571 446 T3

Arg Lys Met Lys Ala Thr Val Asp Pro Leu Glu Lys Lys Leu Leu Asp
465 470 475 480

Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Phe Tyr Gly Tyr
485 490 495

Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser
500 505 510

Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Glu Met Val Ile Arg Glu Leu
515 520 525

Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ala Asp Thr Asp Gly Leu
530 535 540

His Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala
545 550 555 560

Lys Glu Phe Leu Lys Tyr Ile Asn Pro Lys Leu Pro Gly Leu Leu Glu
565 570 575

Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Val Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys
580 585 590

Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu
595 600 605

Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala
610 615 620

Arg Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu Glu Ala Val
625 630 635 640

Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Val Pro
645 650 655

Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Arg Asp
660 665 670

Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala
675 680 685

Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
690 695 700

Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Ala Asp Glu Phe

ES 2 571 446 T3

Phe Tyr His Glu Gly Asp Glu Phe Gly Lys Gly Glu Ile Ile Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Glu Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Asn Glu Arg Glu Met Ile Lys
 180 185 190

Arg Phe Val Gln Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Ile Ile Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Leu Pro Tyr Leu Ile Lys Arg Ala Glu
 210 215 220

Lys Leu Gly Val Arg Leu Val Leu Gly Arg Asp Lys Glu His Pro Glu
 225 230 235 240

Pro Lys Ile Gln Arg Met Gly Asp Ser Phe Ala Val Glu Ile Lys Gly
 245 250 255

Arg Ile His Phe Asp Leu Phe Pro Val Val Arg Arg Thr Ile Asn Leu
 260 265 270

Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Val Leu Gly Lys Thr
 275 280 285

Lys Ser Lys Leu Gly Ala Glu Glu Ile Ala Ala Ile Trp Glu Thr Glu
 290 295 300

Glu Ser Met Lys Lys Leu Ala Gln Tyr Ser Met Glu Asp Ala Arg Ala
 305 310 315 320

Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala
 325 330 335

Lys Leu Ile Gly Gln Ser Val Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly
 340 345 350

Asn Leu Val Glu Trp Tyr Leu Leu Arg Val Ala Tyr Ala Arg Asn Glu
 355 360 365

Leu Ala Pro Asn Lys Pro Asp Glu Glu Glu Tyr Lys Arg Arg Leu Arg
 370 375 380

ES 2 571 446 T3

Thr Thr Tyr Leu Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu Trp
 385 390 395 400

Glu Asn Ile Ile Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile
 405 410 415

Val Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Glu Lys Glu Gly Cys Lys
 420 425 430

Asn Tyr Asp Val Ala Pro Ile Val Gly Tyr Arg Phe Cys Lys Asp Phe
 435 440 445

Pro Gly Phe Ile Pro Ser Ile Leu Gly Asp Leu Ile Ala Met Arg Gln
 450 455 460

Asp Ile Lys Lys Lys Met Lys Ser Thr Ile Asp Pro Ile Glu Lys Lys
 465 470 475 480

Met Leu Asp Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Leu Leu Ala Asn Ser Tyr
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Met Gly Tyr Pro Lys Ala Arg Trp Tyr Ser Lys Glu Cys
 500 505 510

Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg His Tyr Ile Glu Met Thr Ile
 515 520 525

Arg Glu Ile Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ala Asp Thr
 530 535 540

Asp Gly Phe Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Glu Lys Pro Glu Leu Ile Lys
 545 550 555 560

Lys Lys Ala Lys Glu Phe Leu Asn Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro Gly
 565 570 575

Leu Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Leu Arg Gly Phe Phe Val
 580 585 590

Thr Lys Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Arg Ile Thr Thr
 595 600 605

Arg Gly Leu Glu Val Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu
 610 615 620

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

ES 2 571 446 T3

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

ES 2 571 446 T3

Phe Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Glu Lys Pro Glu Leu Ile Lys Lys Lys
545 550 555 560

Ala Lys Glu Phe Leu Asn Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro Gly Leu Leu
565 570 575

Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Val Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys
580 585 590

Lys Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr Arg Gly
595 600 605

Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln
610 615 620

Ala Arg Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu Glu Ala
625 630 635 640

Val Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Val
645 650 655

Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Arg
660 665 670

Asp Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala
675 680 685

Ala Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val
690 695 700

Leu Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Ala Asp Glu
705 710 715 720

Phe Asp Pro Thr Lys His Arg Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn
725 730 735

Gln Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Lys Ala Phe Gly Tyr Arg
740 745 750

Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Lys Gln Val Gly Leu Gly Ala
755 760 765

Trp Leu Lys Val Lys Gly Lys Lys
770 775

<210> 21

<211> 773

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

ES 2 571 446 T3

<220>

<223> ADN polimerasa quimérica Li9N

5

<400> 21

```

Met Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Lys Asp Gly Lys Pro Ile Ile
 1           5           10           15

Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu Leu Asp Pro
      20           25           30

His Phe Gln Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
      35           40           45

Glu Glu Ile Lys Ala Ile Lys Gly Glu Arg His Gly Lys Thr Val Arg
 50           55           60

Val Leu Asp Ala Val Lys Val Arg Lys Lys Phe Leu Gly Arg Glu Val
 65           70           75           80

Glu Val Trp Lys Leu Ile Phe Glu His Pro Gln Asp Val Pro Ala Met
      85           90           95

Arg Gly Lys Ile Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Tyr Glu Tyr
      100          105          110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro
      115          120          125

Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Leu Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
      130          135          140

Phe Tyr His Glu Gly Asp Glu Phe Gly Lys Gly Glu Ile Ile Met Ile
 145          150          155          160

Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Glu Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile
      165          170          175

Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Asn Glu Arg Glu Met Ile Lys
      180          185          190

Arg Phe Val Gln Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Ile Ile Thr
      195          200          205

```

ES 2 571 446 T3

Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Leu Pro Tyr Leu Ile Lys Arg Ala Glu
 210 215 220

Lys Leu Gly Val Arg Leu Val Leu Gly Arg Asp Lys Glu His Pro Glu
 225 230 235 240

Pro Lys Ile Gln Arg Met Gly Asp Ser Phe Ala Val Glu Ile Lys Gly
 245 250 255

Arg Ile His Phe Asp Leu Phe Pro Val Val Arg Arg Thr Ile Asn Leu
 260 265 270

Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Val Leu Gly Lys Thr
 275 280 285

Lys Ser Lys Leu Gly Ala Glu Glu Ile Ala Ala Ile Trp Glu Thr Glu
 290 295 300

Glu Ser Met Lys Lys Leu Ala Gln Tyr Ser Met Glu Asp Ala Arg Ala
 305 310 315 320

Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala
 325 330 335

Lys Leu Ile Gly Gln Ser Val Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly
 340 345 350

Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Lys Arg Asn Glu
 355 360 365

Leu Ala Pro Asn Lys Pro Asp Glu Arg Glu Leu Ala Arg Arg Arg Gly
 370 375 380

Gly Tyr Ala Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Asp
 385 390 395 400

Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile
 405 410 415

Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys Lys Glu
 420 425 430

Tyr Asp Val Ala Pro Glu Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp Phe Pro
 435 440 445

ES 2 571 446 T3

Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys
 450 455 460

Ile Lys Arg Lys Met Lys Ala Thr Val Asp Pro Leu Glu Lys Lys Leu
 465 470 475 480

Leu Asp Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Phe Tyr
 485 490 495

Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala
 500 505 510

Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Glu Met Val Ile Arg
 515 520 525

Glu Leu Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ala Asp Thr Asp
 530 535 540

Gly Leu His Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys
 545 550 555 560

Lys Ala Lys Glu Phe Leu Lys Tyr Ile Asn Pro Lys Leu Pro Gly Leu
 565 570 575

Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Leu Arg Gly Phe Phe Val Thr
 580 585 590

Lys Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Arg Ile Thr Thr Arg
 595 600 605

Gly Leu Glu Val Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr
 610 615 620

Gln Ala Lys Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys Glu Gly Ser Val Glu Lys
 625 630 635 640

Ala Val Glu Val Val Arg Asp Val Val Glu Lys Ile Ala Lys Tyr Arg
 645 650 655

Val Pro Leu Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu
 660 665 670

Lys Asp Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Ile Ala Lys Arg Leu
 675 680 685

ES 2 571 446 T3

Ala Ala Arg Gly Ile Lys Val Lys Pro Gly Thr Ile Ile Ser Tyr Ile
690 695 700

Val Leu Lys Gly Ser Gly Lys Ile Ser Asp Arg Val Ile Leu Leu Thr
705 710 715 720

Glu Tyr Asp Pro Arg Lys His Lys Tyr Asp Pro Asp Tyr Tyr Ile Glu
725 730 735

Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Leu Arg Ile Leu Glu Ala Phe Gly Tyr
740 745 750

Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Ser Ser Lys Gln Thr Gly Leu Asp
755 760 765

Ala Trp Leu Lys Arg
770

<210> 22

<211> 773

<212> PRT

<213> Thermococcus sp.

5

<400> 22

Met Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile
1 5 10 15

Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Asp Tyr Asp Arg
20 25 30

Asn Phe Glu Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
35 40 45

Glu Asp Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Thr Val Arg
50 55 60

Val Val Arg Ala Glu Lys Val Lys Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Ile
65 70 75 80

Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
85 90 95

Arg Asp Lys Ile Lys Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Tyr Glu Tyr
100 105 110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro
115 120 125

ES 2 571 446 T3

Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Met Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Ala Glu Gly Pro Ile Leu Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Lys Glu Met Ile Lys
 180 185 190

Arg Phe Leu Lys Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Ser Glu
 210 215 220

Lys Leu Gly Val Lys Phe Ile Leu Gly Arg Glu Gly Ser Glu Pro Lys
 225 230 235 240

Ile Gln Arg Met Gly Asp Arg Phe Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile
 245 250 255

His Phe Asp Leu Tyr Pro Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr
 260 265 270

Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Gln Pro Lys Glu
 275 280 285

Lys Val Tyr Ala Glu Glu Ile Ala Gln Ala Trp Glu Thr Gly Glu Gly
 290 295 300

Leu Glu Arg Val Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Val Thr Tyr
 305 310 315 320

Glu Leu Gly Lys Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Val Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu
 340 345 350

Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala
 355 360 365

ES 2 571 446 T3

Pro Asn Lys Pro Asp Glu Arg Glu Leu Ala Arg Arg Arg Glu Ser Tyr
 370 375 380

Ala Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Glu Asn Ile
 385 390 395 400

Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His
 405 410 415

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

Val Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe
 435 440 445

Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Val Lys
 450 455 460

Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Lys Lys Leu Leu Asp
 465 470 475 480

Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Phe Tyr Gly Tyr
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser
 500 505 510

Val Thr Ala Trp Gly Arg Gln Tyr Ile Glu Thr Thr Ile Arg Glu Ile
 515 520 525

Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ala Asp Thr Asp Gly Phe
 530 535 540

Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala
 545 550 555 560

Lys Glu Phe Leu Asp Tyr Ile Asn Ala Lys Leu Pro Gly Leu Leu Glu
 565 570 575

Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys
 580 585 590

Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Asp Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu
 595 600 605

ES 2 571 446 T3

Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala
610 615 620

Arg Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu Glu Ala Val
625 630 635 640

Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Val Pro
645 650 655

Pro Glu Lys Leu Val Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Lys Asp
660 665 670

Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala
675 680 685

Arg Gly Ile Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
690 695 700

Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe
705 710 715 720

Asp Pro Ala Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln
725 730 735

Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys
740 745 750

Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu Gly Ala Trp
755 760 765

Leu Lys Pro Lys Thr
770

<210> 23

<211> 773

<212> PRT

<213> Thermococcus sp.

5

<400> 23

Met Ile Leu Asp Ala Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile
1 5 10 15

Arg Val Phe Lys Lys Glu Lys Gly Glu Phe Lys Ile Asp Tyr Asp Arg
20 25 30

Asp Phe Glu Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
35 40 45

ES 2 571 446 T3

Glu Asp Ile Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Thr Val Arg
 50 55 60

Val Thr Arg Ala Glu Arg Val Lys Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Val
 65 70 75 80

Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
 85 90 95

Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Tyr Glu Tyr
 100 105 110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Arg Gly Leu Ile Pro
 115 120 125

Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Arg Met Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Glu Gly Pro Ile Leu Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Glu Ser Val Ser Thr Glu Lys Glu Met Ile Lys
 180 185 190

Arg Phe Leu Lys Val Ile Gln Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Ser Glu
 210 215 220

Thr Leu Gly Val Lys Phe Ile Leu Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys
 225 230 235 240

Ile Gln Arg Met Gly Asp Arg Phe Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile
 245 250 255

His Phe Asp Leu Tyr Pro Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr
 260 265 270

Tyr Thr Leu Glu Thr Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Gln Pro Lys Glu
 275 280 285

ES 2 571 446 T3

Lys Val Tyr Ala Glu Glu Ile Ala Arg Ala Trp Glu Ser Gly Glu Gly
 290 295 300

Leu Glu Arg Val Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr Tyr
 305 310 315 320

Glu Leu Gly Lys Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Val Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu
 340 345 350

Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala
 355 360 365

Pro Asn Lys Pro Asp Glu Arg Glu Leu Ala Arg Arg Ala Glu Ser Tyr
 370 375 380

Ala Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu Trp Glu Asn Ile
 385 390 395 400

Val Tyr Leu Asp Tyr Lys Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His
 405 410 415

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

Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe
 435 440 445

Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Val Lys
 450 455 460

Lys Lys Met Lys Ala Thr Val Asp Pro Ile Glu Arg Lys Leu Leu Asp
 465 470 475 480

Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Tyr Tyr Gly Tyr
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Ala Asn Ala Arg Trp Tyr Cys Arg Glu Cys Ala Glu Ser
 500 505 510

Val Thr Ala Trp Gly Arg Gln Tyr Ile Glu Thr Thr Met Arg Glu Ile
 515 520 525

ES 2 571 446 T3

Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ala Asp Thr Asp Gly Phe
 530 535 540
 Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala
 545 550 555 560
 Lys Glu Phe Leu Asn Tyr Ile Asn Pro Arg Leu Pro Gly Leu Leu Glu
 565 570 575
 Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Arg Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys
 580 585 590
 Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Asp Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu
 595 600 605
 Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala
 610 615 620
 Arg Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu Glu Ala Val
 625 630 635 640
 Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Arg Tyr Glu Val Pro
 645 650 655
 Pro Glu Lys Leu Val Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Arg Asp
 660 665 670
 Tyr Arg Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala
 675 680 685
 Arg Gly Ile Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
 690 695 700
 Lys Gly Pro Gly Arg Val Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe
 705 710 715 720
 Asp Pro Ala Lys His Arg Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln
 725 730 735
 Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys
 740 745 750
 Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Lys Gln Ala Gly Leu Gly Ala Trp
 755 760 765
 Leu Lys Pro Lys Thr

770

<210> 24

ES 2 571 446 T3

<211> 773
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>

5 <223> ADN polimerasa quimérica GoZi

<400> 24
 Met Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile
 1 5 10 15

 Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Asp Tyr Asp Arg
 20 25 30

 Asn Phe Glu Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
 35 40 45

 Glu Asp Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Thr Val Arg
 50 55 60

 Val Val Arg Ala Glu Lys Val Lys Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Ile
 65 70 75 80

 Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
 85 90 95

 Arg Asp Lys Ile Lys Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Tyr Glu Tyr
 100 105 110

 Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro
 115 120 125

 Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Met Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

 Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Ala Glu Gly Pro Ile Leu Met Ile
 145 150 155 160

 Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile
 165 170 175

 Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Lys Glu Met Ile Lys
 180 185 190

ES 2 571 446 T3

Arg Phe Leu Lys Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Ser Glu
 210 215 220

Lys Leu Gly Val Lys Phe Ile Leu Gly Arg Glu Gly Ser Glu Pro Lys
 225 230 235 240

Ile Gln Arg Met Gly Asp Arg Phe Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile
 245 250 255

His Phe Asp Leu Tyr Pro Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr
 260 265 270

Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Gln Pro Lys Glu
 275 280 285

Lys Val Tyr Ala Glu Glu Ile Ala Gln Ala Trp Glu Thr Gly Glu Gly
 290 295 300

Leu Glu Arg Val Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Val Thr Tyr
 305 310 315 320

Glu Leu Gly Lys Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Val Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu
 340 345 350

Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala
 355 360 365

Pro Asn Lys Pro Asp Glu Arg Glu Leu Ala Arg Arg Arg Glu Ser Tyr
 370 375 380

Ala Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu Trp Glu Asn Ile
 385 390 395 400

Val Tyr Leu Asp Tyr Lys Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His
 405 410 415

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

Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe

ES 2 571 446 T3

Arg Gly Ile Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
690 695 700

Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe
705 710 715 720

Asp Pro Ala Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln
725 730 735

Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys
740 745 750

Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu Gly Ala Trp
755 760 765

Leu Lys Pro Lys Thr
770

<210> 25

<211> 773

<212> PRT

5

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN polimerasa quimérica ZiGo

10

<400> 25

Met Ile Leu Asp Ala Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile
1 5 10 15

Arg Val Phe Lys Lys Glu Lys Gly Glu Phe Lys Ile Asp Tyr Asp Arg
20 25 30

Asp Phe Glu Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
35 40 45

Glu Asp Ile Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Thr Val Arg
50 55 60

Val Thr Arg Ala Glu Arg Val Lys Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Val
65 70 75 80

Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
85 90 95

Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Tyr Glu Tyr

ES 2 571 446 T3

Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala
 355 360 365

Pro Asn Lys Pro Asp Glu Arg Glu Leu Ala Arg Arg Ala Glu Ser Tyr
 370 375 380

Ala Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Glu Asn Ile
 385 390 395 400

Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His
 405 410 415

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

Val Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe
 435 440 445

Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Val Lys
 450 455 460

Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Lys Lys Leu Leu Asp
 465 470 475 480

Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Phe Tyr Gly Tyr
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser
 500 505 510

Val Thr Ala Trp Gly Arg Gln Tyr Ile Glu Thr Thr Ile Arg Glu Ile
 515 520 525

Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ala Asp Thr Asp Gly Phe
 530 535 540

Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala
 545 550 555 560

Lys Glu Phe Leu Asn Tyr Ile Asn Pro Arg Leu Pro Gly Leu Leu Glu
 565 570 575

Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Arg Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys
 580 585 590

ES 2 571 446 T3

Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Asp Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu
595 600 605

Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala
610 615 620

Arg Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys His Gly Asp Val Glu Glu Ala Val
625 630 635 640

Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Arg Tyr Glu Val Pro
645 650 655

Pro Glu Lys Leu Val Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Arg Asp
660 665 670

Tyr Arg Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala
675 680 685

Arg Gly Ile Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
690 695 700

Lys Gly Pro Gly Arg Val Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe
705 710 715 720

Asp Pro Ala Lys His Arg Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln
725 730 735

Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys
740 745 750

Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Lys Gln Ala Gly Leu Gly Ala Trp
755 760 765

Leu Lys Pro Lys Thr
770

<210> 26

<211> 778

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN polimerasa quimérica Kofu-II

10 <400> 26

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys
1 5 10 15

ES 2 571 446 T3

Pro Val Ile Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu
 20 25 30

Tyr Asp Arg Thr Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp
 35 40 45

Ser Ala Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr
 50 55 60

Val Val Thr Val Lys Arg Val Glu Lys Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly
 65 70 75 80

Arg Pro Val Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val
 85 90 95

Pro Ala Ile Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Pro Ala Val Ile Asp Ile
 100 105 110

Tyr Glu Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly
 115 120 125

Leu Val Pro Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Met Leu Ala Phe Asp
 130 135 140

Ile Glu Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Ala Glu Gly Pro Ile
 145 150 155 160

Leu Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp
 165 170 175

Lys Asn Val Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Arg Glu
 180 185 190

Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val
 195 200 205

Leu Ile Thr Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys
 210 215 220

Arg Cys Glu Lys Leu Gly Ile Asn Phe Ala Leu Gly Arg Asp Gly Ser
 225 230 235 240

Glu Pro Lys Ile Gln Arg Met Gly Asp Arg Phe Ala Val Glu Val Lys
 245 250 255

ES 2 571 446 T3

Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr Pro Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn
 260 265 270

Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Val Phe Gly Gln
 275 280 285

Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Glu Glu Ile Thr Thr Ala Trp Glu Thr
 290 295 300

Gly Glu Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys
 305 310 315 320

Ala Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu
 325 330 335

Ser Arg Leu Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr
 340 345 350

Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn
 355 360 365

Glu Val Ala Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu
 370 375 380

Arg Glu Ser Tyr Thr Gly Gly Phe Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu
 385 390 395 400

Trp Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ala Leu Tyr Pro Ser Ile
 405 410 415

Ile Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Leu Glu Gly Cys
 420 425 430

Lys Asn Tyr Asp Ile Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp
 435 440 445

Ile Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly His Leu Leu Glu Glu Arg
 450 455 460

Gln Lys Ile Lys Thr Lys Met Lys Glu Thr Gln Asp Pro Ile Glu Lys
 465 470 475 480

Ile Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Lys Ala Ile Lys Leu Leu Ala Asn Ser
 485 490 495

ES 2 571 446 T3

Phe Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu
 500 505 510

Cys Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Lys Tyr Ile Glu Leu Val
 515 520 525

Trp Lys Glu Leu Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ile Asp
 530 535 540

Thr Asp Gly Leu Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Gly Glu Ser Glu Glu Ile
 545 550 555 560

Lys Lys Lys Ala Leu Glu Phe Val Lys Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro
 565 570 575

Gly Leu Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe
 580 585

Val Thr Lys Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Val Ile
 595 600 605

Thr Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys
 610 615 620

Glu Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asp Gly Asp Val
 625 630 635 640

Glu Lys Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys
 645 650 655

Tyr Glu Val Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg
 660 665 670

Asp Leu Lys Asp Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys
 675 680 685

Arg Leu Ala Ala Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser
 690 695 700

Tyr Ile Val Leu Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro
 705 710 715 720

Phe Asp Glu Phe Asp Pro Thr Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr
 725 730 735

Ile Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe

ES 2 571 446 T3

740

745

750

Gly Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly
 755 760 765

Leu Ser Ala Trp Leu Lys Pro Lys Gly Thr
 770 775

<210> 27

<211> 777

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN polimerasa quimérica Pod-II

10 <400> 27

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Val Asp Tyr Ile Thr Glu Glu Gly Lys
 1 5 10 15

Pro Val Ile Arg Leu Phe Lys Lys Glu Asn Gly Lys Phe Lys Ile Glu
 20 25 30

His Asp Arg Thr Phe Arg Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Arg Asp Asp
 35 40 45

Ser Lys Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Gly Glu Arg His Gly Lys
 50 55 60

Ile Val Arg Ile Val Asp Val Glu Lys Val Glu Lys Lys Phe Leu Gly
 65 70 75 80

Lys Pro Ile Thr Val Trp Lys Leu Tyr Leu Glu His Pro Gln Asp Val
 85 90 95

Pro Thr Ile Arg Glu Lys Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile
 100 105 110

Phe Glu Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly
 115 120 125

Leu Ile Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp
 130 135 140

Ile Glu Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile
 145 150 155 160

ES 2 571 446 T3

Ile Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp
 165 170 175

Lys Asn Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu
 180 185 190

Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile
 195 200 205

Ile Val Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys
 210 215 220

Arg Ala Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser
 225 230 235 240

Glu Pro Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys
 245 250 255

Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn
 260 265 270

Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys
 275 280 285

Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser
 290 295 300

Gly Glu Asn Leu Glu Arg Val Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys
 305 310 315 320

Val Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ala Gln Leu
 325 330 335

Ser Arg Leu Ile Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr
 340 345 350

Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn
 355 360 365

Glu Leu Ala Pro Asn Lys Pro Asp Glu Lys Glu Leu Ala Arg Arg Arg
 370 375 380

Gln Ser Tyr Glu Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp
 385 390 395 400

Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile

ES 2 571 446 T3

Glu Ile Pro Pro Glu Lys Leu Ala Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Pro
660 665 670

Leu His Glu Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Lys
675 680 685

Leu Ala Ala Lys Gly Val Lys Ile Lys Pro Gly Met Val Ile Gly Tyr
690 695 700

Ile Val Leu Arg Gly Asp Gly Pro Ile Ser Asn Arg Ala Ile Leu Ala
705 710 715 720

Glu Glu Tyr Asp Pro Lys Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile
725 730 735

Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Leu Arg Ile Leu Glu Gly Phe Gly
740 745 750

Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu
755 760 765

Thr Ser Trp Leu Asn Ile Lys Lys Ser
770 775

<210> 28

<211> 777

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN polimerasa quimérica Kofu-III

10 <400> 28

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys
1 5 10 15

Pro Val Ile Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu
20 25 30

Tyr Asp Arg Thr Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp
35 40 45

Ser Ala Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr
50 55 60

Val Val Thr Val Lys Arg Val Glu Lys Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly

ES 2 571 446 T3

Val Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ala Gln Leu
 325 330 335

Ser Arg Leu Ile Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr
 340 345 350

Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn
 355 360 365

Glu Leu Ala Pro Asn Lys Pro Asp Glu Lys Glu Leu Ala Arg Arg Arg
 370 375 380

Gln Ser Tyr Glu Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Lys Gly Leu Trp
 385 390 395 400

Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Ile
 405 410 415

Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Leu Glu Gly Cys Lys
 420 425 430

Asn Tyr Asp Ile Ala Pro Gln Val Gly His Lys Phe Cys Lys Asp Ile
 435 440 445

Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly His Leu Leu Glu Glu Arg Gln
 450 455 460

Lys Ile Lys Thr Lys Met Lys Glu Thr Gln Asp Pro Ile Glu Lys Ile
 465 470 475 480

Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Lys Ala Ile Lys Leu Leu Ala Asn Ser Phe
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Lys Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys
 500 505 510

Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Lys Tyr Ile Glu Leu Val Trp
 515 520 525

Lys Glu Leu Glu Glu Lys Phe Gly Phe Lys Val Leu Tyr Ile Asp Thr
 530 535 540

Asp Gly Leu Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Gly Glu Ser Glu Glu Ile Lys
 545 550 555 560

ES 2 571 446 T3

Lys Lys Ala Leu Glu Phe Leu Lys Tyr Ile Asn Ala Lys Leu Pro Gly
565 570 575

Ala Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val
580 585 590

Thr Lys Lys Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr
595 600 605

Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu
610 615 620

Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asp Gly Asp Val Glu
625 630 635 640

Lys Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr
645 650 655

Glu Val Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp
660 665 670

Leu Lys Asp Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg
675 680 685

Leu Ala Ala Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr
690 695 700

Ile Val Leu Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe
705 710 715 720

Asp Glu Phe Asp Pro Thr Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile
725 730 735

Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly
740 745 750

Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu
755 760 765

Ser Ala Trp Leu Lys Pro Lys Gly Thr
770 775

<210> 29

<211> 778

<212> PRT

5

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN polimerasa quimérica Pod-III

ES 2 571 446 T3

<400> 29

Met Ala Ser Ala Ile Leu Asp Val Asp Tyr Ile Thr Glu Glu Gly Lys
1 5 10 15

Pro Val Ile Arg Leu Phe Lys Lys Glu Asn Gly Lys Phe Lys Ile Glu
20 25 30

His Asp Arg Thr Phe Arg Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Arg Asp Asp
35 40 45

Ser Lys Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Gly Glu Arg His Gly Lys
50 55 60

Ile Val Arg Ile Val Asp Val Glu Lys Val Glu Lys Lys Phe Leu Gly
65 70 75 80

Lys Pro Ile Thr Val Trp Lys Leu Tyr Leu Glu His Pro Gln Asp Val
85 90 95

Pro Thr Ile Arg Glu Lys Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile
100 105 110

Phe Glu Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly
115 120 125

Leu Ile Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp
130 135 140

Ile Glu Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile
145 150 155 160

Ile Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp
165 170 175

Lys Asn Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu
180 185 190

Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile
195 200 205

Ile Val Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys
210 215 220

ES 2 571 446 T3

Arg Ala Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser
 225 230 235 240

Glu Pro Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys
 245 250 255

Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn
 260 265 270

Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys
 275 280 285

Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser
 290 295 300

Gly Glu Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys
 305 310 315 320

Ala Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu
 325 330 335

Ser Arg Leu Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr
 340 345 350

Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn
 355 360 365

Glu Val Ala Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu
 370 375 380

Arg Glu Ser Tyr Thr Gly Gly Phe Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu
 385 390 395 400

Trp Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile
 405 410 415

Ile Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys
 420 425 430

Lys Glu Tyr Asp Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp
 435 440 445

Phe Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg
 450 455 460

ES 2 571 446 T3

Gln Lys Ile Lys Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Arg
465 470 475 480

Lys Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser
485 490 495

Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Arg Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu
500 505 510 515

Cys Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Thr Met Thr
515 520 525

Ile Lys Glu Ile Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Lys Val Ile Tyr Ser Asp
530 535 540

Thr Asp Gly Phe Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val
545 550 555 560

Lys Lys Lys Ala Met Glu Phe Val Lys Tyr Ile Asn Ser Lys Leu Pro
565 570 575

Gly Leu Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe
580 585 590

Val Thr Lys Lys Arg Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Val Ile
595 600 605

Thr Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys
610 615 620

Glu Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Thr Ile Leu Lys His Gly Asp Val
625 630 635 640

Glu Glu Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val Ile Gln Lys Leu Ala Asn
645 650 655

Tyr Glu Ile Pro Pro Glu Lys Leu Ala Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg
660 665 670

Pro Leu His Glu Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys
675 680 685

Lys Leu Ala Ala Lys Gly Val Lys Ile Lys Pro Gly Met Val Ile Gly
690 695 700

Tyr Ile Val Leu Arg Gly Asp Gly Pro Ile Ser Asn Arg Ala Ile Leu

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (44)..(49)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (53)..(57)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (59)..(61)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (63)..(64)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (66)..(67)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (69)..(73)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (78)..(89)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (91)..(92)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (94)..(95)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (98)..(110)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (112)..(113)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (115)..(130)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (132)..(133)
 5 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (135)..(141)
 10 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (143)..(144)
 15 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (147)..(149)
 20 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<400> 30
 Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Gly Xaa Arg Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Thr Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Val Lys Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Xaa Val Leu Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa
 50 55 60
 Lys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Phe Ala Leu Xaa Xaa Xaa
 65 70 75 80
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Met Xaa Xaa Arg
 85 90 95
 Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa
 100 105 110
 Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 115 120 125
 Xaa Xaa Val Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa
 130 135 140
 Thr Thr Xaa Xaa Xaa Thr
 145 150
 <210> 31

	<211> 83
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
5	<220> <223> Secuencia Consenso
	<220>
	<221> Xaa
10	<222> (1)..(2)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
15	<222> (4)..(7)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
20	<222> (9)..(12)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
25	<222> (14)..(15)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
30	<222> (17)..(20)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
35	<222> (22)..(24)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
40	<222> (26)..(33)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
45	<222> (35)..(38)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
50	<222> (41)..(41)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa
55	<222> (46)..(49)
	<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
	<220>
	<221> Xaa

<223> Secuencia Consenso

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (1)..(16)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (19)..(20)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (22)..(25)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (27)..(34)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (37)..(38)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (41)..(42)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (44)..(48)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (52)..(56)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (58)..(58)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (61)..(63)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
 <221> Xaa

- <222> (65)..(72)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5
<220>
<221> Xaa
<222> (74)..(76)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
<220>
<221> Xaa
<222> (78)..(81)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
<220>
<221> Xaa
<222> (83)..(84)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
<220>
<221> Xaa
<222> (86)..(87)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
<220>
<221> Xaa
<222> (88)..(92)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
<220>
<221> Xaa
<222> (94)..(94)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
<220>
<221> Xaa
<222> (96)..(96)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
<220>
<221> Xaa
<222> (98)..(98)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
<220>
<221> Xaa
<222> (101)..(103)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
<220>
<221> Xaa
<222> (107)..(107)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
<220>
<221> Xaa
<222> (109)..(110)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>

<221> Xaa
 <222> (112)..(129)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5 <220>
 <221> Xaa
 <222> (131)..(133)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10 <220>
 <221> Xaa
 <222> (136)..(137)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15 <400> 32
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Ala Leu Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Thr Glu Xaa Xaa Ser Lys Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45
 Val Xaa His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Lys Asp Xaa Xaa Xaa Thr
 50 55 60
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa
 65 70 75 80
 Xaa Arg Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Ser Xaa
 85 90 95
 Arg Xaa Gly Asp Xaa Xaa Xaa Pro Phe Asp Xaa Phe Xaa Xaa Thr Xaa
 100 105 110
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 115 120 125
 Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Arg Ala Xaa Xaa
 130 135

<210> 33
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia Consenso

25 <220>
 <221> Xaa
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no H
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (21)..(21)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no G
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (40)..(40)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (42)..(42)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (43)..(43)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (44)..(44)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no V
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (45)..(45)

ES 2 571 446 T3

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no D
 <220>
 <221> Xaa
 5 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E
 <220>
 <221> Xaa
 10 <222> (56)..(56)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K
 <220>
 <221> Xaa
 15 <222> (58)..(58)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
 <220>
 <221> Xaa
 20 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
 <220>
 <221> Xaa
 25 <222> (65)..(65)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no L
 <220>
 <221> Xaa
 30 <222> (66)..(66)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E
 <220>
 <221> Xaa
 35 <222> (73)..(73)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
 <220>
 <221> Xaa
 40 <222> (76)..(76)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E
 <220>
 <221> Xaa
 45 <222> (78)..(78)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no V
 <400> 33
 Asn Gly Xaa Phe Lys Ile Glu Xaa Asp Arg Thr Phe Xaa Pro Tyr Xaa
 1 5 10 15
 Tyr Ala Leu Leu Xaa Asp Asp Ser Xaa Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile
 20 25 30
 50

ES 2 571 446 T3

Thr Xaa Glu Arg His Gly Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Xaa Val Glu Lys
 35 40 45

Val Xaa Lys Lys Phe Leu Gly Xaa Pro Xaa Xaa Val Trp Lys Leu Tyr
 50 55 60

Xaa Xaa His Pro Gln Asp Val Pro Xaa Ile Arg Xaa Lys Xaa Arg Glu
 65 70 75 80

His Pro Ala

<210> 34

<211> 146

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia Consenso

10

<220>

<221> Xaa

<222> (3)..(3)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I

15

<220>

<221> Xaa

<222> (11)..(11)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no N

20

<220>

<221> Xaa

<222> (12)..(12)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

25

<220>

<221> Xaa

<222> (14)..(14)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

30

<220>

<221> Xaa

<222> (21)..(21)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I

35

<220>

<221> Xaa

<222> (27)..(27)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

40

<220>

<221> Xaa

<222> (31)..(31)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no S

45

<220>

<221> Xaa

<222> (42)..(42)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (43)..(43)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (44)..(44)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (51)..(51)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no V
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (58)..(58)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no S
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (62)..(62)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no P
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (65)..(65)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (68)..(68)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (74)..(74)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (75)..(75)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no L
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (76)..(76)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
 <220>
 <221> Xaa
 5 <222> (77)..(77)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
 <220>
 <221> Xaa
 10 <222> (86)..(86)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no M
 <220>
 <221> Xaa
 15 <222> (89)..(89)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
 <220>
 <221> Xaa
 20 <222> (92)..(92)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no M
 <220>
 <221> Xaa
 25 <222> (93)..(93)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
 <220>
 <221> Xaa
 30 <222> (107)..(107)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no H
 <220>
 <221> Xaa
 35 <222> (110)..(110)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
 <220>
 <221> Xaa
 40 <222> (127)..(127)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
 <220>
 <221> Xaa
 45 <222> (130)..(130)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K
 <220>
 <221> Xaa
 50 <222> (138)..(138)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no D
 <220>
 <221> Xaa
 55 <222> (141)..(141)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A
 <220>
 <221> Xaa

ES 2 571 446 T3

<222> (142)..(142)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

5

<220>
 <221> Xaa
 <222> (146)..(146)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no S

<400> 34
 Pro Ile Xaa Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Xaa Xaa Ala Xaa Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Trp Lys Asn Xaa Asp Leu Pro Tyr Val Xaa Val Val Ser Xaa Glu
 20 25 30
 Arg Glu Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Xaa Xaa Xaa Glu Lys Asp Pro
 35 40 45
 Asp Xaa Xaa Xaa Thr Tyr Asn Gly Asp Xaa Phe Asp Phe Xaa Tyr Leu
 50 55 60
 Xaa Lys Arg Xaa Glu Lys Leu Gly Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Arg Asp
 65 70 75 80
 Gly Ser Glu Pro Lys Xaa Gln Arg Xaa Gly Asp Xaa Xaa Ala Val Glu
 85 90 95
 Val Lys Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr Xaa Val Ile Xaa Arg Thr
 100 105 110
 Ile Asn Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Xaa Phe
 115 120 125
 Gly Xaa Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Xaa Glu Ile Xaa Xaa Ala Trp
 130 135 140

10

Glu Xaa
 145
 <210> 35
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Secuencia Consenso

20

<220>
 <221> Xaa
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T

<220>

- <221> Xaa
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 5 <220>
 <221> Xaa
 <222> (21)..(21)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no H
- 10 <220>
 <221> Xaa
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E
- 15 <220>
 <221> Xaa
 <222> (35)..(35)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 20 <220>
 <221> Xaa
 <222> (36)..(36)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no Q
- 25 <220>
 <221> Xaa
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A
- 30 <220>
 <221> Xaa
 <222> (40)..(40)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no N
- 35 <220>
 <221> Xaa
 <222> (43)..(43)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 40 <220>
 <221> Xaa
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A
- 45 <220>
 <221> Xaa
 <222> (51)..(51)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no Y
- 50 <220>
 <221> Xaa
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no P
- 55 <220>
 <221> Xaa
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no H

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (60)..(60)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (64)..(64)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (73)..(73)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (77)..(77)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (82)..(82)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (85)..(85)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no M

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (88)..(88)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no G

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (93)..(93)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (95)..(95)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no D

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (97)..(97)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no P

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (99)..(99)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no S

<220>
 <221> Xaa
 <222> (100)..(100)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no N

ES 2 571 446 T3

<220>
 <221> Xaa
 <222> (104)..(104)
 5 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no L

<220>
 <221> Xaa
 <222> (105)..(105)
 10 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A

<220>
 <221> Xaa
 <222> (106)..(106)
 15 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

<220>
 <221> Xaa
 <222> (108)..(108)
 20 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no Y

<220>
 <221> Xaa
 <222> (111)..(111)
 25 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

<220>
 <221> Xaa
 <222> (130)..(130)
 30 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no L

<220>
 <221> Xaa
 <222> (134)..(134)
 35 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

<220>
 <221> Xaa
 <222> (135)..(135)
 40 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no G

<400> 35
 Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Leu Lys Xaa Gly Asp Val Glu Xaa Ala Val Arg Ile Val Lys
 20 25 30
 Glu Val Xaa Xaa Lys Leu Xaa Xaa Tyr Glu Xaa Pro Pro Glu Lys Leu
 35 40 45
 Xaa Ile Xaa Glu Gln Ile Thr Arg Xaa Leu Xaa Xaa Tyr Lys Ala Xaa
 50 55 60
 Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Xaa Leu Ala Ala Xaa Gly Val Lys
 65 70 75 80

ES 2 571 446 T3

Ile Xaa Pro Gly Xaa Val Ile Xaa Tyr Ile Val Leu Xaa Gly Xaa Gly
 85 90 95

Xaa Ile Xaa Xaa Arg Ala Ile Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Asp Pro Xaa Lys
 100 105 110

His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala
 115 120 125

Val Xaa Arg Ile Leu Xaa Xaa Phe Gly
 130 135

- 5 <210> 36
- <211> 170
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- 10 <220>
- <223> Secuencia Consenso
- 15 <220>
- <221> Xaa
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20 <220>
- <221> Xaa
- <222> (3)..(14)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25 <220>
- <221> Xaa
- <222> (16)..(32)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30 <220>
- <221> Xaa
- <222> (34)..(37)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35 <220>
- <221> Xaa
- <222> (39)..(40)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40 <220>
- <221> Xaa
- <222> (42)..(47)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45 <220>
- <221> Xaa
- <222> (49)..(52)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
- <221> Xaa

- <222> (54)..(62)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5
<220>
<221> Xaa
<222> (64)..(72)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
<220>
<221> Xaa
<222> (74)..(76)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
<220>
<221> Xaa
<222> (78)..(78)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
<220>
<221> Xaa
<222> (80)..(83)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
<220>
<221> Xaa
<222> (86)..(91)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
<220>
<221> Xaa
<222> (93)..(95)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
<220>
<221> Xaa
<222> (97)..(100)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
<220>
<221> Xaa
<222> (102)..(108)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
<220>
<221> Xaa
<222> (110)..(126)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
<220>
<221> Xaa
<222> (128)..(129)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
<220>
<221> Xaa
<222> (134)..(135)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>

<221> Xaa
 <222> (137)..(139)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5

<220>
 <221> Xaa
 <222> (141)..(149)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10

<220>
 <221> Xaa
 <222> (146)..(146)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15

<220>
 <221> Xaa
 <222> (148)..(151)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

20

<220>
 <221> Xaa
 <222> (154)..(158)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

25

<220>
 <221> Xaa
 <222> (162)..(162)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

30

<220>
 <221> Xaa
 <222> (165)..(168)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

35

<220>
 <221> Xaa
 <222> (170)..(170)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40

<400> 36
 Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
 35 40 45
 Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His Xaa
 50 55 60
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Gln Xaa
 65 70 75 80

ES 2 571 446 T3

Xaa Xaa Xaa Lys Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Leu
85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa
100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa
115 120 125

Xaa Glu Leu Val Trp Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa
130 135 140

Leu Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Glu
145 150 155 160

Ser Xaa Glu Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa
165 170

<210> 37

<211> 170

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia Consenso

10

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

15

<220>

<221> Xaa

<222> (15)..(15)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no S

20

<220>

<221> Xaa

<222> (33)..(33)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

25

<220>

<221> Xaa

<222> (38)..(38)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

30

<220>

<221> Xaa

<222> (41)..(41)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no V

35

<220>

<221> Xaa

<222> (48)..(48)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (53)..(53)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no F

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (63)..(63)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no D

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (73)..(73)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (77)..(77)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (79)..(79)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (84)..(84)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (85)..(85)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no K

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (92)..(92)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (96)..(96)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (101)..(101)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no Y

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (109)..(109)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no R

<220>
 <221> Xaa
 <222> (127)..(127)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no E

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (130)..(130)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (131)..(131)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no M
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (132)..(132)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (133)..(133)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (136)..(136)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (140)..(140)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no Y
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (145)..(145)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no I
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (147)..(147)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no S
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (152)..(152)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no F
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (153)..(153)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no F
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (159)..(159)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (160)..(160)

ES 2 571 446 T3

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no D

<220>

<221> Xaa

5

<222> (161)..(161)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no A

<220>

<221> Xaa

10

<222> (163)..(163)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no T

<220>

<221> Xaa

15

<222> (164)..(164)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no V

<220>

<221> Xaa

20

<222> (169)..(169)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico, pero no M

<400> 37

Glu Xaa Gly Leu Trp Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg Xaa Leu
1 5 10 15

Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn
20 25 30

Xaa Glu Gly Cys Lys Xaa Tyr Asp Xaa Ala Pro Gln Val Gly His Xaa
35 40 45

Phe Cys Lys Asp Xaa Pro Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly Xaa Leu
50 55 60

Leu Glu Glu Arg Gln Lys Ile Lys Xaa Lys Met Lys Xaa Thr Xaa Asp
65 70 75 80

Pro Ile Glu Xaa Xaa Leu Leu Asp Tyr Arg Gln Xaa Ala Ile Lys Xaa
85 90 95

Leu Ala Asn Ser Xaa Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Xaa Ala Arg Trp
100 105 110

Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg Xaa Tyr
115 120 125

Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Glu Xaa Glu Glu Lys Xaa Gly Phe Lys Val
130 135 140

Xaa Tyr Xaa Asp Thr Asp Gly Xaa Xaa Ala Thr Ile Pro Gly Xaa Xaa
145 150 155 160

ES 2 571 446 T3

		Xaa	Glu	Xaa	Xaa	Lys	Lys	Lys	Ala	Xaa	Glu
						165					170
		<210> 38									
		<211> 777									
5		<212> PRT									
		<213> Secuencia Artificial									
		<220>									
10		<223> Secuencia Consenso									
		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (1)..(4)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
15		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (6)..(10)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
20		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (12)..(17)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
25		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (19)..(24)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
30		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (26)..(29)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
35		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (31)..(34)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
40		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (36)..(37)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
45		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (39)..(42)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
50		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (44)..(46)									
		<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico									
55		<220>									
		<221> Xaa									
		<222> (48)..(55)									

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 5 <222> (57)..(60)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 10 <222> (63)..(63)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 15 <222> (68)..(71)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 20 <222> (73)..(77)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 25 <222> (79)..(79)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 30 <222> (82)..(86)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 35 <222> (89)..(94)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 40 <222> (96)..(97)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 45 <222> (99)..(99)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 50 <222> (101)..(106)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 55 <222> (108)..(109)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa

- <222> (111)..(126)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5
<220>
<221> Xaa
<222> (128)..(131)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
<220>
<221> Xaa
<222> (133)..(136)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
<220>
<221> Xaa
<222> (138)..(152)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
<220>
<221> Xaa
<222> (155)..(157)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
<220>
<221> Xaa
<222> (159)..(165)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
<220>
<221> Xaa
<222> (168)..(168)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
<220>
<221> Xaa
<222> (170)..(175)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
<220>
<221> Xaa
<222> (177)..(181)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
<220>
<221> Xaa
<222> (183)..(185)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
<220>
<221> Xaa
<222> (187)..(196)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
<220>
<221> Xaa
<222> (200)..(204)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>

- <221> Xaa
 <222> (208)..(212)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5 <220>
 <221> Xaa
 <222> (219)..(216)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10 <220>
 <221> Xaa
 <222> (218)..(219)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15 <220>
 <221> Xaa
 <222> (221)..(222)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20 <220>
 <221> Xaa
 <222> (224)..(228)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25 <220>
 <221> Xaa
 <222> (233)..(242)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30 <220>
 <221> Xaa
 <222> (244)..(245)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35 <220>
 <221> Xaa
 <222> (247)..(248)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40 <220>
 <221> Xaa
 <222> (251)..(263)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45 <220>
 <221> Xaa
 <222> (265)..(266)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50 <220>
 <221> Xaa
 <222> (268)..(283)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55 <220>
 <221> Xaa
 <222> (285)..(286)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (288)..(294)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (296)..(297)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (300)..(302)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (304)..(311)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (313)..(319)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (321)..(332)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (334)..(338)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (340)..(341)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (343)..(368)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (370)..(374)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (376)..(376)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (378)..(378)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (381)..(384)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (386)..(387)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (389)..(390)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (392)..(396)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (398)..(409)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (411)..(427)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (429)..(432)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (434)..(435)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (437)..(942)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (444)..(947)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (449)..(957)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (459)..(467)

- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
5 <222> (469)..(471)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
10 <222> (473)..(473)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
15 <222> (475)..(478)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
20 <222> (481)..(486)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
25 <222> (488)..(490)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
30 <222> (492)..(495)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
35 <222> (497)..(503)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
40 <222> (505)..(521)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
45 <222> (523)..(524)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
50 <222> (529)..(530)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
55 <222> (532)..(534)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa

- <222> (536)..(539)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (541)..(541)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (543)..(546)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (549)..(553)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (557)..(557)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (560)..(563)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (565)..(566)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (568)..(571)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (573)..(576)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (578)..(595)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (597)..(605)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (608)..(631)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>

- <221> Xaa
 <222> (634)..(635)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5 <220>
 <221> Xaa
 <222> (637)..(640)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10 <220>
 <221> Xaa
 <222> (642)..(649)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15 <220>
 <221> Xaa
 <222> (652)..(653)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20 <220>
 <221> Xaa
 <222> (656)..(657)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25 <220>
 <221> Xaa
 <222> (659)..(663)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30 <220>
 <221> Xaa
 <222> (665)..(665)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35 <220>
 <221> Xaa
 <222> (667)..(671)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40 <220>
 <221> Xaa
 <222> (673)..(673)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45 <220>
 <221> Xaa
 <222> (676)..(678)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50 <220>
 <221> Xaa
 <222> (680)..(687)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55 <220>
 <221> Xaa
 <222> (689)..(691)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (693)..(696)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (698)..(699)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (701)..(702)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (704)..(707)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (709)..(709)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (711)..(711)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (713)..(713)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (716)..(718)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (722)..(722)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (724)..(725)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (727)..(744)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (746)..(748)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5
<220>
<221> Xaa
<222> (751)..(768)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10
<220>
<221> Xaa
<222> (771)..(772)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15
<220>
<221> Xaa
<222> (775)..(775)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<400> 38

ES 2 571 446 T3

Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Ala Xaa
 35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Val Xaa Thr
 50 55 60

Val Lys Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Val
 65 70 75 80

Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa
 85 90 95

Xaa Asp Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa
 100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa
 115 120 125

Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Glu Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
 145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Gly Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val
 165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 180 185 190

Xaa Xaa Xaa Xaa Val Val Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Leu Ile Xaa
 195 200 205

Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Cys Xaa
 210 215 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Phe Ala Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 225 230 235 240

ES 2 571 446 T3

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

ES 2 571 446 T3

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Phe
 485 490 495

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 500 505 510

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Glu Leu Val Trp
 515 520 525

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Ile Xaa Xaa
 530 535 540

Xaa Xaa Leu Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Glu Ser Xaa Glu Ile Xaa
 545 550 555 560

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa
 565 570 575

Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 580 585 590

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Thr Xaa
 595 600 605

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 610 615 620

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Leu Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa
 625 630 635 640

Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Glu Xaa Xaa Ser Lys Xaa
 645 650 655

Xaa Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp
 660 665 670

Xaa Lys Asp Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg
 675 680 685

Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ser Xaa
 690 695 700

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Ser Xaa Arg Xaa Gly Asp Xaa Xaa Xaa Pro Phe
 705 710 715 720

Asp Xaa Phe Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (27)..(29)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (32)..(33)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (49)..(55)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (63)..(63)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (68)..(71)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (73)..(73)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (77)..(77)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (79)..(79)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (84)..(84)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (86)..(86)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (96)..(97)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 5 <222> (99) .. (99)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 10 <222> (101)..(102)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 15 <222> (104) .. (105)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 20 <222> (124)..(124)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 25 <222> (134)..(134)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 30 <222> (136)..(136)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 35 <222> (138)..(140)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 40 <222> (145)..(145)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 45 <222> (150)..(150)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 50 <222> (156)..(157)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa
 55 <222> (165)..(165)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
 <220>
 <221> Xaa

- <222> (175)..(175)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5
<220>
<221> Xaa
<222> (188)..(188)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
<220>
<221> Xaa
<222> (194) .. (196)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
<220>
<221> Xaa
<222> (208)..(208)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
<220>
<221> Xaa
<222> (210)..(210)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
<220>
<221> Xaa
<222> (216)..(216)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
<220>
<221> Xaa
<222> (221)..(221)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
<220>
<221> Xaa
<222> (225)..(225)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
<220>
<221> Xaa
<222> (228)..(228)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
<220>
<221> Xaa
<222> (233)..(233)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
<220>
<221> Xaa
<222> (235) .. (239)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
<220>
<221> Xaa
<222> (244) .. (245)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>

- <221> Xaa
 <222> (248) .. (248)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5 <220>
 <221> Xaa
 <222> (254) .. (254)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10 <220>
 <221> Xaa
 <222> (258)..(258)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15 <220>
 <221> Xaa
 <222> (263)..(263)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20 <220>
 <221> Xaa
 <222> (265) .. (266)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25 <220>
 <221> Xaa
 <222> (268) .. (268)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30 <220>
 <221> Xaa
 <222> (270)..(270)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35 <220>
 <221> Xaa
 <222> (276)..(276)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40 <220>
 <221> Xaa
 <222> (278)..(279)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45 <220>
 <221> Xaa
 <222> (283) .. (283)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50 <220>
 <221> Xaa
 <222> (285)..(285)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55 <220>
 <221> Xaa
 <222> (288)..(288)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (290) .. (290)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (292)..(294)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (300)..(300)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (304)..(310)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (319)..(319)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (322)..(322)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (326)..(326)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (329) .. (329)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (334)..(334)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (336)..(337)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (341)..(341)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (343)..(343)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (347)..(347)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (358)..(358)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (361)..(362)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (365)..(365)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (376)..(376)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (381)..(381)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (383)..(384)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (386)..(386)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (390)..(390)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (393)..(393)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (401)..(405)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (408)..(409)

- <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
5 <222> (417)..(418)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
10 <222> (427)..(427)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
15 <222> (430)..(430)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
20 <222> (432)..(432)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
25 <222> (439)..(439)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
30 <222> (442) .. (442)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
35 <222> (455)..(455)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
40 <222> (457)..(457)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
45 <222> (460) .. (462)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
50 <222> (465)..(466)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa
55 <222> (469) .. (469)
<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
<221> Xaa

- <222> (471) .. (471)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (473)..(473)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (477) .. (477)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (481) .. (481)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (489) .. (489)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (493)..(493)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (500)..(500)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (503)..(503)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (509)..(510)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (518)..(518)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (529)..(529)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (533)..(534)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>

- <221> Xaa
 <222> (539) .. (539)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 5 <220>
 <221> Xaa
 <222> (557)..(557)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10 <220>
 <221> Xaa
 <222> (561)..(563)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15 <220>
 <221> Xaa
 <222> (565)..(565)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20 <220>
 <221> Xaa
 <222> (568)..(568)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25 <220>
 <221> Xaa
 <222> (573)..(573)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30 <220>
 <221> Xaa
 <222> (584)..(584)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35 <220>
 <221> Xaa
 <222> (587)..(587)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40 <220>
 <221> Xaa
 <222> (593)..(593)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45 <220>
 <221> Xaa
 <222> (599)..(599)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50 <220>
 <221> Xaa
 <222> (604)..(605)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55 <220>
 <221> Xaa
 <222> (613)..(613)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (620)..(621)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (626)..(626)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (628)..(628)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (635)..(635)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (637)..(638)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (640) .. (640)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (644)..(645)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (647)..(649)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (652)..(653)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (657)..(657)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (660)..(660)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 <222> (673)..(673)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

- 5
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (677)..(677)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 10
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (685)..(685)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 15
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (690)..(691)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 20
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (694)..(696)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 25
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (701) .. (701)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 30
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (705) .. (706)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 35
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (713)..(713)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 40
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (717)..(717)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 45
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (724)..(725)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 50
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (729) .. (729)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- 55
 <220>
 <221> Xaa
 <222> (732)..(733)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico
- <220>
 <221> Xaa
 <222> (747)..(747)

<223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 5 <222> (754)..(757)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 10 <222> (759) .. (760)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 15 <222> (762)..(764)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 20 <222> (766)..(766)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 25 <222> (772)..(772)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<220>
 <221> Xaa
 30 <222> (775)..(775)
 <223> Xaa es cualquier aminoácido o un enlace peptídico

<400> 39

ES 2 571 446 T3

Xaa Ile Xaa Asp Thr Asp Tyr Xaa Thr Xaa Asp Gly Xaa Pro Xaa Xaa
 1 5 10 15

Arg Ile Phe Xaa Lys Xaa Xaa Gly Glu Phe Xaa Xaa Xaa Tyr Asp Xaa
 20 25 30

Xaa Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile
 35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Arg His Gly Thr Val Xaa Thr
 50 55 60

Val Lys Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Xaa Lys Phe Leu Xaa Arg Xaa Val
 65 70 75 80

Glu Val Trp Xaa Leu Xaa Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Xaa
 85 90 95

Xaa Asp Xaa Ile Xaa Xaa His Xaa Xaa Val Ile Asp Ile Tyr Glu Tyr
 100 105 110

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Xaa Gly Leu Val Pro
 115 120 125

Met Glu Gly Asp Glu Xaa Leu Xaa Met Xaa Xaa Xaa Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

Xaa Tyr His Glu Gly Xaa Glu Phe Ala Glu Gly Xaa Xaa Leu Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Xaa Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Xaa Val
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Xaa Glu Met Ile Lys
 180 185 190

ES 2 571 446 T3

Arg Xaa Xaa Xaa Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Xaa
 195 200 205

Tyr Xaa Gly Asp Asn Phe Asp Xaa Ala Tyr Leu Lys Xaa Arg Cys Glu
 210 215 220

Xaa Leu Gly Xaa Asn Phe Ala Leu Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Glu
 225 230 235 240

Pro Lys Ile Xaa Xaa Met Gly Xaa Arg Phe Ala Val Glu Xaa Lys Gly
 245 250 255

Arg Xaa His Phe Asp Leu Xaa Pro Xaa Xaa Arg Xaa Thr Xaa Asn Leu
 260 265 270

Pro Thr Tyr Xaa Leu Xaa Xaa Val Tyr Glu Xaa Val Xaa Gly Gln Xaa
 275 280 285

Lys Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Glu Glu Ile Thr Thr Xaa Trp Glu Thr Xaa
 290 295 300

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Xaa Val
 305 310 315 320

Thr Xaa Glu Leu Gly Xaa Glu Phe Xaa Pro Met Glu Ala Xaa Leu Xaa
 325 330 335

Xaa Leu Val Gly Xaa Pro Xaa Trp Asp Val Xaa Arg Ser Ser Thr Gly
 340 345 350

Asn Leu Val Glu Trp Xaa Leu Leu Xaa Xaa Ala Tyr Xaa Arg Asn Glu
 355 360 365

Val Ala Pro Asn Lys Pro Ser Xaa Glu Glu Tyr Gln Xaa Arg Xaa Xaa
 370 375 380

Glu Xaa Tyr Thr Gly Xaa Phe Val Xaa Glu Pro Glu Lys Gly Leu Trp
 385 390 395 400

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Asp Xaa Xaa Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Ile
 405 410 415

Xaa Xaa His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Xaa Leu Glu Xaa Cys Xaa
 420 425 430

ES 2 571 446 T3

Asn Tyr Asp Ile Ala Pro Xaa Val Gly Xaa Lys Phe Cys Lys Asp Ile
 435 440 445

Pro Gly Phe Ile Pro Ser Xaa Leu Xaa His Leu Xaa Xaa Xaa Arg Gln
 450 455 460

Xaa Xaa Lys Thr Xaa Met Xaa Glu Xaa Gln Asp Pro Xaa Glu Lys Ile
 465 470 475 480

Xaa Leu Asp Tyr Arg Gln Lys Ala Xaa Lys Leu Leu Xaa Asn Ser Phe
 485 490 495

Tyr Gly Tyr Xaa Gly Tyr Xaa Lys Ala Arg Trp Tyr Xaa Xaa Glu Cys
 500 505 510

Ala Glu Ser Val Thr Xaa Trp Gly Arg Lys Tyr Ile Glu Leu Val Trp
 515 520 525

Xaa Glu Leu Glu Xaa Xaa Phe Gly Phe Lys Xaa Leu Tyr Ile Asp Thr
 530 535 540

Asp Gly Leu Tyr Ala Thr Ile Pro Gly Gly Glu Ser Xaa Glu Ile Lys
 545 550 555 560

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Phe Leu Xaa Tyr Ile Asn Ala Xaa Leu Pro Gly
 565 570 575

Ala Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Xaa Phe Tyr Xaa Arg Gly Phe Phe Val
 580 585 590

Xaa Lys Lys Lys Tyr Ala Xaa Ile Asp Glu Glu Xaa Xaa Ile Thr Thr
 595 600 605

Arg Gly Leu Glu Xaa Val Arg Arg Asp Trp Ser Xaa Xaa Ala Lys Glu
 610 615 620

Thr Xaa Ala Xaa Val Leu Glu Ala Leu Leu Xaa Asp Xaa Xaa Val Xaa
 625 630 635 640

Lys Ala Val Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Thr Glu Xaa Xaa Ser Lys Tyr
 645 650 655

Xaa Val Pro Xaa Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp
 660 665 670

Xaa Lys Asp Tyr Xaa Ala Thr Gly Pro His Val Ala Xaa Ala Lys Arg

ES 2 571 446 T3

	675		680		685											
	Leu	Xaa	Xaa	Arg	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Arg	Pro	Gly	Thr	Xaa	Ile	Ser	Tyr
	690					695						700				
	Xaa	Xaa	Leu	Lys	Gly	Ser	Gly	Arg	Xaa	Gly	Asp	Arg	Xaa	Ile	Pro	Phe
	705					710					715					720
	Asp	Glu	Phe	Xaa	Xaa	Thr	Lys	His	Xaa	Tyr	Asp	Xaa	Xaa	Tyr	Tyr	Ile
					725					730					735	
	Glu	Asn	Gln	Val	Leu	Pro	Ala	Val	Glu	Arg	Xaa	Leu	Arg	Ala	Phe	Gly
				740					745					750		
	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Gln	Xaa	Xaa	Xaa	Gln	Xaa	Gly	Leu
			755					760					765			
	Ser	Ala	Trp	Xaa	Lys	Pro	Xaa	Gly	Thr							
		770					775									

5 <210> 40
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Cebador

10 <400> 40

21 ttggaaca tctggagtcc t

15 <210> 41
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Cebador

<400> 41

25 21 gcccaaaggg aactgatagt c

<210> 42
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Cebador

<400> 42

35 17 gtttcccag tcacgac

ES 2 571 446 T3

<210> 43
 <211> 21
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 10 <400> 43

 21 ggtatcttta tagtcctgtc g

 <210> 44
 15 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Cebador

 <400> 44

 34 gtttcccag tcacgacgtt gtaaaacgac ggcc

 25 <210> 45
 <211> 775
 <212> PRT
 <213> Pyrococcus sp. GB-D

 30 <400> 45
 Met Ile Leu Asp Ala Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Ile Ile
 1 5 10 15

 Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Val Glu Tyr Asp Arg
 20 25 30

 Asn Phe Arg Pro Tyr Ile Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Gln Ile
 35 40 45

 Asp Glu Val Arg Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Lys Ile Val Arg
 50 55 60

 Ile Ile Asp Ala Glu Lys Val Arg Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Ile
 65 70 75 80

 Glu Val Trp Arg Leu Tyr Phe Glu His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile
 85 90 95

 Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Ser Ala Val Ile Asp Ile Phe Glu Tyr
 100 105 110

ES 2 571 446 T3

Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro
 115 120 125

Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Leu Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr
 130 135 140

Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Ala Lys Gly Pro Ile Ile Met Ile
 145 150 155 160

Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Lys Ile
 165 170 175

Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile Lys
 180 185 190

Arg Phe Leu Lys Val Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Val Ile Ile Thr
 195 200 205

Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Leu Pro Tyr Leu Val Lys Arg Ala Glu
 210 215 220

Lys Leu Gly Ile Lys Leu Pro Leu Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys
 225 230 235 240

Met Gln Arg Leu Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Ile Lys Gly Arg Ile
 245 250 255

His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr
 260 265 270

Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys Glu
 275 280 285

Lys Val Tyr Ala His Glu Ile Ala Glu Ala Trp Glu Thr Gly Lys Gly
 290 295 300

Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Val Thr Tyr
 305 310 315 320

Glu Leu Gly Arg Glu Phe Phe Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu
 325 330 335

Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu
 340 345 350

Val Glu Trp Tyr Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala

ES 2 571 446 T3

355	360	365
Pro Asn Lys 370	Pro Asp Glu Arg Glu Tyr 375	Arg Arg Leu Arg Glu Ser 380
Tyr Ala Gly Gly Tyr 385	Val Lys Glu Pro Glu Lys 390 395	Gly Leu Trp Glu Gly 400
Leu Val Ser 405	Leu Asp Phe Arg Ser 410	Ile Ile Ile Thr 415
His Asn Val 420	Pro Asp Thr Leu Asn Arg 425	Glu Gly Cys Arg Glu Tyr 430
Asp Val Ala 435	Pro Glu Val Gly His Lys 440	Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly 445
Phe Ile Pro 450	Ser Leu Leu Lys Arg 455	Leu Leu Asp Glu Arg Gln Glu Ile 460
Lys Arg Lys 465	Met Lys Ala Ser Lys Asp 470	Pro Ile Glu Lys Lys Met Leu 475 480
Asp Tyr Arg 485	Gln Arg Ala Ile Lys Ile 490	Leu Ala Asn Ser Tyr Tyr Gly 495
Tyr Tyr Gly 500	Tyr Ala Lys Ala Arg Trp 505	Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu 510
Ser Val Thr 515	Ala Trp Gly Arg Glu Tyr 520	Ile Glu Phe Val Arg Lys Glu 525
Leu Glu Glu 530	Lys Phe Gly Phe Lys Val 535	Leu Tyr Ile Asp Thr Asp Gly 540
Leu Tyr Ala 545	Thr Ile Pro Gly Ala Lys 550	Pro Glu Glu Ile Lys Lys Lys 555 560
Ala Leu Glu 565	Phe Val Asp Tyr Ile Asn 570	Ala Lys Leu Pro Gly Leu Leu 575
Glu Leu Glu 580	Tyr Glu Gly Phe Tyr Val 585	Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys 590
Lys Lys Tyr 595	Ala Leu Ile Asp Glu Glu 600	Gly Lys Ile Ile Thr Arg Gly 605

ES 2 571 446 T3

Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln
 610 615 620

Ala Lys Val Leu Glu Ala Ile Leu Lys His Gly Asn Val Glu Glu Ala
 625 630 635 640

Val Lys Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Ile
 645 650 655

Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile Tyr Glu Gln Ile Thr Arg Pro Leu His
 660 665 670

Glu Tyr Lys Ala Ile Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala
 675 680 685

Ala Arg Gly Val Lys Val Arg Pro Gly Met Val Ile Gly Tyr Ile Val
 690 695 700

Leu Arg Gly Asp Gly Pro Ile Ser Lys Arg Ala Ile Leu Ala Glu Glu
 705 710 715 720

Phe Asp Leu Arg Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn
 725 730 735

Gln Val Leu Pro Ala Val Leu Arg Ile Leu Glu Ala Phe Gly Tyr Arg
 740 745 750

Lys Glu Asp Leu Arg Trp Gln Lys Thr Lys Gln Thr Gly Leu Thr Ala
 755 760 765

Trp Leu Asn Ile Lys Lys Lys
 770 775

REIVINDICACIONES

1. Una ADN polimerasa quimérica que comprende la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 16, que contiene el dominio N-terminal, el dominio 3'-5' exonucleasa y el dominio de pulgar de polimerasa KOD y el dominio de la palma y los dedos de polimerasa Pfu.
2. Una ADN polimerasa quimérica que contiene una secuencia aminoacídica al menos un 95 % idéntica a la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 16 como se ha definido en la reivindicación 1, en la que la polimerasa quimérica está caracterizada con una mayor fidelidad que la polimerasa KOD y mayor capacidad de procesamiento, tasa de elongación, resistencia a la sal, termoestabilidad o tolerancia a TMAC que la polimerasa Pfu.
3. La ADN polimerasa quimérica de la reivindicación 2, en la que dicha ADN polimerasa quimérica contiene una secuencia aminoacídica al menos un 96 % idéntica a la SEQ ID NO: 16.
- 15 4. La ADN polimerasa quimérica de la reivindicación 2, en la que dicha ADN polimerasa quimérica contiene una secuencia aminoacídica al menos un 97 % idéntica a la SEQ ID NO: 16.
5. La ADN polimerasa quimérica de la reivindicación 2, en la que dicha ADN polimerasa quimérica contiene una secuencia aminoacídica al menos un 98 % o un 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 16.
- 20 6. Una secuencia nucleotídica que codifica una ADN polimerasa quimérica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
7. Un kit que comprende una ADN polimerasa quimérica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
- 25 8. Un vector o célula que comprende la secuencia nucleotídica de la reivindicación 6.
9. Uso de una ADN polimerasa quimérica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en un método de síntesis de ADN.
- 30 10. Uso de una ADN polimerasa quimérica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en un método de aplicación de un fragmento de ADN.

