

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 359**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 16/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2009** **E 13167714 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016** **EP 2630970**

54 Título: **Inmunoglobulina citotóxica**

30 Prioridad:

02.05.2008 EP 08450068

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

19.04.2017

73 Titular/es:

**F-STAR BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNGS-
UND ENTWICKLUNGSGES.M.B.H (100.0%)
Schwarzenbergplatz 7
1030 Vienna, AT**

72 Inventor/es:

**HIMMLER, GOTTFRIED;
MUDDE, GEERT;
BAUER, ANTON;
REDL, GERDA;
RUEKER, FLORIAN;
WOZNIAK-KNOPP, GORDANA y
WOISETSCHLAEGER, MAXIMILIAN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 609 359 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

Inmunoglobulina citotóxica

5 La invención se refiere a una inmunoglobulina citotóxica.

Los anticuerpos monoclonales se han usado ampliamente como agentes de unión terapéuticos. La estructura básica de los anticuerpos se explicará en el presente documento usando como ejemplo una inmunoglobulina IgG1 intacta.

10 Dos cadenas pesadas (H) idénticas y dos cadenas ligeras (L) idénticas se combinan para formar la molécula de anticuerpo con forma de Y. Cada una de las cadenas pesadas tiene cuatro dominios. Los dominios variables (VH) en el extremo amino son las puntas de la Y. A estos les siguen tres dominios constantes: CH1, CH2 y el dominio CH3 en el extremo carboxi, en la base del tallo de la Y. Un tramo corto, la zona de intercambio, conecta las regiones variable y constante de la cadena pesada. La bisagra conecta CH2 y CH3 (el fragmento Fc) con el resto del anticuerpo (los fragmentos Fab). Mediante escisión proteolítica de la bisagra en una molécula de anticuerpo intacta se pueden producir un fragmento Fc y dos fragmentos Fab idénticos. Las cadenas ligeras están formadas por dos dominios, el variable (VL) y el constante (CL), separados por una zona de intercambio.

20 Los puentes disulfuro en la región de bisagra conectan las dos cadenas pesadas. Las cadenas ligeras se acoplan a las cadenas pesadas mediante puentes disulfuro adicionales. Los restos de hidrato de carbono unidos por Asn están unidos en diferentes posiciones en los dominios constantes en función de la clase de inmunoglobulina. Para la IgG1, dos puentes disulfuro en la región de bisagra, entre los pares Cys235 y Cys238, unen las dos cadenas pesadas. Las cadenas ligeras se acoplan a las cadenas pesadas mediante dos puentes disulfuro adicionales, entre las Cys229 en los dominios CH1 y las Cys214 en los dominios CL. Los restos de hidrato de carbono están unidos a la Asn306 de cada CH2 de modo que se genera un saliente pronunciado en el tallo de la Y.

30 Estas características tienen profundas consecuencias funcionales. Las regiones variables de las cadenas tanto pesadas como ligeras (VH) y (VL) residen en las "puntas" de la Y, en las que están colocadas para reaccionar con el antígeno. Esta punta de la molécula es el lateral sobre el cual se localiza el extremo N de la secuencia de aminoácidos. El tallo de la Y se proyecta de un modo para mediar con eficacia en las funciones efectoras, tales como la activación del complemento y la interacción con los receptores Fc, o ADCC y ADCP. Sus dominios CH2 y CH3 sobresalen para facilitar la interacción con las proteínas efectoras. El extremo C de la secuencia de aminoácidos se localiza en el lado opuesto de la punta, que puede denominarse "parte inferior" de la Y.

35 En los anticuerpos se encuentran dos tipos de cadenas ligeras, denominadas lambda (λ) y kappa (κ). Una inmunoglobulina dada tiene cadenas κ o cadenas λ , nunca una de cada. No se han encontrado diferencias funcionales entre los anticuerpos que tienen cadenas λ o κ .

40 Cada dominio en una molécula de anticuerpo tiene una estructura similar de dos láminas beta empaquetadas fuertemente una contra otra en un barril beta antiparalelo comprimido. Esta estructura conservada se denomina el pliegue de la inmunoglobulina. El pliegue de la inmunoglobulina de los dominios constantes contiene una lámina de 3 hebras empaquetada contra una lámina de 4 hebras. El pliegue se estabiliza con puentes de hidrógeno entre las hebras beta de cada lámina, mediante enlaces hidrófobos entre los restos de las láminas opuestas en el interior y mediante un puente disulfuro entre las láminas. La lámina de 3 hebras comprende hebras C, F y G, y la lámina de 4 hebras tiene hebras A, B, E y D. Las letras A a G indican las posiciones secuenciales de las hebras beta a lo largo de la secuencia de aminoácidos del pliegue de inmunoglobulina.

50 El pliegue de los dominios variables tiene 9 hebras beta dispuestas en dos láminas de 4 y 5 hebras. La lámina de 5 hebras es estructuralmente homóloga a la lámina de 3 hebras de los dominios constantes, pero contiene las hebras adicionales C' y C''. El resto de las hebras (A, B, C, D, E, F, G) tienen la misma topología y una estructura similar a la de sus homólogos en los pliegues de inmunoglobulina del dominio constante. Un enlace disulfuro une las hebras B y F en láminas opuestas, como en los dominios constantes.

55 Los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas contienen tres bucles hipervariables, o regiones determinantes de la complementariedad (CDR). Las tres CDR de un dominio V (CDR1, CDR2, CDR3) se agrupan en un extremo del barril beta. Las CDR son bucles que conectan las hebras beta B-C, C'-C'' y F-G del pliegue de inmunoglobulina. Los restos en las CDR varían de una molécula de inmunoglobulina a la siguiente, de modo que se confiere especificidad a cada anticuerpo.

60 Los dominios VL y VH en las puntas de las moléculas de anticuerpo están estrechamente empaquetados de modo que las 6 CDR (3 en cada dominio) colaboran en la construcción de una superficie (o cavidad) para la unión específica de antígeno. Por lo tanto, el sitio de unión al antígeno natural de un anticuerpo está compuesto por los bucles que conectan las hebras B-C, C'-C'' y F-G del dominio variable de la cadena ligera y las hebras B-C, C'-C'' y F-G del dominio variable de la cadena pesada.

65

Los bucles que no son bucles CDR en una inmunoglobulina nativa o que no forman parte de la cavidad de unión a antígeno determinada por los bucles CDR y, opcionalmente, bucles adyacentes dentro de la región del bucle CDR, no tienen especificidad de unión a antígeno o de unión a epitopo, pero contribuyen al correcto plegamiento de la totalidad de la molécula de inmunoglobulina y/o su función efectora o de otro tipo y, por lo tanto, se denominan bucles estructurales para los fines de la presente invención.

Ciertos documentos de la técnica anterior muestran que, hasta ahora, se ha usado el armazón de tipo inmunoglobulina con el fin de manipular el sitio de unión a antígeno existente, de modo que se introducen nuevas propiedades de unión. En la mayoría de los casos, las regiones CDR se han modificado mediante ingeniería para la unión al antígeno, en otras palabras, en el caso del pliegue de inmunoglobulina, solo el sitio de unión a antígeno natural se ha modificado con el fin de cambiar la afinidad o especificidad de unión. Existe una gran cantidad de bibliografía que describe diferentes formatos de dichas inmunoglobulinas manipuladas, con frecuencia expresadas en forma de fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o fragmentos Fab, expresados sobre la superficie de partículas de fagos o expresados de forma soluble en diversos sistemas de expresión procariotas o eucariotas.

El documento WO06/072620A1 describe un procedimiento de modificación por ingeniería de una inmunoglobulina que comprende una modificación en una región de bucle estructural para obtener nuevos sitios de unión a antígeno. Este procedimiento es ampliamente aplicable a las inmunoglobulinas y se puede usar para producir una biblioteca de inmunoglobulinas dirigidas a diversos antígenos. Se ha demostrado que una biblioteca de CH3 es útil para seleccionar agentes de unión específicos de un antígeno.

El documento WO08/003103A2 describe la selección (panning) de una biblioteca de CH3, CH1 o CL en un péptido sintético, que representa un mimotopo del antígeno CD20.

En la técnica se han propuesto varias bibliotecas de inmunoglobulina para obtener agentes de unión específicos de inmunoglobulinas. La técnica anterior, por lo general, hace referencia a la expresión monovalente monomérica de dominios de unión. El documento WO9209690A2 describe partículas de fagémido que muestran una única copia de una proteína de fusión sobre la superficie de la partícula. De este modo, se describió la obtención de agentes de unión de alta afinidad a partir de una biblioteca de partículas de fagémido, también denominados bacteriófagos. Se proporcionan vectores de expresión replicables que comprenden genes que codifican un polipéptido de unión y una proteína de la cubierta del fago, para formar una fusión génica que codifica una proteína de fusión, que es una proteína quimérica de una partícula de fagémido, la proteína de la cubierta del fago y el polipéptido de unión.

El documento US5223409 describe, en general, el procedimiento de fusión de un gen que codifica una proteína de interés al dominio en el extremo N de la proteína de la cubierta III génica del fago filamentoso M13. La fusión génica se muta para formar una biblioteca de proteínas de fusión relacionadas estructuralmente que se expresan en cantidad baja sobre la superficie de una partícula de fagémido. Se usan selección y detección selectiva biológicas para identificar ligandos nuevos útiles como candidatos a fármacos.

Sin embargo, existen algunas limitaciones al uso de dicho "fago de fusión" o presentación en fago monovalente y las respectivas proteínas de fusión únicas. Muchos agentes biológicos están en la naturaleza en forma oligomérica. Para los fines de la presente invención, oligomérico significa dímérico, trimérico o incluso formas poliméricas superiores, de hasta 24 monómeros.

Se ha descrito que los fagos de fusión de acuerdo con la técnica anterior presentan proteínas de fusión monoméricas, principalmente porque se creía que los agentes de unión de afinidad más alta solo se podían seleccionar de una biblioteca si las partículas de fagémido presentaban proteínas de fusión sencillas. No obstante, las proteínas nativas a menudo se ensamblan como un dímero o incluso en un grado de oligomerización más alto. Para obtener presentación dímérica con una proteína de fusión sencilla, se han desarrollado algunas técnicas que implican codones de terminación condicionales localizados entre la proteína de la cubierta y el polipéptido de unión (Dall'Acqua et al. *The Journal of Immunology*, 2002, 169: 5171-5180). De este modo, se expresan monómeros solubles de los polipéptidos además de los fusionados al fago, y se permite de esta manera la formación de un dímero. Sin embargo, dichos codones de terminación requieren la propagación en células hospedadoras supresoras específicas que puedan traducir un codón de terminación en un aminoácido, para proporcionar una cantidad adecuada de proteínas de fusión además de los polipéptidos de unión solubles.

Las proteínas de fusión de la técnica anterior implican, en algunos casos, secuencias enlazadoras para presentar polipéptidos de unión más grandes. Normalmente se usan secuencias enlazadoras de hasta 24 aminoácidos con fines convencionales de presentación de dominios variables de un anticuerpo. Véase, por ejemplo, el vector de expresión pCOMB3x (Hybrid. *Hybridomics*. Abr 2003;22(2):97-108. Development of functional human monoclonal single-chain variable fragment antibody against HIV-1 from human cervical B cells. Berry JD, Rutherford J, Silverman GJ, Kaul R, Elia M, Gobuty S, Fuller R, Plummer FA, Barbas CF).

Las inmunoglobulinas basadas en IgG1 de longitud completa se han usado ampliamente para tratar a los pacientes que padecen tumores sólidos, en particular, los que sobreexpresan un receptor de la clase erbB. Entre estos receptores están e EGFR (Her1), Her2, Her2neu, Her3 y Her4.

Herceptin (trastuzumab, humAb4D5) es un producto basado en un anticuerpo monoclonal para usar en la terapia del cáncer de mama. El anticuerpo Herceptin es específico del epítipo 4D5 del dominio extracelular HER2 de her2neu (también denominado c- erbB-2 o MAC117).

5 El "dominio extracelular de HER2" O "DEC HER2" se refiere a un dominio de HER2 que está fuera de la célula, anclado a una membrana celular, o en circulación, incluyendo fragmentos del mismo. El dominio extracelular de HER2 puede comprender cuatro dominios: "Dominio I" (restos de aminoácido de aproximadamente 1-195 "Dominio II" (restos de aminoácido de aproximadamente 196-319), "Dominio III" (restos de aminoácido de aproximadamente 320-488) y
10 "Dominio IV" (restos de aminoácido de aproximadamente 489-630) (numeración de restos sin péptido señal).

El "epítipo 4D5" es la región en el dominio extracelular de HER2 a la que se une el anticuerpo 4D5 (ATCC CRL 10463) y el trastuzumab. Este epítipo está cerca del dominio transmembrana de HER2 y dentro del dominio IV de HER2. El epítipo 4D5 de HER2 abarca uno cualquiera o más restos en la región desde aproximadamente el resto 529 hasta
15 aproximadamente el resto 625, incluido el DEC de HER2, incluyendo la numeración de restos el péptido señal.

El EGFR es una glicoproteína monomérica grande (1.186 restos) con una única región transmembrana y un dominio tirosina quinasa citoplasmático flanqueado por regiones reguladoras no catalíticas. Los análisis de secuencia han mostrado que el ectodominio (restos 1-621) contiene cuatro subdominios denominados en el presente documento L1, CR1, L2 y CR2, en los que L y CR son acrónimos de grande (*large*) y rico en cisteína (CR), respectivamente. Los dominios L1 y L2 también se han denominado dominios I y III, respectivamente. Los dominios CR también se han denominado anteriormente dominios II y IV, o S1.1-S1.3 y S2.1-S2.3, en los que S es la abreviatura de pequeño (*small*).

25 Se han desarrollado mAb (anticuerpos monoclonales) contra el dominio externo del EGFR que rompen la unión del ligando al receptor y la posterior transducción de señales. Se han caracterizado tres anticuerpos de bloqueo específicos de EGFR con mayor detalle *in vitro* y en la actualidad se usan en estudios clínicos; estos son mAbC225 (ERBITUX/cetuximab), mAb425 (EMD72000) y el MAb humano ABX-EGF. C225 (Cetuximab/Erbitux) está aprobado por la FDA para el cáncer colorrectal metastásico y el mAb425 (EMD59000), cuya versión humanizada (EMD72000)
30 está actualmente en ensayos clínicos de fase II, para diversos tumores sólidos que expresan EGFR. C225 se une a distintos epítopos en el dominio extracelular de EGFR. Se ha demostrado la unión independiente de ambos anticuerpos al receptor de tipo silvestre y al receptor mutante (EGFRvIII), que principalmente se expresa en células tumorales. Cetuximab interacciona exclusivamente con el dominio III de la región extracelular de EGFR (sEGFR), de modo que obstruye particularmente la región de unión al ligando sobre este dominio e impide estéricamente la dimerización del
35 receptor.

El receptor mutante del EGF de origen espontáneo se demostró por primera vez en el glioblastoma. Conocido como EGFRvIII, esta molécula representa una delección de los exones 2 a 7 en el dominio extracelular del receptor del EGF. Esto elimina 273 aminoácidos y crea una nueva glicina en la unión de la fusión. El EGFRvIII (denominado según los
40 casos 2-7 EGFR o delta EGFR) tiene una delección en fase del dominio extracelular y se encuentra en numerosos tipos de tumores humanos.

El documento WO9720858A1 se refiere a anticuerpos anti-Her2 que inducen la apoptosis en células que expresan Her2. Por tanto, los anticuerpos monoclonales (mAb) que se unen a Her2 se generan inmunizando ratones con Her2
45 soluble purificado.

El documento WO06087637A2 se refiere a anticuerpos que reconocen Her2/neu y ejercen un efecto antiproliferativo sobre las células que expresan Her2/neu. Este documento describe un anticuerpo aislado o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular, el fragmento Fab humano y el fragmento scFv, capaces de unirse específicamente a Her2neu, aunque sin actividad citotóxica.
50

El documento WO01/01748 describe a una fusión de péptido:Fc capaz de unirse a HER2.

Algunas revelaciones de la técnica anterior se refieren a formatos de anticuerpo con potencial para inhibir el crecimiento tumoral, en ausencia de actividades citotóxicas tales como ADCC.
55

Rovers et al. (Cancer Immunol. Immunother. (2007) 56:303-317) describen nanocuerpos anti-EGFR con potencial para inhibir el crecimiento de células tumorales.

60 El documento WO03/075840A2 desvela anticuerpos que se unen a KDR con una afinidad comparable o superior a la que muestran por el VEGF humano y que neutralizan la activación de KDR, entre ellos los Fab monovalentes que neutralizan la activación de KDR, de modo que inhiben la angiogénesis y el crecimiento tumoral.

Se han propuesto otros fragmentos de inmunoglobulina para terapia humana.
65

La solicitud de patente WO06036834A2 describe un péptido biológicamente activo incorporado como secuencia

interna en la región de bucle de un dominio Fc; la memoria descriptiva se refiere a una molécula cuya secuencia peptídica interna se puede añadir mediante inserción o sustitución de aminoácidos en el dominio Fc existente previamente. Un péptido de ejemplo está dirigido a p185HER2/neu.

- 5 Park et al Nat. Biotechnol. (2000) 18(2):194-8 han descrito péptidos dirigidos a Her2/neu. Aunque las afinidades de unión al péptido normalmente están en el límite inferior con una K_D superior a 10^{-6} M, el mimético peptídico exocíclico anti-HER2/neu descrito ejerció una afinidad anormalmente alta ($K_D=300$ nM).

10 El documento WO01/01748A2 describe compuestos peptídicos que se unen al producto génico erbB2 humano con afinidades de unión bajas. Se ensayó una proteína de fusión péptido de ejemplo-Fc dirigida a erbB2 en ensayos de unión competitiva, en los que se usaron como competidores una cantidad baja del mismo tipo de péptidos, obteniéndose como resultado un valor de CI50 bajo que, sin embargo, no sería indicativo de un valor de K_D o de CE50, como se determina en un ensayo de saturación.

15 El objetivo de la presente invención es proporcionar mejores productos de inmunoglobulinas que se unan a las superficies celulares.

El objetivo se logra con la materia sujeto conforme a lo reivindicado.

20 Sumario de la Invención

La presente invención es tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

25 La presente invención se refiere a un anticuerpo modular citotóxico con un peso molecular de hasta 60 kD, que se une específicamente a una superficie celular diana con una afinidad de unión de $K_D < 10^{-8}$ M, preferentemente en el intervalo nanomolar o inferior. El anticuerpo modular de alta afinidad es, por tanto, de pequeño tamaño con la ventaja de una fácil penetración a través de una capa de células o tumor, para efectuar la lisis celular o la muerte celular en el sitio en el que se sobreexpresa la diana. Como alternativa, el anticuerpo modular puede tener una $CI50 < 10^{-8}$ M, como se determina en un ensayo de unión de saturación.

30 El anticuerpo modular de acuerdo con la invención ejerce preferentemente al menos una de las actividades ADCC, ADCP, CDC o apoptótica.

35 La actividad citotóxica del anticuerpo modular de acuerdo con la invención está determinada, preferentemente, por sus funciones efectoras, medidas mediante al menos una de las actividades ADCC, ADCP y CDC.

40 El anticuerpo modular puede ser un oligómero de dominios del anticuerpo modular, en particular un oligómero de dominios de inmunoglobulina, o un fragmento de una inmunoglobulina de longitud completa. El anticuerpo puede ser un dímero de Fc, o una cadena sencilla del mismo.

45 El anticuerpo modular de acuerdo con la invención contiene al menos un sitio de unión dentro de una región de bucle estructural. Por lo tanto, la unión a una diana o a un ligando funcional, tal como una molécula efectora, que en casos preferidos también es un ligando estructural, es posible incluso a través de una inmunoglobulina sin región CDR, o en un sitio además de una región CDR.

De acuerdo con una realización, el sitio de unión con especificidad por un ligando funcional o un ligando estructural puede estar dentro de la región de bucle CDR y el sitio de unión de la diana en la superficie celular localizado en una región bucle estructural.

50 El anticuerpo modular de acuerdo con la invención tiene propiedades de unión específicas para la unión. Los anticuerpos modulares preferidos de acuerdo con la invención se proporcionan para usarse en el tratamiento de pacientes que padecen un tumor sólido, expresando el tumor un receptor de la clase erbB, como se expone en las reivindicaciones.

55 Los anticuerpos modulares anti-Her2 pueden contener una secuencia de aminoácidos dentro del bucle EF de una región de bucle estructural, seleccionándose dicha secuencia del grupo que consiste en los números de SEQ. ID. Indicados en las tablas 4 y 5, que están opcionalmente contenidas en un bucle EF y/o AB y/o CD.

60 Aunque había una prolongada necesidad de anticuerpos altamente eficaces, pero de pequeño tamaño, por primera vez fue posible obtener un anticuerpo modular de este tipo de acuerdo con la invención, usando una biblioteca de dominios de anticuerpo modular, en particular una biblioteca de un oligómero de dominios de anticuerpo modular que se unen a un ligando efector. Determinados miembros de dicha biblioteca tienen ambas propiedades, la unión a la diana y la unión al ligando efector, como requisito previo para la citotoxicidad biológica o citolisis. También se prefiere que el formato de un armazón de anticuerpo modular no se modifique al producir variantes y bibliotecas de dicho armazón, de manera que los miembros de la biblioteca sigan manteniendo el formato funcional como determina la unión a un ligando de armazón.

También se describe un método para producir un anticuerpo modular, que comprende las etapas de:

- 5 a. proporcionar una biblioteca de un oligómero de dominios de anticuerpo modular,
- b. poner en contacto dicha biblioteca con dicha diana en presencia de un ligando efector,
- c. seleccionar un miembro de la biblioteca que tenga ambas propiedades,
 - 10 (i) afinidad por la unión a la diana de $K_d < 10^{-8}$ M o $CI_{50} < 10^{-8}$ M, y
 - (ii) actividad citotóxica, y
- d. fabricar una preparación del anticuerpo modular,

Los métodos de selección proporcionan la unión simultánea de ambos, la diana y el ligando efector, que supone una ventaja para una citólisis eficaz. La unión simultánea se determina, preferentemente, en un ensayo basado en células, con diferenciación bidimensional, por ejemplo, en un sistema de FACS.

Los miembros de la biblioteca contienen una secuencia de anticuerpo aleatorizada, en la que el sitio de mutagénesis está dentro de la región de bucle estructural, que potencialmente incluye una secuencia terminal.

20 La biblioteca puede producirse de acuerdo con un diseño que proporciona la mutagénesis aparte de los sitios de unión que interaccionan con el ligando efector. Por lo tanto, preferentemente se usa una biblioteca de calidad elevada, como se determina mediante medidas de control de la calidad usando ensayos de unión a la molécula efectora o unión al ligando estructural.

25 El método puede comprender además la etapa de maduración de la afinidad para aumentar la afinidad de unión por la diana de la superficie celular. Esta maduración de la afinidad se realiza, preferentemente, mediante mutagénesis de una inmunoglobulina seleccionada que tiene una especificidad de unión determinada para unirse a la diana, sin producir reacciones cruzadas con las proteínas control, pero que sigue teniendo una afinidad media o baja. Preferentemente, también se mutageniza un miembro de la biblioteca que tiene una afinidad de unión con una CI_{50} o $K_d < 10^{-6}$ M para proporcionar un agente de unión de afinidad madurada o un conjunto de dichos agentes de unión, es decir, una biblioteca de agentes de unión de afinidad madurada con una afinidad mayor con una CI_{50} o $K_d < 10^{-7}$ M, preferentemente con una CI_{50} o $K_d < 10^{-8}$ M, o incluso en el intervalo nanomolar o inferior. En este caso, se prefiere que el anticuerpo modular de acuerdo con la invención siga siendo funcional con respecto a su efecto citotóxico.

35 También se desvela un método de preparación de un anticuerpo modular de acuerdo con la invención para tratar a un paciente que padece un tumor sólido, en el que el tumor expresa un receptor de la clase erbB.

El anticuerpo modular de acuerdo con la invención es, preferentemente, para usarse en el tratamiento de un paciente que padece un tumor sólido, en el que el tumor expresa un receptor de la clase erbB, como se expone en las reivindicaciones.

Figuras:

Figura 1:

45 Presentación esquemática de las PCR usadas para la producción de los fragmentos usados para ensamblar la biblioteca Fcab01. Los cebadores de la PCR están indicados por flechas con su respectiva orientación 5'-3', y las líneas verticales indican las posiciones aproximadas de los sitios de restricción introducidos que se usaron para el ensamblaje del gen mutado. Los sitios de restricción están contenidos en los cebadores para el ligamiento de los fragmentos de la PCR.

Figura 2:

55 Secuencia de aminoácidos y estructura secundaria de un dominio CH3 (IMGT, numeración). El esquema de aleatorización se proporciona para las bibliotecas Fcab01 a Fcab06. Las posiciones aleatorizadas en el bucle AB y EF están marcadas con un círculo. X representa los 20 aminoácidos, z es solo Ala, Asp, Ser, Tyr.

Figura 3:

60 Estructura cristalina de un fragmento Fc de IgG1 (secuencia de aminoácidos)

Figura 4:

65 IgG humana que incluye modificaciones de aminoácidos aleatorizadas (secuencia de aminoácidos)

Figura 5:

Secuencia de aminoácidos de FcabRGD4L (secuencia de aminoácidos)

Figura 6:

5 vector pHENFcabRGD4 (secuencia de nucleótidos)

Figura 7:

10 vector pHENFcabRGD4L (secuencia de nucleótidos)

Figura 8 (SEQ ID No. 15):

15 vector pYD1 dX (secuencia de nucleótidos)

Figura 9 (SEQ ID No. 16):

vector pYD1 dXFc (secuencia de nucleótidos)

20 Figura 10 (SEQ ID No. 17):

pYD1CH12 (secuencia de nucleótidos)

Figura 11 (SEQ ID No. 18):

25 Fcab01 (secuencia de nucleótidos)

Figura 12 (SEQ ID No. 19):

30 Fcab02 (secuencia de nucleótidos)

Figura 13 (SEQ ID No. 20):

35 Fcab03 (secuencia de nucleótidos)

Figura 14 (SEQ ID No. 21):

Fcab04 (secuencia de nucleótidos)

40 Figura 15 (SEQ ID No. 22):

Fcab05 (secuencia de nucleótidos)

Figura 16 (SEQ ID No. 23):

45 Fcab06 (secuencia de nucleótidos)

Figura 17 (SEQ ID No. 72):

50 vector pYD1 (secuencia de nucleótidos)

Figura 18 (SEQ ID No. 73):

55 vector pYD1 Nhe modificado (secuencia de nucleótidos)

Figura 19 (SEQ ID No. 74):

vector pYD1Ink (secuencia de nucleótidos)

60 Figura 20 (SEQ ID No. 75):

vector pYD1 mata (secuencia de nucleótidos)

Figura 21 (SEQ ID No. 76):

65 vector pYD1gal (secuencia de nucleótidos)

Figura 22 (SEQ ID No. 77):

4D5H (secuencia de nucleótidos)

Figura 23 (SEQ ID No. 78):

4D5L (secuencia de nucleótidos)

Figura 24 (SEQ ID No. 79):

vector pYD4D5hc (secuencia de nucleótidos)

Figura 25 (SEQ ID No. 80):

4D5hp (secuencia de aminoácidos)

Figura 26 (SEQ ID No. 81):

vector pYD4D5hl (secuencia de nucleótidos)

Figura 27 (SEQ ID No. 82):

4D5hp (secuencia de aminoácidos)

Figura 28 (SEQ ID No. 427):

plásmido pYD1dX_dCH1dCH3_Fcab_wt (secuencia de nucleótidos)

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Los términos específicos, como se usan a lo largo de la memoria descriptiva, tienen los significados siguientes.

El término "inmunoglobulina", como se usa de acuerdo con la presente invención, se define como polipéptidos o proteínas que pueden presentar propiedades de unión mono-, bi- o multiespecíficas, o mono-, bi- o multivalentes, preferentemente al menos dos, más preferentemente al menos tres sitios de unión específicos para epítopos de, por ejemplo, antígenos, moléculas efectoras o proteínas de origen patógeno o de estructura humana, como autoantígenos que incluyen proteínas asociadas a células o séricas. El término inmunoglobulina, como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos funcionales de un anticuerpo, tales como Fc, Fab, scFv, dímeros monocatenarios de los dominios CH1/CL, Fv, dímeros como VH/VL, CH1/CL, CH2/CH2, CH3/CH3, u otros derivados o combinaciones de las inmunoglobulinas, tales como cadenas sencillas de pares de dominios de inmunoglobulina. La definición también incluye dominios de las cadenas pesadas y ligeras de la región variable (tales como dAb, Fd, VI, Vk, Vh, VHH) y la región constante o dominios individuales de un anticuerpo intacto, tal como CH1, CH2, CH3, CH4, CI y Ck, así como minidominios que consisten en al menos dos hebras beta de un dominio de inmunoglobulina conectado por un bucle estructural.

"Anticuerpos modulares", como se usan en el presente documento, se definen como moléculas de unión a antígeno, como anticuerpos humanos, compuestas por al menos un módulo polipeptídico o dominio proteico, preferentemente en la forma natural. La expresión "anticuerpos modulares" incluye moléculas de unión a antígeno que son inmunoglobulinas, proteínas similares a inmunoglobulinas u otras proteínas que exhiben formatos modulares y propiedades de unión a antígeno similares a las inmunoglobulinas o anticuerpos, que se pueden usar como armazones de unión a antígeno, preferentemente basados en proteínas humanas.

La expresión "molécula similar a inmunoglobulina", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier proteína de unión a antígeno, en particular a una proteína humana, que tiene una estructura de dominio que puede construirse de una forma modular. Las moléculas similares a inmunoglobulinas pueden ser receptores de linfocitos T (TCR) o partes solubles de los mismos, fibronectina, transferrina, CTLA-4, receptores antigénicos monocatenarios, por ejemplo los relacionados con los receptores de linfocitos T y anticuerpos, miméticos de anticuerpos, adnectinas, anticalinas, filómeros, proteínas de repetición tales como repeticiones de anquirina, avímeros, Versabodies™, moléculas basadas en la toxina del escorpión y otros armazones proteicos que no son anticuerpos con propiedades de unión a antígeno.

Las repeticiones de anquirina (AR), repeticiones de armadillo (ARM), repeticiones ricas en leucina (LRR) y repeticiones de tetratricopéptidos (TPR) son los miembros más importantes de la clase proteica de proteínas con repeticiones. Las

proteínas con repeticiones están compuestas por unidades estructurales homólogas (repeticiones) que se apilan para formar dominios alargados. La interacción de unión normalmente está mediada por varias repeticiones adyacentes, lo que conduce a superficies de interacción con la diana grandes.

5 Los avímeros contienen dominios A como cuerdas de múltiples dominios en diversos receptores de superficie celular. Los dominios de esta familia se unen de forma natural sobre 100 dianas conocidas diferentes, incluyendo moléculas pequeñas, proteínas y virus. El análisis del truncamiento ha mostrado que una diana normalmente se pone en contacto mediante múltiples dominios A con cada dominio de unión de forma independiente a un epítipo único. La avidéz
10 generada combinando múltiples dominios de unión es un potente abordaje para incrementar la afinidad y la especificidad, que estos receptores han explotado durante la evolución.

Las anticalinas son proteínas humanas modificadas que derivan del armazón de la lipocalina con propiedades de unión prescritas típicas de los anticuerpos humanizados. Las lipocalinas comprenden 160-180 aminoácidos y forman
15 proteínas de barril beta, cónicas, con una cavidad de unión a ligando rodeada de cuatro bucles. Los ligandos naturales de las lipocalinas son compuestos hidrófobos pequeños y se han podido aislar diferentes variantes de la lipocalina con nuevas especificidades del compuesto (también denominadas "anticalinas") después de aleatorizar los restos en esta cavidad de unión.

20 Los receptores antigénicos monocatenarios contienen un único dominio variable y son un 20 % más pequeños que los anticuerpos de dominio único de los camélidos.

Los filómeros son péptidos derivados de fragmentos proteicos naturales biodiversos.

25 Se entiende que la expresión "anticuerpo modular", "inmunoglobulina" y "proteínas similares a inmunoglobulina" incluye también un derivado de los mismos. Un derivado es cualquier combinación de uno o más anticuerpos modulares de la invención y o una proteína de fusión en la que cualquier dominio o minidominio del anticuerpo modular de la invención se puede fusionar en cualquier posición de una o más de otras proteínas (tales como otros anticuerpos modulares, inmunoglobulinas, ligandos, proteínas armazón, enzimas, toxinas y similares). Un derivado del anticuerpo
30 modular de la invención también se puede obtener mediante asociación o unión a otras sustancias mediante varias técnicas químicas, tales como acoplamiento covalente, interacción electrostática, puentes disulfuro etc. Las otras sustancias unidas a las inmunoglobulinas pueden ser lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, moléculas orgánicas e inorgánicas, o cualquier combinación de las mismas (p. ej., PEG, profármacos o fármacos). Un derivado también comprendería un anticuerpo con la misma secuencia de aminoácidos, pero formado completa o parcialmente por
35 aminoácidos no naturales o modificados químicamente. El término derivado también incluye fragmentos y equivalentes funcionales. Los derivados preferidos todavía son funcionales con respecto a la unión a la diana y a la actividad citotóxica.

40 Un "bucle estructural" o un "bucle no CDR", como se usa en el presente documento, debe entenderse del siguiente modo: los anticuerpos modulares, inmunoglobulinas o sustancias similares a inmunoglobulinas están formadas por dominios con un denominado pliegue de inmunoglobulina. En esencia, las láminas beta antiparalelas están conectadas por bucles para formar un barril beta antiparalelo comprimido. En la región variable, algunos de los bucles de los dominios contribuyen esencialmente a la especificidad del anticuerpo, es decir, la unión a un antígeno mediante el sitio de unión natural de un anticuerpo. Estos bucles se denominan bucles CDR. Los bucles CDR se localizan dentro de la región de bucle CDR que, en algunos casos, puede también incluir parte de la región marco variable
45 (denominada "VFR"), que está adyacente a los bucles CDR. Se sabe que algunos bucles de la VFR pueden contribuir a la cavidad de la unión a antígeno de un anticuerpo, que por lo general está determinada principalmente por los bucles CDR. Por lo tanto, dichos bucles VFR se consideran parte de la región bucle CDR, y no se usarían adecuadamente para modificar por ingeniería los nuevos sitios de unión a antígeno. Los bucles al lado de la cavidad de unión a antígeno o región de bucle CDR normalmente se denominan bucles estructurales o bucles no CDR. Al contrario que la VFR dentro de la región bucle CDR, o localizada cerca de los bucles CDR, otros bucles de la VFR de los dominios variables se considerarían bucles estructurales. Estos son, preferentemente, los bucles estructurales de la VFR localizada en oposición a la región de bucle CDR, o en el lado C-terminal de un dominio de inmunoglobulina variable. Los dominios constantes tienen bucles estructurales dentro de una región bucle estructural, por ejemplo, en el lado en C-terminal de un dominio de anticuerpo o en el lado N-terminal, incluso dentro de una cadena lateral de un dominio de
50 anticuerpo. Los dominios constantes también se denominan parte de la región marco.

55 El término "antígeno" o "diana", como se usa en el presente documento, incluirá, en particular, todos los antígenos y moléculas diana que pueden reconocerse por un sitio de unión de un anticuerpo modular. Son antígenos específicamente preferidos como dianas por la molécula, los antígenos o moléculas que ya se ha demostrado que son o pueden ser inmunológica o terapéuticamente relevantes, especialmente aquellos para los que se ha probado la eficacia clínica.

65 El término "diana" o "antígeno", como se usa en el presente documento, comprenderá, en particular, moléculas seleccionadas del grupo que consiste en alérgenos, antígenos asociados con tumores, autoantígenos que incluyen receptores de la superficie celular, enzimas, receptores Fc, FcRn, HSA, IgG, interleucinas o citocinas, proteínas del sistema del complemento, proteínas transportadoras, moléculas séricas, antígenos bacterianos, antígenos fúngicos,

antígenos protozoarios y antígenos virales, también moléculas responsables de la encefalitis esponjiforme transmisible (EET), tales como priones, infecciosos o no, y marcadores o moléculas relacionadas con afecciones inflamatorias, tales como factores proinflamatorios, esclerosis múltiple o enfermedad de Alzheimer, o si no haptenos.

5 La expresión "antígenos de la superficie celular" incluirá todos los antígenos que pueden ser reconocidos por una estructura de anticuerpo sobre la superficie de una célula, y fragmentos de dichas moléculas. Los antígenos de la superficie celular preferidos son los antígenos que ya se ha demostrado que son o pueden ser inmunológica o terapéuticamente relevantes, especialmente aquellos para los que se ha probado una eficacia clínica o preclínica. Los ejemplos incluyen moléculas de la superficie celular que participan en la actividad de la muerte celular. Tras la unión de la inmunoglobulina de acuerdo con la invención a, preferentemente, al menos dos de las moléculas de la superficie celular, el sistema inmunológico proporciona citólisis o muerte celular, por lo tanto, se puede proporcionar un medio potente para atacar a las células humanas.

15 El antígeno es reconocido como una molécula diana entera o como un fragmento de dicha molécula, especialmente subestructuras de dianas, generalmente denominadas epítomos. Las subestructuras de los antígenos se denominan, por lo general, "epítomos" (p. ej., epítomos de linfocitos B, epítomos de linfocitos T), siempre que sean inmunológicamente relevantes, es decir son también reconocibles por anticuerpos naturales o monoclonales. El término "epítomo", como se usa en el presente documento, se referirá, en particular, a una estructura molecular que puede formar completamente una pareja de unión específica o ser parte de una pareja de unión específica a un sitio de unión de un anticuerpo modular o una inmunoglobulina. El término epítomo puede también hacer referencia a haptenos. Químicamente, un epítomo puede estar compuesto por un hidrato de carbono, un péptido, un ácido graso, una sustancia orgánica, bioquímica o inorgánica, o derivados de los mismos y cualquier combinación de los mismos. Si un epítomo es un polipéptido, normalmente incluirá al menos 3 aminoácidos, preferentemente de 8 a 50 aminoácidos y, más preferentemente, entre aproximadamente 10 y 20 aminoácidos en el péptido. No existe un límite superior crítico de la longitud del péptido, la cual podría comprender casi toda la longitud de una secuencia polipeptídica de una proteína. Los epítomos pueden ser epítomos lineales o conformacionales. Un epítomo lineal está compuesto por un único segmento de una secuencia primaria de una cadena polipeptídica. Los epítomos lineales pueden ser contiguos o solapantes. Los epítomos conformacionales están compuestos por aminoácidos juntados plegando el polipéptido para formar una estructura terciaria y los aminoácidos no son necesariamente adyacentes entre sí en la secuencia lineal. De forma específica, los epítomos son, al menos, parte de moléculas relevantes en términos diagnósticos, es decir, la ausencia o presencia de un epítomo en una muestra se correlaciona de forma cualitativa o cuantitativa con una enfermedad o el estado de salud de un paciente o con un estado del proceso de fabricación o con el estado ambiental o de alimentación. Los epítomos pueden ser también al menos parte de moléculas relevantes en términos terapéuticos, es decir, moléculas que pueden establecerse como diana de un dominio de unión específica que cambia la evolución de la enfermedad

40 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "se une específicamente" o "unión específica" se refiere a una reacción de unión que determina el ligando afín de interés en una población heterogénea de moléculas. Por lo tanto, en las condiciones indicadas (p. ej., condiciones de inmunoensayo), el anticuerpo modular se une a su diana concreta y no se une en una cantidad significativa a otras moléculas presentes en una muestra. La unión específica significa que la unión es selectiva en términos de identidad de la diana, afinidad de unión o avidéz alta, media o baja, según se seleccione. La unión selectiva normalmente se consigue si la constante de unión o la dinámica de unión presenta una diferencia de al menos 10 veces, preferentemente, la diferencia es de al menos 100 veces y, más preferentemente, de al menos 1.000 veces.

45 La expresión "sistema de expresión" se refiere a moléculas de ácido nucleico que contienen una secuencia de codificación deseada y secuencias control en unión operativa, de modo que los hospedadores transformados o transfectados con estas secuencias son capaces de producir las proteínas codificadas. Con el fin de efectuar la transformación, el sistema de expresión puede estar incluido en un vector, sin embargo, el ADN relevante puede también estar integrado en el cromosoma del hospedador. Como alternativa, se puede usar un sistema de expresión para la transcripción/traducción *in vitro*.

50 Toda la numeración de las secuencias de aminoácidos de las inmunoglobulinas es conforme al esquema de numeración de IMGT (IMGT, the international ImMunoGeneTics, Lefranc et al., 1999) Nucleic Acids Res. 27) 209-212).

55 La expresión "agente de unión" o "ligando" se refiere a un miembro de un par de unión, en particular polipéptidos de unión que tienen el potencial de servir como dominio de unión para una pareja de unión. Los ejemplos de parejas de unión incluyen parejas de agentes de unión con interacciones funcionales, tales como receptores que se unen a ligandos, anticuerpos que se unen a antígenos o receptores, un fármaco que se une a una diana y enzimas que se unen a un sustrato.

60 La expresión "proteína de fusión" o "proteína de fusión quimérica" hará referencia a la molécula compuesta por un paquete genético, al menos parte de una estructura de la superficie externa, tal como una proteína de la cubierta, opcionalmente una secuencia enlazadora y un agente de unión. La proteína de fusión se codifica por un vector con el gen del agente de unión e información para presentar una copia del agente de unión en la superficie del paquete genético.

El término "citotóxico" o "actividad citotóxica" se refiere a cualquier molécula específica dirigida contra antígenos naturales que, cuando se unen al antígeno, activa la vía del complemento o activa a las células asesinas, lo que tiene como resultado lisis celular o desencadena la apoptosis. En particular, se refiere a la actividad sobre células efectoras que tienen como resultado la activación de los linfocitos T citotóxicos o células que median en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y/o la fagocitosis celular (ADCP). También se refiere a un efecto apoptótico, de modo que se desencadena la muerte celular programada (PCD). Por lo tanto, los anticuerpos modulares de acuerdo con la invención matan las células diana recubiertas con anticuerpo, opcionalmente mediante la unión a los receptores Fc de las células efectoras o mediante la inducción de la muerte celular programada.

"Armazón" hará referencia a una estructura temporal, natural o artificial, usada para soportar la estructura molecular de un polipéptido en la construcción de variantes o un repertorio del polipéptido. Normalmente, es un sistema modular de dominios polipeptídicos que mantiene la estructura terciaria o la función de la molécula parental. Son ejemplos de armazones anticuerpos modulares que pueden mutagenizarse para producir variantes dentro de dicho armazón, para obtener una biblioteca.

La expresión "ligando estructural" significa un ligando que se une a un armazón o a la estructura de anticuerpos modulares, de modo que se determina la estructura molecular o la función primaria y la especificidad de dicho anticuerpo modular. En casos preferidos, el ligando estructural es un ligando funcional que media en una función biológica tras la unión, como un ligando efector. En una realización alternativa, el ligando estructural es un ligando funcional, que es una diana específica unida por la región CDR o región bucle estructural. El mismo ligando estructural se puede unir a muchas variantes de un anticuerpo modular con independencia de sus especificidades por la diana. En general, la presencia de un sitio de unión al ligando estructural indica que la variante se expresa y se pliega de forma correcta. Por lo tanto, la unión del ligando estructural a su sitio de unión proporciona un método para preseleccionar, coseleccionar, caracterizar y detectar de forma selectiva polipéptidos funcionales de un repertorio de polipéptidos. El diseño de variantes de anticuerpos modulares que conservan la propiedad de unión a un ligando estructural evita la preparación de variantes que son no funcionales, por ejemplo, como resultado de la introducción de mutaciones, mutantes de plegamiento o mutantes de expresión que serían o son incapaces de unirse a sustancialmente cualquier diana o ligando efector. Dichos mutantes no funcionales en ocasiones se generan mediante la aleatorización normal y procedimientos de variación usados en la construcción de repertorios de polipéptidos. Proporcionar mutantes funcionales que se unen a un ligando estructural permite al experto en la materia preparar una biblioteca de anticuerpos modulares que está enriquecida en miembros de la biblioteca funcionales, bien plegados y altamente expresados. Por ejemplo, el armazón puede ser un Fab parental y al menos un 20 %, preferentemente al menos un 30 %, más preferentemente al menos un 40 % de las variantes del Fab parental se unen a la diana de CDR de dicho Fab parental.

La expresión "ligando efector" significa un ligando que participa en las funciones efectoras, como una molécula efectora. Son ejemplos de ligandos efectores receptores Fc o moléculas similares a receptores Fc que interfieren con las inmunoglobulinas. Un receptor Fc es una proteína que se encuentra sobre la superficie de determinadas células, incluyendo las células asesinas naturales, macrófagos, neutrófilos y mastocitos, que contribuyen a las funciones protectoras del sistema inmunológico. Su nombre deriva de su especificidad de unión para una parte de un anticuerpo conocido como la región Fc (fragmento cristalizante). Los receptores Fc se unen a anticuerpos que están unidos a las células infectadas o patógenos invasores. Su actividad estimula las células fagocíticas o citotóxicas para destruir microbios, o células infectadas por la fagocitosis celular mediada por anticuerpos (ADCP) o citotoxicidad mediada por las células dependientes de anticuerpos (ADCC). Existen varios tipos diferentes de receptores Fc, que se clasifican basándose en el tipo de anticuerpo que reconocen, por ejemplo, los que se unen a la clase más frecuente de anticuerpos, IgG, se denominan receptores Fc gamma (FcγR), los que se unen a IgA se denominan receptores Fc alfa (FcαR) y los que se unen a IgE se denominan receptores Fc epsilon (FcεR). Es un equivalente de un ligando efector y, por lo tanto, se incorpora en la definición, cualquier ligando sustituto que reconoce el mismo sitio de unión o uno similar dentro del anticuerpo modular, tal como la proteína A.

Todos los FcγR pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas y son los receptores Fc más importantes para inducir la fagocitosis de los microbios opsonizados (recubiertos). Esta familia incluye varios miembros; por ejemplo, FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32a), FcγRIIB (CD32b), FcγRIIIA (CD16a) y FcγRIIIB (CD16b); que difieren en sus afinidades de los anticuerpos debido a su diferente estructura molecular. Por ejemplo, FcγRI se une a IgG con más fuerza que FcγRII y FcγRIII, y tiene una porción extracelular compuesta por tres dominios de tipo inmunoglobulina (Ig), un dominio más que FcγRII y FcγRIII. Estas propiedades permiten la activación de FcγRI por una sola molécula de IgG (o monómero), mientras que los últimos dos receptores Fcγ deben unirse a múltiples moléculas de IgG dentro del complejo inmunitario a activar.

Otro FcR se expresa en varios tipos celulares y tiene una estructura similar al MHC de clase I. Este receptor también se une a IgG y está implicado en la conservación de este anticuerpo. Sin embargo, dado que este receptor Fc también está implicado en la transferencia de la IgG de una madre a través de la placenta a su feto o en la leche al lactante, se denomina receptor Fc neonato (FcRn). Recientemente, este receptor se ha implicado en la participación en la homeostasis de los niveles séricos de IgG.

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) es un mecanismo de inmunidad celular en el que una célula efectora del sistema inmunológico lisa de forma activa una célula diana que a la que se han unido anticuerpos específicos. Es uno de los mecanismos a través de los cuales los anticuerpos, como parte de la respuesta

5 inmunológica humoral, puede actuar para limitar y contener la infección. La ADCC clásica está mediada por las células asesinas naturales (NK); los monocitos y eosinófilos también pueden participar en la ADCC. Por ejemplo, los eosinófilos pueden matar determinados gusanos parasitarios conocidos como helmintos a través de la ADCC. La ADCC forma parte de la respuesta inmunológica adaptativa debido a su dependencia de una respuesta de anticuerpos anterior.

10 El término "extraño", en el contexto de aminoácidos, significará que los aminoácidos recién introducidos son de origen natural, pero extraños al sitio de modificación, o sustitutos de los aminoácidos de origen natural. "Extraño" con referencia a sitios de unión a antígeno significa que el sitio de unión a antígeno no está formado de forma natural por la región de unión específica del agente, y una pareja de unión extraña, pero no la pareja de unión natural del agente, se une al sitio de unión recién modificado por ingeniería.

15 La expresión "región de unión variable", en ocasiones denominada "región CDR" como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas con estructuras variables capaces de producir interacciones de unión con antígenos. Dichas moléculas se pueden usar como tales o integrarse dentro de una proteína más grande, de modo que se forma una región específica de dicha proteína con la función de unión. Las estructuras variables pueden derivar de repertorios naturales de proteínas de unión tales como inmunoglobulinas o filómeros o diversidad sintética, incluyendo

20 proteínas de repeticiones, avímeros y anticalinas. Las estructuras variables también se pueden producir mediante técnicas de aleatorización, en particular las descritas en el presente documento. Estas incluyen regiones CDR o no CDR mutagenizadas, y regiones bucle de dominios variables o dominios constantes de inmunoglobulinas.

25 Los agentes de unión modificados con diferentes modificaciones en sitios específicos se denominan "variantes". Las variantes de un armazón se agrupan, preferentemente, para formar bibliotecas de agentes de unión, que se pueden usar para seleccionar miembros de la biblioteca con funciones predeterminadas. De acuerdo con ello, una secuencia de anticuerpos preferentemente se aleatoriza, por ejemplo, a través de métodos de mutagénesis. De acuerdo con una realización preferida, una región bucle de un agente de unión, tal como la secuencia de anticuerpo parental que comprende las posiciones dentro de uno o más bucles o en un sitio terminal, que contribuye potencialmente a un sitio de unión, preferentemente se muta o modifica para producir bibliotecas, preferentemente mediante métodos de mutagénesis aleatoria, semialeatoria o, en particular, aleatoria dirigida, en particular para eliminar, intercambiar o introducir insertos generados aleatoriamente en bucles o una región bucle, preferentemente en la región bucle CDR o

30 en la región bucle estructural, que pueden incluir secuencias terminales, que se localizan en uno de los extremos de un dominio de anticuerpo o subestructura.

35 Como alternativa, se prefiere el uso de enfoques combinatorios. Se puede usar cualquiera de los métodos de mutagénesis conocidos, entre ellos la mutagénesis por casete. Estos métodos se pueden usar para realizar modificaciones de aminoácidos en las posiciones deseadas de la inmunoglobulina de la presente invención. En algunos casos, las posiciones se eligen de forma aleatoria, por ejemplo, con cualquiera de los posibles aminoácidos o una selección de aminoácidos preferidos para aleatorizar las secuencias bucle, o se realizan cambios de aminoácidos usando normas simples. Por ejemplo, todos los restos se pueden mutar, preferentemente, en aminoácidos específicos, tales como alanina, lo cual se conoce como escaneo de aminoácidos o de alanina. Dichos métodos se pueden acoplar a enfoques de ingeniería más sofisticados que usan métodos de selección para detectar niveles mayores de diversidad de secuencia.

40 El anticuerpo modular citotóxico de acuerdo con la invención con un peso molecular inferior a 60 kDa o hasta 60 kDa tiene un tamaño pequeño en comparación con los anticuerpos de longitud completa. El tamaño preferido es de hasta 55 kDa. Los dominios sencillos de anticuerpos modulares normalmente tienen un tamaño molecular de 10-15 kDa, por lo tanto, una molécula basada en, o que consiste en, 4 dominios de anticuerpos modulares tendría un tamaño molecular de 40-60 kDa, dependiendo de la glicosilación o cualquier conjugación adicional de sustancias farmacológicamente activas, como toxinas o péptidos.

50 El formato preferido es un oligómero, compuesto de dominios de anticuerpos modulares, preferentemente hasta 4 dominios, más preferentemente 3 dominios, e incluso más preferentemente basado en 2 dominios, en el que el oligómero comprende, preferentemente, un heterodímero tal como Fab o un homodímero tal como Fc. Habitualmente se piensa que los formatos basados en la combinación de 5 dominios de anticuerpos modulares o más no ejercen las ventajas específicas de los fragmentos de anticuerpo de tamaño pequeño que son fáciles de expresar en varios sistemas de expresión y penetración de tejidos.

60 Es viable proporcionar un anticuerpo modular como un anticuerpo de dominio único. Sin embargo, los dominios de anticuerpo tienden a dimerizar tras la expresión, bien como un homodímero tal como un Fc, o un heterodímero tal como un Fab. Por lo tanto, la estructura dimerica se considera ventajosa para proporcionar una molécula estable. Los dímeros preferidos de los dominios de inmunoglobulinas se seleccionan del grupo que consiste en dímeros de dominio único tales como VH/VL, CH1/CL (kappa o lambda), CH2/CH2 y CH3/CH3. Los dímeros u oligómeros de los dominios

de anticuerpo modular también se pueden proporcionar como moléculas monocatenarias o bicatenarias, en particular los que unen el extremo C de un dominio al extremo N de otro.

5 Las parejas de unión son agentes que se unen específicamente uno a otro, normalmente a través de las interacciones no covalentes. Los ejemplos de parejas de unión incluyen parejas de agentes de unión con interacciones funcionales, tales como receptores que se unen a ligandos, anticuerpos que se unen a antígeno, un fármaco que se une a una diana y enzimas que se unen a un sustrato. Las parejas de unión han encontrado utilidad en muchas aplicaciones terapéuticas, diagnósticas, analíticas e industriales. Las parejas de unión más prominentes son anticuerpos o inmunoglobulinas, fragmentos o derivados de los mismos. En la mayoría de los casos, se requiere que la unión de dichos agentes de unión medie en un efecto o una función biológica, una "interacción funcional".

15 El anticuerpo modular citotóxico puede ser un agente de unión, que es una inmunoglobulina de origen humano o murino, y se puede usar para varios fines, en particular en composiciones farmacéuticas. Por supuesto, la inmunoglobulina modificada también puede ser una inmunoglobulina humanizada o quimérica.

El agente de unión, que es una inmunoglobulina humana, preferentemente se selecciona o deriva del grupo que consiste en IgA1, IgA2, IgD, IgE, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgM. El agente de unión de inmunoglobulina murino se selecciona o deriva preferentemente del grupo que consiste en IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG2C, IgG3 e IgM.

20 Dicho agente de unión comprende, preferentemente, una cadena pesada y/o ligera o parte de las mismas. Una inmunoglobulina modificada puede comprender una cadena pesada y/o ligera, al menos un dominio variable y/o constante, o una parte del mismo que incluye un minidominio.

25 Un dominio constante es una unidad de pliegue de inmunoglobulina de la parte constante de una molécula de inmunoglobulina, también denominada dominio de la región constante (p. ej., CH1, CH2, CH3, CH4, Ck, Cl).

Un dominio variable es una unidad de pliegue de inmunoglobulina de la parte variable de una inmunoglobulina, también denominada dominio de la región variable (p. ej., Vh, Vk, Vl, Vd).

30 Un ejemplo de anticuerpo modular puede consistir en un dominio constante seleccionado del grupo que consiste en CH1, CH2, CH3, CH4, I_gk-C, I_gl-C, combinaciones, derivados o una parte de los mismos, incluido un minidominio, con al menos una región bucle, y se caracteriza porque dicha al menos una región bucle comprende al menos una modificación de aminoácidos que forma al menos una región bucle modificada, en el que dicha al menos una región bucle modificada se une específicamente a al menos un epítipo de un antígeno.

35 Otro anticuerpo modular puede consistir en un dominio variable de una cadena pesada o ligera, combinaciones, derivados o una parte de los mismos, incluido un minidominio, con al menos una región bucle, y se caracteriza porque dicha al menos una región bucle comprende al menos una modificación de aminoácidos que forma al menos una región bucle modificada, en el que dicha al menos una región bucle modificada se une específicamente a al menos un epítipo de un antígeno.

45 El anticuerpo modular puede comprender uno o más dominios (p. ej., al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, diez dominios). Si en el anticuerpo modular está presente más de un dominio, estos dominios pueden ser del mismo tipo o de varios tipos (p. ej., CH1-CH1-CH2, CH3-CH3, (CH2)₂-(CH3)₂, con o sin la región de bisagra). Por supuesto, asimismo el orden de los dominios sencillos puede ser de cualquier tipo (p. ej., CH1-CH3-CH2, CH4-CH1-CH3-CH2).

50 En el presente documento se desvelan partes de anticuerpos, tales como partes de IgG, IgA, IgM, IgD, IgE y similares. Los anticuerpos modulares también pueden ser un fragmento de anticuerpo funcional tal como Fab, (Fab)₂, scFv, Fv, Fc, FcabTM, un Fc de unión a antígeno o partes de los mismos, u otros derivados o combinaciones de las inmunoglobulinas, tales como minicuerpos, dominios de cadenas pesadas y ligeras de la región variable (tales como dAb, Fd, VL, incluyendo V_{lambda} y V_{kappa}, VH, VHH) así como minidominios que consisten en dos hebras beta de un dominio de inmunoglobulina conectados por al menos dos bucles estructurales, como dominios aislados o en el contexto de moléculas asociadas de forma natural. En el presente documento también se desvela el fragmento Fc de una molécula de anticuerpo, bien como fragmento Fc de unión a antígeno (FcabTM) mediante modificaciones de la secuencia de aminoácidos o como conjugados o fusiones a receptores, péptidos u otros módulos de unión a antígeno, tales como scFv.

60 Los anticuerpos modulares se pueden usar como polipéptidos aislados o como moléculas de combinación, por ejemplo, mediante técnicas de recombinación, fusión o conjugación, con otros péptidos o polipéptidos. Los péptidos son, preferentemente, homólogos a las secuencias de los dominios de inmunoglobulina y, preferentemente, tienen una longitud de al menos 5 aminoácidos, más preferentemente una longitud de al menos 10 o incluso al menos 50 o 100 aminoácidos, y constituyen al menos parcialmente la región bucle del dominio de inmunoglobulina. Las características de unión preferidas se refieren a la unión, afinidad y avidéz por el epítipo predefinidas.

65 El anticuerpo modular de acuerdo con la invención además se combina, posiblemente, con uno o más anticuerpos modulares modificados o con anticuerpos modulares sin modificar, o partes de los mismos, para obtener un anticuerpo

modular de combinación. Preferentemente, las combinaciones se obtienen mediante técnicas de recombinación, pero también mediante unión a través de adsorción, interacciones electrostáticas o similares, o incluso a través de la conjugación o unión química con o sin un enlazador. La secuencia enlazadora preferida es una secuencia enlazadora natural o una secuencia artificial funcionalmente adecuada.

5 En general, el anticuerpo modular de acuerdo con la invención se puede usar como bloque componente para combinar molecularmente otros anticuerpos modulares o sustancias o moléculas biológicamente activas. Se prefiere combinar molecularmente al menos un anticuerpo que se une a la pareja específica mediante las secuencias variables o no variables, como bucles estructurales, con al menos otra molécula de unión que puede ser un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, un receptor soluble, un ligando u otro dominio de anticuerpo, o un resto de unión del mismo. Otras combinaciones se refieren a moléculas proteicas, ácidos nucleicos, lípidos, moléculas orgánicas e hidratos de carbono.

15 Las moléculas modificadas por ingeniería de acuerdo con la presente invención serán útiles como moléculas autónomas, así como proteínas o derivados de fusión, normalmente fusionadas antes o después de la modificación de un modo tal que forme parte de estructuras más grandes, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completo, o partes de las mismas. Por lo tanto, las inmunoglobulinas o proteínas de fusión también comprenden fragmentos Fc., fragmentos Fab, fragmentos Fv, anticuerpos monocatenarios, en particular, fragmentos Fv monocatenarios, scFv bi- o multiespecíficos, diacuerpos, unicuerpos, multicuerpos, multivalentes o multímeros de dominios de inmunoglobulina, y otros. Será posible usar las proteínas modificadas por ingeniería para producir moléculas que son mono-específicas, biespecíficas, triespecíficas, e incluso pueden portar más especificidades. Es posible controlar y preseleccionar la valencia de unión al mismo tiempo de acuerdo con los requisitos del uso planificado de dichas moléculas.

25 El anticuerpo modular ejerce opcionalmente una o más regiones de unión a antígenos, incluyendo el sitio de unión que se une específicamente a la diana de la superficie celular y los sitios de unión que participan en la función efectora. Los sitios de unión a antígeno que se unen a uno o más antígenos pueden estar presentados por la región CDR o cualquier otra estructura de unión al receptor natural, o estar introducidos en una región bucle estructural de un dominio de anticuerpo, de una estructura de dominio variable o constante. Los antígenos que se usan para analizar las propiedades de unión de los sitios de unión pueden ser moléculas de origen natural o moléculas sintetizadas químicamente o moléculas recombinantes, bien en solución o en suspensión, por ejemplo, localizadas sobre o en partículas tales como fases sólidas, sobre o en células o sobre superficies virales. Se prefiere que la unión de una inmunoglobulina a un antígeno se determine cuando el antígeno todavía está adherido o unido a moléculas y estructuras en el contexto natural. De este modo, es posible identificar y obtener esas inmunoglobulinas modificadas que son más adecuadas para el fin del uso diagnóstico o terapéutico.

35 El anticuerpo modular o los dominios de inmunoglobulina pueden modificarse (como se usa en el presente documento, los términos inmunoglobulina y anticuerpo son intercambiables), efectuándose dichas modificaciones preferentemente en dominios de inmunoglobulina o partes de los mismos que son secuencias terminales, preferentemente una secuencia C-terminal, y/o parte de una región bucle que contiene un bucle, bien un bucle CDR o un bucle no CDR, siendo los bucles estructurales los sitios preferidos de modificaciones o mutagénesis. De acuerdo con una realización específica, la región bucle estructural también incluye una secuencia terminal, que contribuye a la unión al antígeno. En algunos casos, es preferible usar un bucle estructural modificado definido o una región bucle estructural, o partes de los mismos, como moléculas aisladas para fines de unión o combinación.

45 El anticuerpo modular puede unirse a dicha diana de la superficie celular mediante al menos parte de un bucle estructural y/o un bucle CDR.

50 Como alternativa, el anticuerpo modular puede unirse a dicho ligando efector, o un ligando sustituto para dicho ligando efector, como la proteína A, a través de al menos parte de un bucle estructural y/o bucle CDR, mediando de este modo en la función efectora.

55 En una realización preferida, el agente de unión se une a su estructura de unión nativa o modificada o sitio de unión recién formado, específicamente a al menos dos de estos epítopos que son idénticos o difieren entre sí, bien del mismo antígeno o de diferentes antígenos.

60 En una estructura de dominio preferida de un agente de unión, se prefiere modificar o aleatorizar el anticuerpo modular dentro de al menos una región bucle o región terminal, obteniéndose como resultado una sustitución, delección y/o inserción de uno o más nucleótidos o aminoácidos, preferentemente una mutación puntual, o incluso el intercambio de bucles enteros, más preferentemente el cambio de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15, hasta 30 aminoácidos. De este modo, la secuencia modificada comprende aminoácidos no incluidos en las regiones conservadas de los bucles, siendo los aminoácidos recién introducidos de origen natural, pero extraños al sitio de modificación, o sustitutos de los aminoácidos de origen natural.

65 Sin embargo, el número máximo de aminoácidos insertados en una región bucle de un agente de unión puede, preferentemente, no superar el número 30, preferentemente 25, más preferentemente 20 aminoácidos como máximo. La sustitución y la inserción de los aminoácidos se produce, preferentemente, de forma aleatoria o semialeatoria

usando todos los posibles aminoácidos o una selección de aminoácidos preferidos para fines de aleatorización, mediante métodos conocidos en la técnica y como se desvela en la presente solicitud de patente.

5 El sitio de modificación puede estar en un bucle único específico o una región bucle, en particular, un bucle estructural o una región bucle estructural. Una región bucle normalmente está compuesta por al menos dos, preferentemente al menos 3 o al menos 4 bucles que son adyacentes entre sí, y que pueden contribuir a la unión de un antígeno a través de la formación de un sitio de unión a antígeno o cavidad de unión a antígeno. Se prefiere que dichos uno o más sitios de modificación se localicen dentro del área de 10 aminoácidos, más preferentemente en 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 hasta 100 aminoácidos, en particular dentro de una región estructural para formar una superficie o cavidad en la que el antígeno puede acceder estéricamente a las regiones bucle.

15 A este respecto, las modificaciones preferidas se someten a ingeniería en las regiones bucle de CH1, CH2, CH3 y CH4, en particular en el intervalo de los aminoácidos 7 a 21, los aminoácidos 25 a 39, los aminoácidos 41 a 81, los aminoácidos 83 a 85, los aminoácidos 89 a 103 y los aminoácidos 106 a 117, o dentro de las secuencias terminales, preferentemente dentro de 6 aminoácidos desde los extremos C o N del dominio de anticuerpo modular.

En otra realización preferida, una modificación en la región bucle estructural que comprende los aminoácidos 92 a 98 se combina con una modificación en la región bucle estructural que comprende los aminoácidos 8 a 20.

20 Las regiones de los aminoácidos identificados anteriormente de las respectivas inmunoglobulinas comprenden regiones bucle a modificar. Preferentemente, una modificación en la región bucle estructural que comprende los aminoácidos 92 a 98 se combina con una modificación en uno o más de los otros bucles estructurales.

25 En una realización preferida, una modificación en la región bucle estructural que comprende los aminoácidos 92 a 98 se combina con una modificación en la región bucle estructural que comprende los aminoácidos 41 a 45,2.

Lo más preferentemente, cada uno de los bucles estructurales que comprenden los aminoácidos 92 a 98, los aminoácidos 41 a 45,2 y los aminoácidos 8 a 20, contiene al menos una modificación de aminoácido.

30 En otra realización preferida, cada uno de los bucles estructurales que comprenden los aminoácidos 92 a 98, los aminoácidos 41 a 45,2, y los aminoácidos 8 a 20, contiene al menos una modificación de aminoácido.

35 De acuerdo con otra realización preferida, los restos de aminoácido en el área de las posiciones 15 a 17, 29 a 34, 41 a 45,2, 84 a 85, 92 a 100 y/o de 108 a 115 de CH3 están modificados.

40 Las modificaciones preferidas de Igk-C e Igl-C de origen humano se modifican por ingeniería en las regiones bucle en el área de los aminoácidos 8 a 20, los aminoácidos 26 a 36, los aminoácidos 41 a 82, los aminoácidos 83 a 88, los aminoácidos 92 a 100, los aminoácidos 107 a 124 y los aminoácidos 123 a 126, o dentro de las secuencias terminales, preferentemente dentro de 6 aminoácidos desde los extremos C o N del dominio de anticuerpo.

Las modificaciones preferidas de las regiones bucle de Igk-C e Igl-C de origen murino se modifican por ingeniería en los sitios en el área de los aminoácidos 8 a 20, los aminoácidos 26 a 36, los aminoácidos 43 a 79, los aminoácidos 83 a 85, los aminoácidos 90 a 101, los aminoácidos 108 a 116 y los aminoácidos 122 a 126.

45 Otra inmunoglobulina que se puede usar como agente terapéutico consiste en un dominio variable de una cadena pesada o ligera, o una parte del mismo que incluye un minidominio, con al menos una región bucle, preferentemente una región bucle estructural, y se caracteriza porque dicha al menos una región bucle comprende al menos una modificación de aminoácidos que forma al menos una región bucle modificada, en el que dicho al menos una región bucle modificada forma un sitio de unión relevante como se ha descrito en lo que antecede.

50 De acuerdo con una realización específica, la inmunoglobulina puede contener una modificación dentro del dominio variable, que se selecciona del grupo de VH, Vkappa, Vlambda, VHH y combinaciones de los mismos. Más específicamente, comprende al menos una modificación dentro de los aminoácidos 7 a 22, los aminoácidos 39 a 55, los aminoácidos 66 a 79, los aminoácidos 77 a 89 y los aminoácidos 89 a 104, en los que la numeración de la posición de los aminoácidos de los dominios es la del IMGT o dentro de las secuencias terminales, preferentemente dentro de 6 aminoácidos de los extremos C o N del dominio de anticuerpo.

60 La inmunoglobulina se puede caracterizar por que las regiones bucle de VH o Vkappa o Vlambda de origen humano comprenden al menos una modificación dentro de los aminoácidos 7 a 22, los aminoácidos 43 a 51, los aminoácidos 67 a 77, los aminoácidos 77 a 88, y los aminoácidos 89 a 104, aún más preferentemente las posiciones de aminoácidos 12 a 17, las posiciones de aminoácidos 45 a 50, las posiciones de aminoácidos 68 a 77, los aminoácidos 79 a 88, y las posiciones de aminoácidos 92 a 99, en los que la numeración de la posición de los aminoácidos de los dominios es la del IMGT.

65 Las regiones bucles estructurales del dominio variable de la inmunoglobulina de origen humano, como posibles seleccionadas para fines de modificación, se localizan, preferentemente, en el área de los aminoácidos 8 a 20, los

aminoácidos 44 a 50, los aminoácidos 67 a 76, los aminoácidos 78 a 87, y los aminoácidos 89 a 101, o dentro de las secuencias terminales, preferentemente dentro de 6 aminoácidos de los extremos C o N del dominio de anticuerpo.

5 De acuerdo con una realización preferida, las regiones bucle estructurales del dominio variable de la inmunoglobulina de origen murino como posibles seleccionadas para fines de modificación se localizan, preferentemente, en el área de los aminoácidos 6 a 20, los aminoácidos 43 a 52, los aminoácidos 67 a 79, los aminoácidos 79 a 87, y los aminoácidos 91 a 100, o dentro de las secuencias terminales, preferentemente dentro de 6 aminoácidos de los extremos C o N del dominio de anticuerpo modular.

10 La inmunoglobulina usada como agente terapéutico también puede ser de origen camélido. Los anticuerpos de camélidos comprenden únicamente una cadena pesada y tienen la misma afinidad por el antígeno que los anticuerpos normales que consisten en cadenas ligeras y pesadas. En consecuencia, los anticuerpos de camélidos son mucho más pequeños que, por ejemplo, los anticuerpos humanos, lo cual les permite penetrar en los tejidos densos para alcanzar el antígeno, donde las proteínas más grandes no pueden. Además de la simplicidad comparativa, la elevada afinidad y especificidad y el potencial para alcanzar e interactuar con los sitios activos, los anticuerpos de cadena pesada de camélidos presentan ventajas sobre los anticuerpos habituales en el diseño, producción y aplicación de los compuestos clínicamente valiosos.

20 Las regiones bucles estructurales de un anticuerpo modular o una inmunoglobulina de origen camélido se pueden modificar, por ejemplo, dentro de una VHH en la región de los aminoácidos 7 a 19, los aminoácidos 43 a 55, los aminoácidos 68 a 76, los aminoácidos 80 a 87 y los aminoácidos 91 a 101, o dentro de las secuencias terminales, preferentemente dentro de 6 aminoácidos desde los extremos C o N del dominio de anticuerpo.

25 El método preferido de producir un anticuerpo modular se refiere a la modificación por ingeniería de un anticuerpo modular que se une específicamente a al menos un primer epítipo, que comprende modificaciones en cada uno de al menos dos sitios o bucles dentro de una región bucle estructural, y determinar la unión específica de dicha región bucle estructural a al menos un segundo epítipo, en el que la región bucle estructural sin modificar (región no CDR) no se une específicamente a dicho al menos un segundo epítipo. Por lo tanto, un anticuerpo o estructura de unión a antígeno para un primer antígeno se puede mejorar añadiendo otra valencia o especificidad contra un segundo antígeno, donde la especificidad puede ser idéntica, ya sea frente a diferentes epítopos o frente al mismo epítipo, para aumentar la valencia o para obtener moléculas oligo- o multispecíficas.

35 Por otro lado, se prefiere hacer uso de los anticuerpos modulares que contienen estructuras nativas que interactúan con moléculas efectoras o células inmunitarias, preferentemente para unirse a un ligando efector. Dichas estructuras nativas permanecen sin modificar o se modulan para conseguir una función efectora incrementada. Se ha descrito que los sitios de unión para, por ejemplo, receptores Fc, se localizan en una región de dominio CH2 y/o H3 y pueden mutagenizarse mediante técnicas bien conocidas.

40 La ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, es la destrucción de células diana recubiertas por anticuerpos por células con receptores Fc que reconocen la región constante del anticuerpo unido. La mayor parte de la ADCC está mediada por las células NK que tienen el receptor Fc FcγRIII o CD16 sobre su superficie. Los ensayos típicos usan células diana, tales como células Ramos, incubadas con anticuerpos diluidos en serie antes de la adición de células efectoras recién aisladas. El ensayo ADCC se incuba después durante varias horas y se detecta el % de citotoxicidad. Normalmente, la proporción diana:efectores es de aproximadamente 1:16 pero puede ser de 1:1 a 45 1:50.

50 La citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) es un mecanismo de matar células en el que el anticuerpo unido a la superficie de la célula diana fija el complemento, lo que tiene como resultado un ensamblaje del complejo de ataque a la membrana que perfora orificios en la membrana de la célula diana, lo cual tiene como resultado la lisis celular posterior. El ensayo CDC de uso habitual sigue el mismo procedimiento que para la determinación de ADCC, sin embargo, conteniendo el complemento suero en lugar de células efectoras.

55 Se ha probado la actividad citotóxica determinada mediante ADCC y CDC para un anticuerpo modular de acuerdo con la invención, si existe un incremento significativo en el porcentaje de citolisis en comparación con un control. La actividad citotóxica relacionada con la ADCC o CDC se mide, preferentemente, como el incremento de porcentaje absoluto, que es, preferentemente, superior al 5 %, más preferentemente superior al 10 %, e incluso más preferentemente superior al 20 %.

60 La fagocitosis celular dependiente de anticuerpos, ADCP, en ocasiones denominada ADPC, normalmente se investiga junto con la citolisis de células humanas cultivadas. La fagocitosis por los fagocitos, normalmente monocitos humanos o macrófagos derivados de monocitos, mediada por un anticuerpo, se puede determinar del siguiente modo. Los monocitos purificados se pueden cultivar con citocinas para potenciar la expresión de los FcγR o para inducir la diferenciación en macrófagos. Los ensayos de ADCP y ADCC se realizan después con las células diana. La fagocitosis se determina como el porcentaje de células positivas medidas mediante citometría de flujo. La actividad de ADCP positiva se demuestra con una captación significativa del complejo anticuerpo-antígeno mediante los fagocitos. 65 La actividad citotóxica relacionada con la ADCP se mide, preferentemente, como el porcentaje absoluto de la

captación del complejo antígeno-anticuerpo mediante los fagocitos, que es, preferentemente, superior al 5 %, más preferentemente superior al 10 % e incluso más preferentemente superior al 20 %.

5 En un ensayo típico, los PBMC o monocitos o macrófagos derivados de monocitos se suspenden en medio RF2 (RPMI
1640 suplementado con 2 % de FCS) en placas de 96 pocillos a una concentración de 1×10^5 células viables en 100
ml/pocillo. Las células diana adecuadas, que expresan el antígeno diana, por ejemplo, antígeno Her2/neu y células
SKBR3, se tiñen con colorante fluorescente verde PKH2. Después, 1×10^4 células diana marcadas con PKH2 y un
anticuerpo (IgG1) específico de Her2 (o anticuerpo modular) o isotipo de IgG1 de ratón como control (o anticuerpo
10 modular de control) se añaden al pocillo de PBMC a concentraciones diferentes (p. ej., 1-100 mg/ml) y se incuban en
un volumen final de 200 μ l a 37 °C durante 24 horas. Tras la incubación, los PBMC o monocitos o macrófagos
derivados de monocitos y las células diana se recogen con EDTA-PBS y se transfieren a placas de 96 pocillos de fondo
en V. Las placas se centrifugan y se aspira el sobrenadante. Las células se contratiñen con una mezcla de 100 μ l de
anti-CD11 b, anti-CD14 e IgG humana conjugados con RPE, se mezclan y se incuban durante 60 minutos en hielo. Las
15 células se lavan y se fijan con 2 % de formaldehído-PBS. Se realiza un análisis citométrico de flujo con dos colores con,
por ejemplo, FACS Calibur en acotamiento óptimo. Las células diana marcadas con PKH2 (verde) se detectan en el
canal FL-1 (longitud de onda de emisión, 530 nm) y los PBMC o monocitos marcados con RPE o macrófagos
derivados de monocitos (rojo) se detectan en el canal FL-2 (longitud de onda de emisión, 575 nm). Las células diana
residuales se definen como células que son células marcadas doblemente PKH2⁺/RPE⁻ (PKH2⁺/RPE⁻) y se considera
20 que representan la fagocitosis de las dianas por PBMC o monocitos o macrófagos derivados de monocitos. La
fagocitosis de las células diana se calcula con la ecuación siguiente: porcentaje de fagocitosis = $100 \times \frac{\text{porcentaje de dobles positivas}}{\text{porcentaje de dobles positivas} + \text{porcentaje de dianas residuales}}$. Todas las pruebas normalmente
se realizan por duplicado o por triplicado y los resultados se expresan como la media \pm 6 SD.

25 La actividad apoptótica se mide, preferentemente, usando métodos estándar de determinación de las células
moribundas o muertas. Con el fin de medir la necrosis y la apoptosis, se pueden usar ensayos de citotoxicidad. Estos
ensayos pueden ser ensayos radiactivos y no radiactivos que miden incrementos en la permeabilidad de la membrana
plasmática, ya que las células moribundas presentan fugas, o ensayos colorimétricos que miden la reducción de la
actividad metabólica de las mitocondrias; las mitocondrias en las células muertas no pueden metabolizar los
30 colorantes, mientras que las mitocondrias de las células vivas sí pueden.

También se pueden medir indicadores tempranos de la apoptosis, tales como la fragmentación del ADN en
poblaciones de células o en células individuales, en los que el ADN apoptótico se rompe en piezas de diferente
longitud, las alteraciones en la asimetría de la membrana (ensayos basados en fosfatidil serina y anexina V), medición
de la activación de las caspasas apoptóticas o medición de la liberación del citocromo C y AIF en el citoplasma por las
35 mitocondrias.

La actividad citotóxica preferida del anticuerpo modular de acuerdo con la invención constituye al menos el 20 % de la
citólisis, medida en un respectivo ensayo de lisis celular *ex vivo*.

40 Preferentemente, la actividad citotóxica del anticuerpo modular de acuerdo con la invención es mediar en la lisis celular
o en la muerte celular en un ensayo basado en células con una $CE_{50} < 10^{-8}$ M, preferentemente en el intervalo
nanomolar o inferior.

45 La función efectora del anticuerpo modular de acuerdo con la invención es, preferentemente, una actividad citotóxica
biológica, que normalmente difiere de cualquier actividad citotóxica sintética, por ejemplo, como se proporciona
mediante una toxina que puede estar conjugada a una estructura de inmunoglobulina. Las toxinas normalmente no
activan las moléculas efectoras y el mecanismo de defensa biológica. Por lo tanto, la actividad citotóxica preferida de
los anticuerpos modulares de acuerdo con la invención es una actividad citotóxica biológica, que normalmente es
50 inmunoestimulante, lo que conduce a una citólisis eficaz.

La actividad citotóxica se diferencia además del simple efecto de inhibición celular en que una sustancia está
inhibiendo el crecimiento celular, por ejemplo, uniéndose al receptor de un factor de crecimiento, de modo que se
bloquea la función del factor de crecimiento, o inhibiendo la angiogénesis. La citotoxicidad se considera esencialmente
un ataque activo para matar células, lo que conduce a la muerte o lisis celular y, por lo tanto, se considera una forma
55 altamente eficiente para reducir inmediatamente el número de células malignas o infectadas. En comparación con los
compuestos citotóxicos, los inhibidores del crecimiento celular no matan las células inmediatamente, sino que
únicamente reducen el crecimiento y la proliferación celular, por lo que se consideran menos activos para fines
terapéuticos.

60 El anticuerpo modular puede unirse específicamente a cualquier tipo de moléculas o estructuras de unión, en particular
a antígenos, moléculas proteicas, proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos, glicanos, carbohidratos, lípidos,
moléculas orgánicas, en particular moléculas orgánicas pequeñas, moléculas anorgánicas, o combinaciones o
fusiones de los mismos, incluyendo PEG, profármacos o fármacos. El anticuerpo modular puede comprender al menos
dos bucles o regiones bucle en las que cada uno de los bucles o regiones bucle puede unirse específicamente a
65 diferentes moléculas o epítopos.

Preferentemente, el antígeno diana se selecciona de antígenos de la superficie celular, incluyendo receptores, en particular del grupo que consiste en las tirosinas quinasas receptoras de erbB (tales como EGFR, HER2, HER3 y HER4, en particular los epítomos de los dominios extracelulares de dichos receptores, p. ej., el epítomo 4D5), moléculas de la superfamilia del receptor del TNF, tales como el receptor de Apo-1, TNFR1, TNFR2, el receptor del factor de crecimiento nervioso NGFR, CD40, moléculas de la superficie de los linfocitos T, receptores de linfocitos T, antígeno OX40 de los linfocitos T, receptor TACI, BCMA, Apo-3, DR4, DR5, DR6, receptores señuelo tales como DcR1, DcR2, CAR1, HVEM, GITR, ZTNFR-5, NTR-1, TNFL1, pero no se limitan a estas moléculas, antígenos de la superficie de los linfocitos B, tales como CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, antígenos o marcadores de tumores sólidos o células cancerosas hematológicas, células de linfoma o leucemia, otras células sanguíneas, incluyendo plaquetas, pero no se limitan a estas moléculas.

De acuerdo con una realización preferida adicional, el antígeno diana se selecciona de los antígenos presentados por las células, como células epiteliales, células de tumores sólidos, células infectadas células sanguíneas, células presentadoras de antígeno y células mononucleares. Dichos antígenos diana expresados y sobreexpresados por las células están preferentemente dirigidos y que se seleccionan del grupo que consiste en antígenos asociados a tumores, en particular EpCAM, glicoproteína 72 asociada a tumores (TAG-72), antígeno asociado a tumores CA 125, antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), antígeno asociado con el melanoma de peso molecular alto (HMW-MAA), antígeno asociado a tumores que expresa hidratos de carbono relacionados con cuerpos de Lewy, antígeno carcinoembrionario (CEA), CEACAM5, HMFG PEM, MUC1 de mucina, MUC18 y antígeno asociado con tumores de citoqueratina, antígenos bacterianos, antígenos víricos, alérgenos, moléculas de IgE relacionadas con la alergia, cKIT y receptor de Fc-épsilon, IRp60, receptor de IL-5, CCR3, receptor de glóbulos rojos (CR1), seroalbúmina humana, seroalbúmina de ratón, seroalbúmina de rata, receptores Fc, receptor FcRn-Fc gamma neonatal, receptores Fc-gamma, Fc-gamma RI, Fc-gamma-RII, Fc-gamma RIII, receptores Fc-alfa, Fc épsilon, fluoresceína, lisozima, receptor 9 de tipo toll, eritropoyetina, CD2, CD3, CD3, CD4, CD11, CD11a, CD14, CD16, CD18, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD28, CD29, CD30, CD32, CD33 (proteína p67), CD38, CD40, CD40L, CD52, CD54, CD56, CD64, CD80, CD147, GD3, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-12, IL15, IL-17, IL-18, IL-23, LIF, OSM, interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, TNF alfa, TNFbeta2, TNFalfa, TNF alfa beta, TNF-R1, TNF-RII, FasL, CD27L, CD30L, 4-1 BBL, TRAIL, RANKL, TWEAK, APRIL, BAFF, LIGHT, VEG1, OX40L, receptor 1 de TRAIL, receptor A1 de adenosina, receptor beta de linfoquinas, TACI, BAFF-R, EPO; LFA-3, ICAM-1, ICAM-3, integrina beta1, integrina beta1, integrina alfa-4/beta 7, integrina alfa 2, integrina alfa 3, integrina alfa 4, integrina alfa 5, integrina alfa 6, integrina alfa v, integrina alfa V beta 3, FGFR-3, Factor de crecimiento de queratinocitos, GM-CSF, M-CSF, RANKL, VLA-1, VLA-4, L-selectina, anti-Id, E-selectina, HLA, HLA-DR, CTLA-4, receptor de linfocitos T B7-1, B7-2, integrina VNR, TGF beta 1, TGF beta 2, eotaxin1, BLYS (estimulador de los linfocitos B), complemento C5, IgE, IgA, IgD, IgM, IgG, factor VII, CBL, NCA 90, EGFR (ErbB-1), Her2/neu (ErbB-2), Her3 (ErbB-3), Her4 (ErbB4), factor tisular, VEGF, VEGFR, receptor de la endotelina, VLA-4, hidratos de carbono, tales como los antígenos del grupo sanguíneo e hidratos de carbono relacionados, glicosilación de Galili, Gastrina, receptores de la gastrina, hidratos de carbono asociados con tumores, protección NP o protección NIP de hapteno, receptor alfa/beta de linfocitos T, E-selectina, P-glicoproteína, MRP3, MRP5, glutatión-S-transferasa pi (proteínas de resistencia a múltiples fármacos), proteína de la membrana de gránulos alfa (GMP) 140, digoxina, fosfatasa alcalina de la placenta (PLAP) y fosfatasa alcalina de tipo PLAP testicular, receptor de la transferrina, Heparanasa I, miosina cardíaca humana, Glicoproteína IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), glicoproteína de la cubierta de gH del citomegalovirus humano (HCMV), gp120 del VIH, HCMV, virus sincitial respiratorio, RSVF, Fgp del RSVF, integrina VNR, gp120 de Hep B, CMV, gpIIbIIIa, bucle V3 de gp120 de HIV IIIB, Fgp del virus sincitial respiratorio (RSV), glicoproteína gD del virus del herpes simple (VHS) glicoproteína gB del VHS, glicoproteína de la cubierta gB del HCMV, toxina de Clostridium perfringens y fragmentos de la misma.

Los anticuerpos modulares se pueden unir a dicho antígeno diana con una afinidad elevada, en particular con una constante de asociación alta y/o de disociación baja, o una avidéz alta por la unión. Normalmente, se considera que un ligante tiene una afinidad elevada con una $K_d < 10^{-9}$ M. Se pueden preparar agentes de unión de afinidad media con una K_d inferior a 10^{-6} hasta 10^{-9} , preferentemente junto con un proceso de maduración de la afinidad.

La maduración de la afinidad es el proceso por el cual se producen anticuerpos con una mayor afinidad por el antígeno. Con cambios estructurales de un anticuerpo, incluyendo mutagénesis de aminoácidos o como consecuencia de la mutación somática en los segmentos génicos de la inmunoglobulina, se producen variantes de un sitio de unión a un antígeno y se seleccionan las afinidades mayores. Los anticuerpos modulares de afinidad madurada pueden exhibir una afinidad mayor que un anticuerpo parental. Los anticuerpos parentales individuales se pueden someter a maduración de la afinidad. Como alternativa, conjuntos de anticuerpos modulares con una afinidad de unión similar al antígeno diana se pueden considerar estructuras parentales que varían para obtener anticuerpos individuales de afinidad madurada o conjuntos de dichos anticuerpos con afinidad madurada.

La variante de afinidad madurada preferida de un anticuerpo modular exhibe al menos un incremento por 10 en la afinidad de la unión, preferentemente un aumento de al menos 100 veces. La maduración de la afinidad se puede usar en el transcurso de las campañas de selección que usan las respectivas bibliotecas de moléculas parentales, bien con anticuerpos modulares con una afinidad de unión media para obtener el anticuerpo modular de la invención que tiene la propiedad de unión a la diana específica de una afinidad de unión $K_d < 10^{-8}$ M y, opcionalmente, una potencia de $Cl_{50} < 10^{-8}$ M. Como alternativa, la potencia de unión o afinidad se puede aumentar todavía más mediante la maduración de la afinidad del anticuerpo modular de acuerdo con la invención para obtener los elevados valores

correspondientes a una K_d o CI_{50} inferior a 10^{-9} M, preferentemente menor de 10^{-10} M o incluso menor de 10^{-11} M, lo más preferido, en el intervalo picomolar.

5 La CI_{50} , también denominada CE_{50} o concentración de saturación al 50 %, es una medida de la potencia de unión de un anticuerpo modular. Es la concentración molar de un ligante, que produce el 50 % de la unión máxima posible en el equilibrio o en saturación. La potencia de un ligante suele estar definida por su CI_{50} (en el presente documento se entiende como un valor de CE_{50}). Esto se puede calcular para un ligante dado determinando la concentración de ligante necesaria para provocar la mitad de la saturación de la unión máxima. Determinar un valor de CI_{50} o CE_{50} es útil para comparar la potencia de los anticuerpos o variantes de anticuerpos con eficacias similares, en particular, cuando se determina en ensayos de unión de saturación, no en ensayos competitivos.

15 En este caso, se considera la concentración que determina la concentración en plasma para obtener un efecto semimáximo (50 %) *in vivo*. Cuanto menor es la CI_{50} o la CE_{50} , mayor es la potencia del anticuerpo modular y menor es la concentración del anticuerpo necesaria para inhibir la respuesta biológica máxima, tal como la función efectora o la actividad citotóxica. Las concentraciones más bajas de anticuerpos también se pueden asociar con menores efectos secundarios.

20 La afinidad de unión de un anticuerpo normalmente se caracteriza en términos de la concentración del anticuerpo a la cual están ocupados la mitad de los sitios de unión a antígeno, conocida como la constante de disociación (K_d , o K_d).

25 Normalmente, la afinidad de un anticuerpo se correlaciona bien con la CI_{50} , cuando se determina en un ensayo de unión de saturación. La afinidad de un antagonista por su sitio de unión (K_i) se entiende como su capacidad para unirse a un receptor, que determina la duración de la unión y la respectiva actividad agonista. Las medidas para aumentar la afinidad mediante maduración de la afinidad normalmente también aumentan la potencia de la unión, lo que tiene como resultado la correspondiente reducción de los valores de CI_{50} en el mismo intervalo de los valores de K_d .

30 Los valores de CI_{50} y K_d se pueden determinar usando los ensayos de unión de saturación bien conocidos en la técnica. Al contrario que los ensayos de competición, los ensayos de unión de saturación proporcionan un valor independiente de la concentración de un competidor y, por lo tanto, un valor comparable que puede ser indicativo de la afinidad de unión *in vivo*.

35 El anticuerpo modular de acuerdo con la invención se conjuga, preferentemente, con una molécula marcadora o indicadora seleccionada del grupo que consiste en moléculas orgánicas, marcadores enzimáticos, marcadores radiactivos, marcadores coloreados, marcadores fluorescentes, marcadores cromogénicos, marcadores luminiscentes, haptenos, digoxigenina, biotina, complejos metálicos, metales, oro coloidal y mezclas de los mismos. Se pueden usar inmunoglobulinas modificadas conjugadas con moléculas marcadoras o indicadoras, por ejemplo, en sistemas de ensayo o métodos diagnósticos.

40 El anticuerpo modular de acuerdo con la invención se puede conjugar con otras moléculas que permiten la simple detección de dicho conjugado en, por ejemplo, ensayos de unión (p. ej., ELISA) y estudios de unión.

45 En una realización preferida, las variantes de anticuerpo se someten a detección selectiva usando uno o más ensayos basados en células o *in vivo*. Para dichos ensayos, las inmunoglobulinas modificadas purificadas o sin purificar normalmente se añaden exógenamente de un modo tal que las células se exponen a inmunoglobulinas individuales o conjuntos de inmunoglobulinas que pertenecen a una biblioteca. Estos ensayos normalmente se basan, aunque no siempre, en la función de la inmunoglobulina; es decir, la capacidad del anticuerpo para unirse a su diana y participar en algún acontecimiento bioquímico, por ejemplo, función efectora, inhibición de la unión ligando/receptor, apoptosis, y similares. Dichos ensayos a menudo implican monitorización de la respuesta de las células al anticuerpo, por ejemplo, la supervivencia celular, la muerte celular, cambio en la morfología celular, o activación transcripcional, tal como expresión celular de un gen natural o gen indicador. Por ejemplo, dichos ensayos pueden medir la capacidad de las variantes de anticuerpos para producir ADCC, ADCP, CDC o actividad apoptótica. Para algunos ensayos, puede ser necesario añadir células o componentes adicionales, es decir además de las células diana, por ejemplo, complemento sérico, o células efectoras tales como monocitos de sangre periférica (PBMC), células NK, macrófagos, y similares. Dichas células adicionales pueden proceder de cualquier organismo, preferentemente seres humanos, ratones, rata, conejo y monos. Los anticuerpos modulares pueden producir apoptosis de determinadas líneas celulares que expresan la diana o pueden mediar en el ataque sobre las células diana por células inmunitarias que se han añadido al ensayo. Los métodos para monitorizar la muerte celular o la viabilidad celular son conocidos en la técnica e incluyen el uso de colorantes, reactivos inmunquímicos, citoquímicos, y radiactivos. Por ejemplo, los ensayos de tinción de la caspasa pueden permitir medir la apoptosis, y la captación o liberación de sustratos radiactivos o colorantes fluorescentes, tales como azul alamar, pueden permitir la monitorización del crecimiento activación celular.

60 En una realización preferida, se puede usar el ensayo de citotoxicidad basado en DELFIART EuTDA (Perkin Elmer, MA). Como alternativa, las células muertas o dañadas se pueden monitorizar midiendo la liberación de uno o más componentes intracelulares naturales, por ejemplo, lactato deshidrogenasa.

65 La activación de la transcripción también puede servir como método para analizar la función en ensayos basados en

células. En este caso, la respuesta se puede monitorizar analizando los genes naturales o inmunoglobulinas que pueden regularse por aumento, por ejemplo, se puede medir la liberación de determinadas interleucinas o, como alternativa, la lectura se puede realizar a través de una construcción indicadora. Los ensayos basados en células también pueden implicar la medida de cambios morfológicos de las células como respuesta a la presencia de anticuerpos modulares. Los tipos de células para dichos ensayos pueden ser células procariotas o eucariotas, y se puede usar diversas líneas celulares conocidas en la técnica. Como alternativa, la detección selectiva basada en células se realiza usando células que se han transformado o transfectado con ácidos nucleicos que codifican las variantes. Esto es, las variantes de anticuerpos no se añaden exógenamente a las células. Por ejemplo, en una realización, la detección selectiva basada en células usa expresión en superficie celular. Se puede usar una pareja de fusión que permita expresar inmunoglobulinas modificadas sobre la superficie celular (Wittrup, 2001) Curr Opin Biotechnol, 12:395-399).

En una realización preferida, la inmunogenicidad de los anticuerpos modulares se puede determinar experimentalmente usando uno o más ensayos basados en células. En una realización preferida, se usan ensayos de activación *ex vivo* de linfocitos T para cuantificar experimentalmente la inmunogenicidad. En este método, las células presentadoras de antígeno y los linfocitos T nativos de donantes equivalentes se exponen a un péptido o a un anticuerpo entero de interés una o más veces. Después, la activación de los linfocitos T se puede detectar usando una serie de métodos, por ejemplo, mediante monitorización de la producción de citocinas o midiendo la captación de timidina tritiada. En la realización más preferida, la producción de interferón gamma se monitoriza usando ensayos ELISPOT.

Las propiedades biológicas del anticuerpo modular de acuerdo con la invención se pueden caracterizar *in vivo* en experimentos con tejido, y organismos enteros. Como se conoce en la técnica, los fármacos a menudo se analizan *in vivo* en animales, incluyendo, entre otros, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, cerdos y monos, con el fin de medir la eficacia de un fármaco para el tratamiento contra una enfermedad o modelo de enfermedad, o medir la farmacocinética, la farmacodinámica, la toxicidad, y otras propiedades de un fármaco. Se puede hacer referencia a los animales como modelos de enfermedad. A menudo, los agentes terapéuticos se prueban en ratones, incluyendo, entre otros, ratones atímicos, ratones SCID, ratones con xenoinjertos y ratones transgénicos (incluyendo activados e inactivados). Dicha experimentación puede proporcionar datos significativos para la determinación del potencial del anticuerpo a usar como agente terapéutico con la semivida adecuada, función efectora, actividad apoptótica y actividad citotóxica o citolítica adecuadas. Cualquier organismo, preferentemente mamíferos, se puede usar para las pruebas. Por ejemplo, debido a su similitud genética con los seres humanos, primates, los monos pueden ser modelos terapéuticos adecuados y, por lo tanto, se pueden usar para probar la eficacia y la toxicidad, la farmacocinética, la farmacodinámica, la semivida, u otra propiedad del anticuerpo modular de acuerdo con la invención. Las pruebas de las sustancias en seres humanos son necesarias, en última instancia, para la aprobación de los fármacos y, por lo tanto, por supuesto, se contemplan estos experimentos. Por consiguiente, los anticuerpos modulares de la presente invención se pueden analizar en seres humanos para determinar su eficacia terapéutica, de la toxicidad, la inmunogenicidad, la farmacocinética, y/u otras propiedades clínicas. Especialmente, los anticuerpos modulares que se unen a células únicas o a un complejo celular a través de al menos dos motivos de unión, preferentemente la unión de al menos tres estructuras con reticulación con las células diana, se considerarían eficaces en la actividad efectora o la actividad preapoptótica o apoptótica tras la reticulación y dirección celular. La unión multivalente proporciona una asociación relativamente grande de las parejas de unión, también denominada reticulación, que es un requisito previo para la apoptosis y la muerte celular.

El anticuerpo modular de la presente invención puede encontrar uso en una amplia gama de productos de anticuerpos. En una realización, el anticuerpo modular de la presente invención se usa para terapia o profilaxis, por ejemplo, como inmunoterapia activa o pasiva, para uso preparativo, industrial o analítico, como compuesto diagnóstico, industrial o reactivo de investigación, preferentemente como un agente terapéutico. El anticuerpo modular puede encontrar uso en una composición de anticuerpo que es monoclonal o policlonal. En una realización preferida, los anticuerpos modulares de la presente invención se usan para capturar o matar células diana que portan el antígeno diana, por ejemplo, células cancerosas. En una realización alternativa, los anticuerpos modulares de la presente invención se usan para bloquear, antagonizar o agonizar el antígeno diana, por ejemplo, antagonizando una citocina o receptor de citocinas.

En una realización preferida alternativa, los anticuerpos modulares de la presente invención se usan para bloquear, antagonizar o agonizar los factores de crecimiento o receptores de factores de crecimiento y, de este modo, mediar en la muerte de las células diana portadoras o que necesitan el antígeno diana.

En una realización preferida alternativa, los anticuerpos modulares de la presente invención se usan para bloquear, antagonizar o agonizar enzimas y sustratos de enzimas.

En una realización preferida, un anticuerpo modular se administra a un paciente para tratar un trastorno específico. Un "paciente", para los fines de la presente invención, incluye seres humanos y otros animales, preferentemente mamíferos y, lo más preferentemente, seres humanos. Por "trastorno específico" se quiere decir, en el presente documento, un trastorno que se puede mejorar mediante la administración de una composición farmacéutica que comprende una inmunoglobulina modificada de la presente invención.

En una realización, un anticuerpo modular de acuerdo con la presente invención es el único agente terapéuticamente activo administrado a un paciente. Como alternativa, el anticuerpo modular de acuerdo con la presente invención se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos, incluyendo, entre otros, agentes citotóxicos, agentes quimioterapéuticos, citocinas, agentes inhibidores del crecimiento, agentes antihormonales, inhibidores de la quinasa, agentes antiangiogénicos, cardioprotectores, u otros agentes terapéuticos. El anticuerpo modular se puede administrar de forma concomitante con uno o más de otros regímenes terapéuticos. Por ejemplo, un anticuerpo modular de la presente invención se puede administrar al paciente junto con quimioterapia, radioterapia, o tanto quimioterapia como radioterapia. En una realización, el anticuerpo modular de acuerdo con la presente invención se puede administrar en combinación con uno o más anticuerpos, que pueden o no comprender un anticuerpo modular de la presente invención. De acuerdo con otra forma de realización de la invención, el anticuerpo modular de la presente invención y una o más terapias anticancerosas se usan para tratar las células cancerosas ex vivo. Se contempla que dicho tratamiento ex vivo puede ser útil en el trasplante de médula ósea y, en particular, trasplante autólogo de médula ósea. Por supuesto, se contempla que los anticuerpos de la invención se puedan usar en combinación con otras técnicas terapéuticas más, tales como cirugía.

Otros diversos agentes terapéuticos pueden encontrar uso para la administración con el anticuerpo modular de la presente invención. En una realización, el anticuerpo modular se administra con un agente antiangiogénico, que es un compuesto que bloquea, o interfiere en algún grado con el desarrollo de vasos sanguíneos. El factor antiangiogénico puede, por ejemplo, ser una molécula pequeña o una proteína, por ejemplo, un anticuerpo, una molécula de fusión Fc o citocina, que se une a un factor de crecimiento o receptor de factor de crecimiento implicado en la estimulación de la angiogénesis. El factor antiangiogénico preferido en el presente documento es un anticuerpo que se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). En una realización alternativa, el anticuerpo modular se administra con un agente terapéutico que induce o potencia la respuesta inmunológica adaptativa, por ejemplo, un anticuerpo dirigido a CTLA-4. En una realización alternativa, la inmunoglobulina modificada se administra con un inhibidor de la tirosina quinasa, que es una molécula que inhibe en cierta medida la actividad tirosina quinasa de una tirosina quinasa. En una realización alternativa, el anticuerpo modular de la presente invención se administra con una citocina. Por "citocina", como se usa en el presente documento, se quiere decir un término genérico para proteínas liberadas por una población celular que actúa en otra célula como mediadores intercelulares, incluyendo quimiocinas.

Se contemplan composiciones farmacéuticas en las que se formulan los anticuerpos modulares de la presente invención y uno o más agentes terapéuticamente activos. Las formulaciones estables de los anticuerpos modulares de la presente invención se preparan para almacenar mezclando dicha inmunoglobulina que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables opcionales, en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Las formulaciones que se van a usar para la administración in vivo son, preferentemente, estériles. Esto se consigue fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles u otros métodos. El anticuerpo modular y otros agentes terapéuticamente activos desvelados en el presente documento también se pueden formular como inmunoliposomas y/o encerrarse en microcápsulas.

La administración de la composición farmacéutica que comprende un anticuerpo modular de la presente invención, preferentemente en forma de una solución acuosa estéril, puede realizarse de varios modos, incluyendo, pero sin limitación, las vías oral, subcutánea, intravenosa, intranasal, intraótica, transdérmica, mucosal, tópica (p. ej., geles, ungüentos, lociones, cremas, etc.), intraperitoneal, intramuscular, intrapulmonar (p. ej., tecnología de inhalación AERx™ disponible en el mercado en Aradigm, o sistema de liberación pulmonar Inhance™ disponible en el mercado en Inhale Therapeutics), vaginal, parenteral, rectal, o intraocular.

Los anticuerpos modulares se pueden modificar mediante un método de mutagénesis para obtener un nuevo sitio de unión. La mutagénesis preferida se refiere a técnicas de aleatorización, en las que la secuencia de aminoácidos de un péptido o polipéptido está mutada al menos en una posición, por tanto, se obtiene una secuencia aleatorizada, que participa en la unión a antígeno. Por ejemplo, las secuencias de anticuerpo específicas se modifican de forma aleatoria para obtener una molécula de ácido nucleico que codifica una inmunoglobulina, dominios de inmunoglobulina o parte del mismo, que comprende al menos una unidad de repetición de nucleótidos, preferentemente dentro de una región de codificación de bucle estructural o dentro de una región terminal, que tiene la secuencia 5'-NNS-3', 5'-NNN-3', 5'NNB-3' o 5'NNK-3'. En algunas realizaciones, el ácido nucleico modificado comprende codones de nucleótidos seleccionados del grupo de TMT, WMT, BMT, RMC, RMG, MRT, SRC, KMT, RST, YMT, MKC, RSA, RRC, NNK, NNN, NNS o cualquier combinación de los mismos (la codificación es conforme a la IUPAC).

La modificación de la molécula de ácido nucleico puede realizarse introduciendo oligonucleótidos sintéticos en un segmento más grande de ácido nucleico o mediante la síntesis de novo de una molécula de ácido nucleico completa. La síntesis de ácido nucleico se puede realizar con bloques componentes de tres nucleótidos que reducirían el número de combinaciones de secuencias sin sentido si se va a codificar un subconjunto de aminoácidos (p. ej., Yanez et al. *Nucleic Acids Res.* (2004) 32:e158; Virnekas et al. *Nucleic Acids Res.* (1994) 22:5600-5607).

Cada dominio de unión potencial puede permanecer físicamente asociado a la molécula de ADN o de ARN completa que lo codifica y, además, las proteínas de fusión oligomerizan en la superficie de un paquete genético para presentar el polipéptido de unión en la estructura oligomérica nativa y funcional. Una vez que se han identificado dominios de

unión satisfactorios, se puede obtener fácilmente el gen para fines de expresión, recombinación o ingeniería adicionales. La forma que toma dicha asociación es un "paquete genético replicable", tal como un virus, célula o espora que se replica y expresa el gen que codifica el dominio de unión, y transporta el dominio de unión a su superficie externa. Otra forma es un paquete genético replicable *in vitro*, tal como ribosomas que unen el ARN de codificación con la proteína traducida. En la expresión en ribosomas, el material genético se replica mediante amplificación enzimática con polimerasas.

Esas células o virus de ácido nucleico portadores de los agentes de unión que reconocen la molécula diana están aisladas y, en caso necesario, amplificadas. El paquete genético es, preferentemente, el fago M14, y la proteína incluye la señal de transporte a la superficie externa de la proteína génica III del M13.

El sistema de expresión preferido para las proteínas de fusión es una célula hospedadora no supresora, que sería sensible a un codón de terminación, tal como un codón de terminación ámbar y, por lo tanto, se detendría la traducción. En ausencia de dicho codón de terminación, se usan dichas células hospedadoras no supresoras, preferentemente *E. coli*. En presencia de dicho codón de terminación, se usarían células hospedadoras supresoras.

Preferentemente, en el método, el vector o plásmido del paquete genético está bajo el control estrecho del elemento regulador de la transcripción, y las condiciones de cultivo se ajustan de forma que la cantidad o el número de partículas de vector o fagémido que muestran menos de dos copias de la proteína de fusión sobre la superficie de la partícula es inferior a aproximadamente un 20 %. Más preferentemente, la cantidad de partículas de vector o fagémido que muestran menos de dos copias de la proteína de fusión es inferior al 10 % de la cantidad de partículas que muestran una o más copias de la proteína de fusión. Lo más preferentemente, la cantidad es inferior al 1 %.

El vector de expresión puede ser capaz de expresar un polipéptido de unión, y se puede producir del siguiente modo: En primer lugar, se sintetiza una biblioteca génica de polipéptidos de unión introduciendo una pluralidad de polinucleótidos que codifican diferentes secuencias de unión. La pluralidad de polinucleótidos puede sintetizarse en una cantidad adecuada para unirse en combinación operable en un vector que se puede propagar para expresar una proteína de fusión de dicho polipéptido de unión. Como alternativa, la pluralidad de oligonucleótidos también se puede amplificar mediante reacción en cadena de la polimerasa para obtener suficiente material para expresión. Sin embargo, esto solo sería ventajoso si el polipéptido de unión estuviera codificado por una secuencia de polinucleótidos grande, por ejemplo, mayor de 200 pares de bases o, en ocasiones, mayor de 300 pares de bases. Por lo tanto, preferentemente se forma una biblioteca sintética diversa, lista para seleccionar de dicha biblioteca diversa al menos un vector de expresión capaz de producir polipéptidos de unión que tienen la función y la propiedad de unión preseleccionada deseada, tal como especificidad.

La molécula de ácido nucleico modificada aleatoriamente puede comprender las unidades de repetición identificadas anteriormente, que codifican todos los aminoácidos de origen natural o un subconjunto de los mismos. Dichas bibliotecas que contienen secuencias modificadas en las que un subconjunto específico de aminoácidos se usa para fines de modificación se denominan bibliotecas "centradas". El miembro de dichas bibliotecas tiene una probabilidad mayor de ser un aminoácido de dicho subconjunto en la posición modificada, que es al menos dos veces mayor de lo normal, preferentemente al menos 3 veces o incluso al menos 4 veces mayor. Dichas bibliotecas también tienen un número limitado o menor de miembros de la biblioteca, de modo que el número de miembros reales de la biblioteca alcanza el número de miembros teóricos de la biblioteca. En algunos casos, el número de miembros de biblioteca de una biblioteca objetivo no es inferior a 10^3 veces el número teórico, preferentemente, no inferior a 10^2 veces y, aún más preferentemente, no inferior a 10 veces.

Normalmente, las bibliotecas comprenden al menos 10 proteínas de fusión o potenciales agentes de unión o variantes de proteínas estructurales, preferentemente al menos 100, más preferentemente al menos 1.000, más preferentemente al menos 10^4 , más preferentemente al menos 10^5 , más preferentemente al menos 10^6 , más preferentemente al menos 10^7 , más preferentemente al menos 10^8 , más preferentemente al menos 10^9 , más preferentemente al menos 10^{10} , más preferentemente al menos 10^{11} , hasta 10^{12} , en los casos de métodos de expresión *in vitro*, tal como expresión en ribosomas, es viable incluso un número más alto.

Se dispone de varias alternativas para la fabricación del gen que codifica la biblioteca aleatorizada. Es posible producir el ADN mediante un enfoque completamente sintético, en el que la secuencia se divide en fragmentos solapantes que después se preparan como oligonucleótidos sintéticos. Estos oligonucleótidos se mezclan, y se hibridan entre sí calentando primero hasta aproximadamente 100 °C y, después, enfriando lentamente hasta la temperatura ambiente. Después de esta etapa de hibridación, el gen ensamblado sintéticamente se puede clonar directamente o se puede amplificar mediante PCR antes de la clonación.

Como alternativa, se pueden usar otros métodos para la mutagénesis dirigida para la generación del inserto de la biblioteca, tal como el método de Kunkel (Kunkel TA. Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. Proc Natl Acad Sci USA. Ene 1985; 82(2):488-92) o el método de DpnI (Weiner MP, Costa GL, Schoettlin W, Cline J, Mathur E, Bauer JC. Site-directed mutagenesis of double-stranded DNA by the polymerase chain reaction. Gen. 30 de diciembre de 2005; 151(1-2):119-23).

Con varios fines, puede ser ventajoso introducir mutaciones silenciosas en la secuencia que codifica el inserto de la biblioteca. Por ejemplo, se pueden introducir sitios de restricción que facilitan la clonación o el intercambio modular de partes de la secuencia. Otro ejemplo para la introducción de mutaciones silenciosas es la capacidad para "marcar" bibliotecas, que significa darles un codón específico en una posición seleccionada, lo que les permite (o a los clones seleccionados derivados de los mismos), por ejemplo, ser reconocidos durante las siguientes etapas, en las que, por ejemplo, diferentes bibliotecas con diferentes características se pueden mezclar y usar como mezcla en el procedimiento de selección (panning).

Asimismo, se desvela un método para producir un oligómero de dominios de anticuerpo modular que se unen a una diana, que comprende las etapas de:

- proporcionar una biblioteca de oligómeros de los dominios de anticuerpo modular producidos de acuerdo con el método tal como se ha descrito
- poner en contacto dicha biblioteca con dicha diana en presencia de un ligando estructural,
- seleccionar un miembro de la biblioteca que se una a dicha diana en presencia de un ligando estructural, y
- fabricar una preparación del oligómero funcional.

El ligando estructural se puede seleccionar del grupo que consiste en una molécula efectora, FcRn, Proteína A, Proteína G, Proteína L y diana en CDR. Como un ejemplo, la molécula efectora se puede seleccionar del grupo que consiste en CD64, CD32, CD16 y receptores Fc.

Los oligómeros pueden ser dímeros seleccionados del grupo de VH/VL, CH1/CL, CH2/CH2, CH3/CH3, Fc y Fab, o cadenas sencillas de los mismos.

El método puede proporcionar una biblioteca que contiene al menos 10^2 clones independientes que expresan oligómeros funcionales de dominios de anticuerpo modular o variantes de los mismos. También se proporciona un conjunto de clones independientes preseleccionados que, por ejemplo, tiene afinidad madurada, comprendiendo el conjunto, preferentemente, al menos 10, más preferentemente al menos 100, más preferentemente al menos 1000, más preferentemente al menos 10000, incluso más preferentemente más de 100.000 clones independientes. Dichas bibliotecas, que contienen los conjuntos preseleccionados, son fuentes preferidas para seleccionar los anticuerpos modulares de alta afinidad.

Las bibliotecas como se usan de acuerdo con la invención comprenden, preferentemente, al menos 10^2 miembros de la biblioteca, más preferentemente, al menos 10^3 , más preferentemente, al menos 10^4 , más preferentemente, al menos 10^5 , más preferentemente al menos 10^6 miembros de la biblioteca, más preferentemente, al menos 10^7 , más preferentemente, al menos 10^8 , más preferentemente, al menos 10^9 , más preferentemente, al menos 10^{10} , más preferentemente, al menos 10^{11} , hasta 10^{12} miembros de una biblioteca, derivados preferentemente de una molécula parental, que es un anticuerpo modular funcional como un armazón que contiene al menos una función específica o resto de unión, y derivados de los mismos para obtener por ingeniería un nuevo sitio de unión aparte del original, la región de unión funcional de dicho resto parental.

Normalmente, las bibliotecas contienen además variantes del anticuerpo modular, resultantes de la mutagénesis o técnicas de aleatorización. Estas variantes incluyen anticuerpos inactivos o no funcionales. Por lo tanto, se prefiere que dichas bibliotecas se sometan a detección selectiva con el ensayo adecuado para determinar el efecto funcional. Las bibliotecas preferidas comprenden al menos 10^2 variantes de anticuerpos modulares, más preferentemente, al menos 10^3 , más preferentemente, al menos 10^4 , más preferentemente, al menos 10^5 , más preferentemente, al menos 10^6 , más preferentemente, al menos 10^7 , más preferentemente, al menos 10^8 , más preferentemente, al menos 10^9 , más preferentemente, al menos 10^{10} , más preferentemente, al menos 10^{11} , hasta 10^{12} variantes o más para proporcionar un repertorio muy diverso de anticuerpos para seleccionar los mejores agentes de unión adecuados. Cualquiera de estas bibliotecas sintéticas se puede generar usando métodos de mutagénesis como se desvela en el presente documento.

Preferentemente, la biblioteca es una biblioteca de levaduras y la célula hospedadora de levadura exhibe en la superficie los oligómeros con la actividad biológica. La célula hospedadora de levadura se selecciona, preferentemente, de los géneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Schizosaccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Yarrowia* y *Candida*. Lo más preferido, la célula hospedadora es *Saccharomyces cerevisiae*.

También se desvela una biblioteca de alta calidad que contiene al menos 10^2 clones independientes de dímeros funcionales de dominios de anticuerpo modular o variantes de los mismos, o los conjuntos de clones optimizados o preseleccionados, por ejemplo, los clones de afinidad madurada, conteniendo los conjuntos al menos 10 clones independientes que se unen a una diana y a un ligando estructural. La diana puede ser un ligando que se une a una molécula parental objeto de una variación de aminoácidos. La molécula parental puede ser un oligómero funcional, en particular un Fc funcional o un Fab funcional, o partes de los mismos.

La biblioteca puede contener dímeros funcionales de dominios de anticuerpo modular que se unen a una diana y a un ligando estructural, y al menos un 20 %, preferentemente al menos un 30 %, más preferentemente al menos un 40 %

de los dímeros funcionales se unen a CD64. Esto es particularmente preferido con un anticuerpo modular que contiene dominios CH2, tal como un armazón Fc.

5 Como alternativa, la biblioteca puede contener dímeros funcionales de dominios de anticuerpo modular que se unen a una diana y a un ligando estructural, y al menos un 20 %, preferentemente al menos un 30 %, más preferentemente, al menos un 40 % de los dímeros funcionales se unen a la proteína A. Esto es particularmente preferido con un anticuerpo modular que contiene los dominios CH2 y CH3, tal como un armazón Fc.

10 Como alternativa, la biblioteca puede contener dímeros funcionales de dominios de anticuerpo modular que se unen a una diana y a un ligando estructural, y al menos un 20 %, preferentemente al menos un 30 %, más preferentemente al menos un 40 % de los dímeros funcionales se unen a la misma diana de CDR. Esto es particularmente preferido con los anticuerpos modulares que contienen una región variable, tal como un armazón Fab con especificidad por una única diana de CDR.

15 Como es bien conocido en la técnica, existen varias tecnologías de expresión y selección que se pueden usar para la identificación y aislamiento de proteínas con determinadas características y afinidades de unión, incluyendo, por ejemplo, tecnologías de expresión tales como celulares y no celulares, en particular sistemas de expresión movilizados. Entre los sistemas celulares se pueden usar expresión en fagos, expresión en virus, expresión en levaduras o en otras células eucariotas, tales como expresión en células de mamífero o de insectos. Los sistemas movilizados están relacionados con los sistemas de expresión en la forma soluble, tales como sistemas de expresión in vitro, entre ellos la expresión en ribosomas, expresión de ARNm o expresión de ácido nucleico.

20 Los métodos para la producción y detección selectiva de las variantes de anticuerpos son bien conocidos en la técnica. Se describen métodos generales para la biología molecular de los anticuerpos, la expresión, la purificación y la detección selectiva en *Antibody Engineering*, editado por Duebel & Kontermann, Springer-Verlag, Heidelberg, 2001) y Hayhurst & Georgiou, 2001, *Curr Opin Chem Biol* 5:683-689; Maynard & Georgiou, 2000, *Annu Rev Biomed Eng* 2:339-76.

30 Una biblioteca se puede diseñar como biblioteca exclusiva que contiene al menos un 50 % de formatos específicos, preferentemente al menos un 60 %, más preferentemente al menos un 70 %, más preferentemente al menos un 80 %, más preferentemente al menos un 90 %, o los que consisten principalmente en formatos de anticuerpo específicos. Se prefieren los formatos de anticuerpo específicos, de modo que la biblioteca preferida se seleccione del grupo que consiste en una biblioteca de VH, biblioteca de VHH, biblioteca de V κ , biblioteca de V λ , biblioteca de Fab, una biblioteca de CH1/CL, una biblioteca de Fc y una biblioteca de CH3. Se prefieren especialmente las bibliotecas caracterizadas por el contenido de moléculas compuestas que contienen más de un dominio de anticuerpo, tal como una biblioteca de IgG o biblioteca de Fc. Otras bibliotecas preferidas son las que contienen receptores de linfocitos T, que forman bibliotecas de receptores de linfocitos T. Otras bibliotecas preferidas son bibliotecas de epítomos, en las que la proteína de fusión comprende una molécula con una variante de un epítomo, que también permite la selección de moléculas competitivas que tienen una función de unión similar pero una funcionalidad diferente. Un ejemplo es una biblioteca de TNF alfa, en la que trimeros de la proteína de fusión de TNF alfa se expresan mediante un único paquete genético.

45 La descripción anterior se entenderá más completamente con referencia a los ejemplos siguientes. Dichos ejemplos son, sin embargo, meramente representativos de los métodos de la práctica de una o más realizaciones de la presente invención y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

Ejemplos

50 **Ejemplo 1:** Construcción de la biblioteca de Fcab no centrada (Fcab01) y expresión en superficie de fagos

La estructura cristalina de un fragmento Fc de IgG1, publicada en la base de datos de Brookhaven como la entrada 1OQO.pdb, se usó para ayudar en el diseño de la biblioteca de Fcab.

55 La secuencia que se usó como base para la construcción de la biblioteca de Fcab se proporciona en la SEQ ID No. 1 (Figura 3). En esta secuencia, el primer aminoácido corresponde a Glu 216 de IgG1 humana (numeración de la UE: de acuerdo con la base de datos de la IMGT (http://imgt.cines.fr/textes/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHC_allgenes.html; lookup 2007 06 25), es el primer resto de la región de bisagra de la IgG1 humana, que se proporciona como: (E)PKSCDKTHTCPPCP) de la región de bisagra de la cadena constante pesada de la IgG1 humana). El penúltimo resto de la SEQ ID No. 1 (Figura 3) corresponde a Gly 446 de la IgG1 humana (numeración de la UE: IMGT: número de resto 129 del dominio CH3 de la IgG1 humana).

65 Después del detallado análisis de la estructura de 1oqo.pdb y mediante inspección visual de los restos que forman los bucles que conectan las hebras beta, se decidió aleatorizar los restos 144, 145 y 146, que forman parte del bucle que conecta la hebra beta A-B, así como 198, 199, 200, 203 y 204, que forman parte del bucle que conecta la hebra beta E-F de la SEQ ID No. 1 (FIGURA 3). Además de los restos mutados, se insertaron 5 restos en el número de resto 198

de la SEQ ID No. 1 (Figura 3). En la SEQ ID No. 2 (Figura 4), se proporciona la secuencia del inserto de la biblioteca de la biblioteca Fcab01 en la que todas las posiciones de los restos aleatorizados, así como los 5 restos insertados se designan con la letra X.

- 5 El gen modificado por ingeniería se produjo mediante una serie de reacciones de PCR usando cebadores degenerados seguido de ligación de los productos de la PCR resultantes. Para facilitar la unión, algunos de los codones de la secuencia de nucleótidos que codifica la SEQ ID No. 1 (Figura 3) se modificaron para producir sitios de restricción sin cambiar las secuencias de aminoácidos (mutaciones silenciosas). Para la inserción en el vector de clonación pHEN1 (Nucleic Acids Res. 11 Ago 1991; 19(15):4133-7. Multi-subunit proteins on the surface of filamentous phage: methodologies for displaying antibody (Fab) heavy and light chains. Hoogenboom HR, Griffiths AD, Johnson KS, Chiswell DJ, Hudson P, Winter G.) en marco con la señal de secreción pelB, se usó el sitio de restricción NcoI cerca del extremo 3' de la señal de secreción pelB. Para los restos aleatorizados, se eligió el codón NNS (código IUPAC, en el que S significa los nucleótidos C y G) que codifica los 20 aminoácidos de origen natural, pero evita 2 de 3 codones de terminación. También se pueden usar otros codones tales como, por ejemplo, el NNB (en el que B significa los nucleótidos T, C y G) también se pueden usar. La secuencia modificada por ingeniería se proporciona como una secuencia de nucleótidos en la SEQ ID No. 3 (Figura 5). Esta secuencia también incluye los sitios de restricción usados para clonar en el vector de expresión en fagémido pHEN1, es decir, un sitio NcoI en el extremo 5' y un sitio NotI en el extremo 3'.
- 10
- 15
- 20 Las secuencias de los cebadores para PCR usados para ensamblar el dominio CH3 mutado se proporcionan en la SEQ ID No. 4 a SEQ ID No. 9.

SEQ ID No. 4 (cebador para PCR EPKSNCO)

cctatggccgagcccaaatcttgacaaaactc

- 25 SEQ ID No. 4 (cebador para PCR CH3LSAC)

agtcgagctcgtcacgggatggggcaggc

SEQ ID No. 6 (cebador para PCR CH3CSAC)

gtacgagctcnnnsnnsnnscaagtcagcctgacctgcctgg

SEQ ID No. 7 (cebador para PCR CH3CHIN)

- 30 tgccaagcttgctgtagaggaagaaggagccg

SEQ ID No. 8 (cebador para PCR CH3RHIN)

tgccaagctaccgtgnsnnsnnsaggtggnsnnsnggaacgtctctcatgctccg

SEQ ID No. 9 (cebador para PCR CH3RNOT) agttgcgccgcttaccggagacagggagag

- 35 agttgcgccgcttaccggagacagggagag

La Figura 1 muestra una presentación esquemática de los fragmentos de PCR generados para el ensamblaje del gen mutado y los cebadores usados.

- Se usó ADNc de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal humano 3D6 (Felgenhauer M, Kohl J, Ruker F. Nucleotide sequences of the cDNAs encoding the V-regions of Human L-chains of a human mono-clonal antibody specific to HIV-1- gp41. Nucleic Acids Res. 25 Ago 1990;18(16):4927) como molde para las reacciones de la PCR. Los 3 productos de la PCR se digirieron con SacI y/o HindIII respectivamente y se unieron entre sí. El producto de la unión se digirió adicionalmente con NcoI y NotI y se ligó en el vector fagémido de expresión en superficie pHEN1, que se había digerido previamente con NcoI y NotI. El producto de la ligación se utilizó después para transformar E. coli mediante electroporación. Una serie de clones seleccionados se controló mediante análisis de restricción y mediante secuenciación de ADN y se halló que contenían el inserto según lo planeado, incluyendo las secuencias aleatorizadas correctamente insertadas. Para las etapas siguientes de la preparación de fagos se siguieron protocolos estándar. En resumen, la mezcla de la unión se utilizó después para transformar células TG1 de E. coli mediante electroporación. Posteriormente, las partículas de fago se rescataron de las células TG1 de E. coli con el fago colaborador M13-KO7. Después, las partículas de fago se precipitaron del sobrenadante del cultivo con PEG/NaCl en dos etapas, se disolvieron en agua y se usaron para la selección mediante adsorción o, como alternativa, se almacenaron a -80 °C
- 40
- 45
- 50

Ejemplo 2: Construcción de la biblioteca de Fcab centrada (Fcab02) y expresión en superficie de fagos

- 55 Como se describe en el Ejemplo 1, se preparó una biblioteca de Fcab en la que las posiciones aleatorizadas de la biblioteca están completamente aleatorizadas, es decir, están codificadas por un codón, tal como NNS NNB, NNK, NNN u otros.

- 60 Por claridad, el significado de letras tales como N, B, S o K se define en el código de ambigüedad de nucleótidos de la IUPAC, que se proporciona en la tabla siguiente:

Tabla 1. Código de ambigüedad de nucleótidos de la IUPAC

Símbolo	Significado	Ácido nucleico
A	A	Adenina
C	C	Citosina

G	G	Guanina
T	T	Timina
U	U	Uracilo
M	A o C	
R	A o G	
W	A o T	
S	C o G	
Y	C o T	
K	G o T	
V	A o C o G	
H	A o C o T	
D	A o G o T	
B	C o G o T	
X	G o A o T o C	
N	G o A o T o C	

Fuente: Nomenclature for incompletely specified bases in nucleic acid sequences: recommendations 1984. A Cornish-Bowden, Nucleic Acids Res. 10 May 1985; 13(9): 3021-3030.

- 5 Estos codones indicados anteriormente están diseñados de un modo tal que los 20 aminoácidos están codificados por ellos. Puede ser preferible elegir subconjuntos de los posibles aminoácidos. Se pueden encontrar ejemplos en la bibliografía (Fellouse FA, Li B, Compaan DM, Peden AA, Hymowitz SG, Sidhu SS. Molecular recognition by a binary code. J Mol Biol. 20 May 2005;348(5): 1153-62., Epub 1 Abr 2005.; Fellouse FA, Wiesmann C, Sidhu SS. Synthetic antibodies from a four-amino-acid code: a dominant role for tyrosine in antigen recognition. Proc Natl Acad Sci USA. 24 Ago 2004; 101 (34):12467-72. Epub 11 Ago 2004). Se pueden construir bibliotecas centradas que, por ejemplo, permiten solo 4 tipos de aminoácidos diferentes, por ejemplo, usando el codón KMT, que codifica los aminoácidos Ser, Tyr, Ala y Asp.

15 Una biblioteca Fcab centrada, designada Fcab02, se ha construido del mismo modo que se describe en el ejemplo 1 a excepción de que los codones NNS se sustituyeron por los codones KMT.

Por lo tanto, la letra "X" en la SEQ ID No. 2 (Figura 4) ahora significa "S, Y, A y D" (Ser, Tyr, Ala y Asp) con el fin de describir la biblioteca Fcab02 centrada

- 20 **Ejemplo 3:** Construcción de una biblioteca de expresión en superficie de fagos con restos de aminoácidos adicionales entre el inserto de la biblioteca (pareja de unión) y p3

25 Con el fin de investigar la accesibilidad del potencial sitio de unión de la proteína expresada, se realiza un ensayo de unión: la suspensión de fagos se hace reaccionar con microplacas (o inmunotubos) revestidas con mAb anti-myc 9E10. Después de lavar, los fagos unidos se detectan con el conjugado anti-M13-enzima. Como control, el fago colaborador, que no expresa la proteína de fusión y el marcador myc, se hace reaccionar con las placas. Otros controles son la reacción de los fagos con placas no revestidas y la reacción de los fagos con antisuero que reconoce la pareja de fusión-p3 de los fagos.

30 Idealmente, la reactividad anti-myc de los fagos que expresan la proteína de fusión-p3 deberá dar lecturas en ELISA muy claras, mientras que las reacciones de fagos colaboradores al anti-myc-mAb no deberán estar por encima del valor de fondo (placas no revestidas). La estructura de un dímero de CH3 expresado en la superficie de un fago M13 a través de la unión a la proteína III como anclaje es tal que cada CH3 está anclado a la proteína III usando varias longitudes de enlazadores y composiciones. Por lo tanto, el dímero CH3 se expresa, preferentemente, mediante dos anclas.

Optimización del enlazador:

40 El enlazador entre la proteína que se va a expresar y la proteína de anclaje del paquete genético (en el caso del fago filamentoso, por ejemplo, p3, p8, pX, pIX, pVII) es especialmente importante si el potencial sitio de unión de la molécula expresada está en las proximidades espaciales de la partícula de fago. En bibliotecas de anticuerpo que utilizan dominios variables y sitios de unión a antígeno formados por bucles CDR y expresan los miembros de la biblioteca como fusión amino-terminal con p3, el potencial sitio de unión a antígeno está alejado de la partícula de fago. Por lo tanto, la estructura del enlazador entre miembros de la biblioteca y la proteína de la cubierta del fago no es importante.

45 La modificación por ingeniería de los bucles de la parte inferior de los dominios de inmunoglobulina y la realización de expresión en fagos puede, no obstante, ser un proceso ineficiente y disminuye los rendimientos de los clones de unión a antígeno o, incluso, lo impide. La variación del enlazador entre una proteína miembros de la biblioteca y su pareja de fusión sobre la superficie puede resolver o puede al menos reducir este problema.

50 Con el fin de seleccionar secuencias de enlazadores óptimas (en términos de longitud y flexibilidad, así como de estabilidad), se puede preparar una biblioteca de enlazadores en la que la proteína de anclaje en la superficie del

paquete genético replicable se fusiona con una proteína de unión conocida que es, por motivos estéricos, considerablemente difícil de seleccionar.

Esta biblioteca de secuencias se puede modificar en longitud y contenido de aminoácidos.

5 Los métodos de selección de la biblioteca de enlazadores para los enlazadores óptimos dependen de la aplicación, pero básicamente deben ser para seleccionar todas las propiedades que se desea tener en determinada metodología. El enriquecimiento contra un antígeno difícil de seleccionar puede producir secuencias enlazadoras que permiten a los miembros de la biblioteca un buen acceso al antígeno. La incubación en soluciones de proteasas o en otras
10 condiciones adversas o los pases frecuentes a través de células hospedadoras en condiciones proteolíticas (por ejemplo, antiguos cultivos microbianos) puede ser una selección adecuada de los enlazadores de expresión estables.

Una biblioteca de enlazadores se puede producir mediante cualquier tecnología de biblioteca bien conocida. Las longitudes de la secuencia enlazadora sintética pueden variar entre 10-500 aminoácidos. Como alternativa, el enlazador puede ser proteínas completas que se sabe que son de naturaleza flexible.
15

Optimización del enlazador Fcab01:

20 Como un ejemplo, se puede usar la biblioteca Fcab01 (como se describe en el ejemplo 1). Originalmente, esta biblioteca se clona en el vector pHEN1 de expresión en fagémidos usando los sitios de restricción NcoI y NotI. Cuando se clonan de esta manera, 18 restos de aminoácidos están entre el resto de aminoácido C-terminal del inserto de la biblioteca Fcab01 y el resto de aminoácido N-terminal del fago M13 p3. La secuencia de esta región de unión se proporciona en la SEQ ID No. 10 SPGKAAAEQKLISEEDLNGAATVES - como se explica del siguiente modo: los primeros 4 restos, SPGK, son los 4 restos en C-terminal del inserto de la biblioteca Fcab01, seguidos de la secuencia
25 de aminoácidos AAA, que son los restos de aminoácidos codificados por el sitio de restricción NotI, seguido por la secuencia EQKLISEEDL, que es el epitopo myc, seguido de NGAA, tras lo cual existe un codón de terminación ámbar, que se traduce en glutamina (Q) en las cepas supresoras ámbar de E. coli, tales como TG1. Los 4 restos C-terminales de la SEQ ID No. 10, TVES, son los 4 restos en N-terminal del fago M13 p3 que están presentes en el vector pHEN1.

30 Con el fin de construir un fago que expresa un inserto de Fcab con un aumento de la distancia entre el Fcab (la pareja de unión) y el cuerpo del fago (el paquete genético), se insertaron 5 restos adicionales en el extremo C-terminal del inserto de Fcab rFcabRGD4, directamente cadena arriba del sitio de clonación NotI, lo que dio como resultado el clon FcabRGD4L. FcabRGD4 es un Fcab que tiene un motivo RGD de unión a integrina insertado en el bucle EF del dominio CH3 y que se une a $\alpha\beta 3$ -integrina en el ELISA. Como una secuencia enlazadora de mayor longitud, se usó la
35 secuencia de aminoácidos EGGGS, que aparece 8 veces en la secuencia del fago M13 p3. La secuencia de aminoácidos resultante de FcabRGD4L tal como se expresa después de la clonación en pHEN1 se da en la SEQ ID N ° 11 (Figura 5). En la SEQ ID No. 11 (Figura 5), los restos de aminoácidos 198-204 representan el motivo RGD, el resto de aminoácido 237 es el resto C-terminal de la pieza de inserción Fcab, los restos 238-242 representan la secuencia enlazadora insertada (que es la diferencia con el pHEN1 no modificado), seguido del marcador myc, el codón de terminación ámbar y la secuencia p3.
40

Para la clonación de la construcción, la secuencia de FcabRGD4 se amplificó a partir de pHENFcabRGD4 (SEQ ID No. 12) usando los cebadores de PCR EPKSNCO (SEQ ID No. 4) y CH3rlink actagcggccgcagagccaccacctctaccggagacagggagag (SEQ ID No. 13) y se clonó a través de los sitios de restricción
45 NcoI y NotI en el vector pHEN1. El vector resultante, pHENFcabRGD4L (SEQ ID No. 14 / Figura 7), tiene la secuencia enlazadora adicional en las posiciones de nucleótidos 3.057 a 3.071.

Los dos vectores fagémidos, pHENFcabRGD4 y pHENFcabRGD4L se utilizaron para transformar TG1 de E. coli. Posteriormente, las partículas de fago se rescataron de las células TG1 de E. coli con el fago colaborador M13-KO7.
50 Después, las partículas de fago se precipitaron del sobrenadante del cultivo con PEG/NaCl en dos etapas, se disolvieron en agua y se usaron para el ELISA.

El ELISA del fago se realizó del siguiente modo:

55 La suspensión de fagos se hace reaccionar con microplacas (o inmunotubos) revestidos con $\alpha\beta 3$ -integrina. Después de lavar, los fagos unidos se detectan con el conjugado anti-M13-enzima. Como controles, el fago colaborador, que no expresa la proteína de fusión y el marcador myc, se hace reaccionar con las placas, así como las partículas de fago portadoras de wtFcab sobre su superficie. Otros controles son la reacción de los fagos con placas no revestidas y la reacción de los fagos con antisuero que reconoce la pareja de fusión-Fcab de los fagos. Las partículas de fago con el enlazador de mayor longitud resultante de pHENFcabRGD4L reaccionan más fácilmente con $\alpha\beta 3$ -integrina que las
60 partículas de fago con el enlazador original, tal como figura en pHENFcabRGD4, y, por lo tanto, dan una señal más fuerte en ELISA.

Se pueden realizar selecciones de fagos en las que las partículas de fago con wtFcab se mezclan con pequeñas cantidades de partículas de fago que llevan FcabRGD4 o FcabRGD4L. Después de varias (normalmente 3-5) rondas de adsorción se seleccionan, preferentemente, los fagos que expresan FcabRGD4L.
65

Ejemplo 4: Diseño de la biblioteca Fcab™

Diseño de Bibliotecas Fcab (ilustrado en la Figura 2): para la aleatorización se consideran posiciones de aminoácidos que no están en los bucles CDR de los dominios constantes CH3 de los anticuerpos. Especialmente se consideran los bucles A-B, C-D y E-F ya que están en un lado del dominio. En el presente documento se describen algunos de los criterios de diseño para la aleatorización en una posición determinada.

Los aminoácidos involucrados con frecuencia en interacciones anticuerpo-antígeno se describen en el presente documento para su inclusión en una biblioteca centrada.

Se ha demostrado que las bibliotecas con uso restringido de aminoácidos son suficientes para generar agentes de unión contra virtualmente cualquier antígeno (Sidhu y Fellhouse, NATURE CHEMICAL BIOLOGY VOLUME 2 página 682ff.; Koide et al PNAS, volumen 104 p6632-6637). La ventaja de tales bibliotecas restringidas (o centradas) es que pueden abarcarse completamente por las tecnologías actuales. Idealmente, el uso de aminoácidos refleja una utilización de aminoácidos naturales de la unión a los receptores de ligandos. Sin embargo, se ha notificado que incluso las bibliotecas que utilizan solo 2 aminoácidos (tirosina y serina) producen buenos resultados de la selección (en términos de frecuencia de los enlazadores contra enlazadores diferentes y en términos de afinidad).

Flexibilidad del bucle:

La proteína estructural puede requerir ciertas estructuras de bucle con el fin de mantener la estructura natural global. La aleatorización de muchas posiciones de los aminoácidos en los bucles e incluso el alargamiento de los bucles se puede facilitar generando determinadas secuencias en uno o en ambos lados de las posiciones aleatorizadas. Estas secuencias pueden ser secuencias flexibles con el fin de permitir la compensación por cualquier tensión con determinadas secuencias de la biblioteca en dicha posición.

Tabla 2: Ejemplos de bibliotecas Fcab™, centradas y no centradas

	nº de posiciones aleatorizadas	Diversidad teórica a nivel de aminoácidos	Número de clones bacterianos independientes
Fcab01	13	8,2x10 ¹⁶	0,6x10 ⁹
Fcab02	13, centrada	6,7x10 ¹	0,6x10 ⁹
Fcab03	13	8,2x10 ¹⁶	1,0x10 ⁹
Fcab04	13, centrada	6,7x10 ¹	0,8x10 ⁹
Fcab05	15	1,3x10 ¹⁸	0,8x10 ⁹
Fcab06	15, centrada	1,3x10 ⁹	1,0x10 ⁹

La biblioteca Fcab01 se describe en los ejemplos anteriores. El espacio de la secuencia de los diseños de la biblioteca centrada Fcab02, Fcab04 y Fcab06 están cubiertos por los tamaños reales de las bibliotecas bacterianas de aproximadamente 10e9. Por el contrario, las bibliotecas completamente aleatorias Fcab01, Fcab03 y Fcab05 en realidad están insuficientemente representadas.

Diseño de aleatorización de bucle en levaduras

De manera similar a los ejemplos mencionados anteriormente para el diseño de la biblioteca Fcab y la generación de la biblioteca en bacterias, se generaron bibliotecas de levaduras. Tal como se muestra en la Tabla 3, se generaron varias combinaciones de bucles AB modificados, bucles CD y bucles EF. El bucle AB modificado en este ejemplo varía del aminoácido 358 a 362 (secuencia wt "LTKNQ"), el bucle CD modificado del aminoácido 384 a 388 (secuencia wt "LTKNQ") y el bucle EF de 413 a 419 (secuencia wt "DKSRWQQ").

Como se ha mencionado anteriormente, "X" representa una aleatorización completa y "Z" un diseño centrado. Los aminoácidos que se insertaron y no están presentes en el armazón de Fc silvestre se escriben entre paréntesis en la tabla 3. Para las bibliotecas en las que no se modificaron los bucles, el código de aminoácidos de una letra de la respectiva secuencia wt se cita en la tabla. Como el número de combinaciones teóricas excede en la mayoría de estas bibliotecas el número experimental de los clones, el número de clones de levadura independientes generados se muestra en la última columna.

Tabla 3: Ejemplos de bibliotecas Fcab™, centradas y no centradas, con mutaciones e inserciones en el bucle AB, el bucle CD y el bucle EF.

Nombre de la biblioteca	tamaño teórico	Bucle AB	Bucle CD	Bucle EF	Clones independientes
Fcab05	2,0x10 ²²	ZXXXZ	NGQPE	(XXXXX)XXXRWXX	2,2x10 ⁴
Fcab05sABCD	7,5x10 ³¹	XXXXX	XXXXX	(XXXXX)XXXRWXX	1,1x10 ⁶
Fcab05sCD	6,8x10 ²⁹	ZXXXZ	XXXXX	(XXXXX)XXXRWXX	8,6x10 ⁶
Fcab05sAB	1,3x10 ²⁴	XXXXX	NGQPE	(XXXXX)XXXRWXX	5,3x10 ⁷
Fcab07	3,4x10 ¹⁰	LTKNQ	NGQPE	XXXXXXXX	5,3x10 ⁷
Fcab07AB	1,2x10 ¹⁸	XXXXX	NGQPE	XXXXXXXX	4,8x10 ⁶
Fcab07ABb	1,2x10 ¹⁸	XXXXX	NGQPE	XXXXXXXX	1,3x10 ⁷
Fcab07b	3,4x10 ¹⁰	LTKNQ	NGQPE	XXXXXXXX	3,7x10 ⁷
Fcab07CD	1,2x10 ¹⁸	LTKNQ	XXXPE	XXXXXXXX	1,9x10 ⁷
Fcab07CDAB	3,9x10 ²⁵	XXXXX	XXXPE	XXXXXXXX	1,7x10 ⁷
Fcab08	3,4x10 ⁷	XXXXX	NGQPE	DKSRWQQ	8,5x10 ⁶
Fcab08EF	1,2x10 ¹⁸	XXXXX	NGQPE	XXXXXXXX	2,2x10 ⁷

Ejemplo 5: Clonación de bibliotecas de expresión en levadura mediante vector de recombinación homóloga

5 El pYD1 (Invitrogen) se utiliza como el vector básico. El vector se modifica de la siguiente manera, con el fin de eliminar un sitio XhoI: pYD1 se escinde con XhoI, se trata con el fragmento Klenow de la ADN polimerasa y se vuelve a ligar. La secuencia resultante se da en pYD1dX (SEQ ID No. 15 / Figura 8). pYD1dX contiene un sitio de restricción BamHI único en la posición 921/925 y un sitio de restricción NotI único en la posición 963/967. Se abre con estas dos enzimas de restricción. Un inserto que codifica CH1-bisagra-CH2-CH3 de la IgG1 humana se prepara mediante PCR a partir de

10 ADNc que codifica la cadena pesada de un anticuerpo monoclonal IgG1 humana. En este inserto se introduce una mutación puntual usando procedimientos estándar para mutar el resto de cisteína en C-terminal del dominio CH1 a una serina. El inserto se amplifica usando cebadores de PCR que se unen a un sitio de restricción BamHI y NotI en ambos extremos respectivamente. Estos sitios de restricción se utilizan después para clonar el inserto en pYD1dX para producir el vector de expresión pYD1dXFc (SEQ ID No. 16 / Figura 9). El codón mutado en el extremo C-terminal del dominio CH1 (Cys a Ser) está en las posiciones 1233 a 1235 en la secuencia de pYD1 DxFc. El codón de terminación del inserto está en la posición 1917/1919.

Este vector se utiliza como un control positivo para la expresión de CH1-bisagra-CH2-CH3 humano sobre la superficie de la levadura y como punto de partida para la construcción del vector pYD1CH12 vector (ver más adelante).

Clonación de las bibliotecas

La clonación de las bibliotecas en las que las mutaciones se introducen en los bucles estructurales de los dominios CH3 se realiza en la levadura mediante recombinación homóloga (reparación de huecos). Con este fin, se prepara un vector receptor que carece del dominio CH3: se escinde el pYD1dXFc con XhoI (posición 1603/1607) y NotI (posición 1921/1925), el fragmento grande se prepara mediante electroforesis en gel preparativa, se trata con el fragmento Klenow de la ADN polimerasa y se vuelve a ligar. Este procedimiento reconstituye un sitio XhoI único (posición 1603/1607) y el vector dado pYD1 CH12 (SEQ ID No. 17 / Figura 10). Posteriormente, pYD1CH12 se escinde con XhoI y se utiliza como vector receptor para la reparación de huecos en la levadura.

30 Como alternativa, para las bibliotecas indicadas en la Tabla 3 se construyó un vector receptor diferente, que comprendía solo la región de bisagra, los dominios CH1 y CH2, pero sin el dominio CH1. En este vector, el dominio CH1 se eliminó cortando con BamHI (posición: 921/926) y XhoI (posición: 1603/1608). Sin embargo, los autores introdujeron un fragmento producido mediante PCR que comprende la región de bisagra, el dominio CH2 y los correspondientes sitios de enzimas de restricción. El plásmido resultante es pYD1_dX_dCH1_Fcab_wt (SEQ ID No. 428 / Figura 29). En una etapa adicional, los autores eliminaron el dominio CH3 del último plásmido digiriendo con XhoI (1309/1314) y NotI (1626/1633) y se sustituyó por dos marcadores secuenciales: el marcador V5 seguida del marcador His6. Se obtuvo esta secuencia mediante amplificación por PCR a partir del vector pYD1 y se clonó utilizando los sitios de enzimas de restricción XhoI y NotI. El plásmido final, pYD1dX_dCH1dCH3_Fcab_wt (SEQ ID No. 427 / Figura 28), se utilizó como el vector receptor biblioteca. El pYD1dX_dCH1dCH3_Fcab_wt codifica para un fragmento de la IgG1 humana que empieza en la región de bisagra y termina en el comienzo de dominio CH3. Contiene un único sitio de restricción BamHI (921/926), XhoI (1309/1314) y NotI (1422/1429). Estos 2 últimos se usan para la introducción de las bibliotecas CH3 mediante recombinación de homóloga. El vector pYD1_dX_dCH1_Fcab_wt se utiliza como control positivo para la expresión de bisagra-CH2-CH3 humano sobre la superficie de la levadura y pYD1dX_dCH1dCH3_Fcab_wt como punto de partida para la construcción de las bibliotecas enumeradas en la Tabla 3.

50 Como fuente del inserto para pYD1dXFc, se usan las bibliotecas de Fcab Fcab01 (SEQ ID No.18), Fcab02 (SEQ ID No.19), Fcab03 (SEQ ID No. 20), Fcab04 (SEQ ID No. 21), Fcab05 (SEQ ID No. 22) y Fcab06 (SEQ ID No. 23). Estas bibliotecas se preparan mediante síntesis de ADN estándar y contienen restos aleatorizados, así como restos insertados en el bucle AB (entre los restos 359 y 361 (numeración de la UE)), así como en el bucle EF (entre los restos 413 y 419 (numeración de la UE)) del dominio CH3 de la IgG1 humana. A partir de este ADN sintético, el inserto para

la reparación de huecos en la levadura se amplifica mediante PCR usando el par de cebadores para PCR

gapch35

5 caacaaggccctgacctgccccatcgagaagaccatctccaaggccaaggccagcctcgagaaccacaggtgtac acctgccc (SEQ ID No.24)
y

gapfcs3

10 gagaccgaggagagggttaggataggcttacctcgaaggccctctagactcgatcgagcggccgctcatttacc ggagacagggagagctc ttc
(SEQ ID No.25).

Se mezclan 100 µg del vector pYD1CH12 escindido con XhoI y 100 µg del inserto y se utilizan para transformar la cepa EBY100 de *Saccharomyces* (Invitrogen) utilizando el procedimiento de acetato de litio de acuerdo con el siguiente protocolo, que se mejora con un factor de 100 para transformar la cantidad requerida de células y de ADN. En resumen, para una única transformación de 1 µg de ADN del vector y 1 µg de ADN del inserto, se inoculan 10 ml de YPD (2 % de peptona, 2 % de dextrosa (D-glucosa)) con una colonia de levaduras y se agita durante la noche a 30 °C. Se determina la DO600 del cultivo durante la noche y el cultivo se diluye hasta una DO600 de 0,4 en 50 ml de YPD y se deja crecer durante 2-4 horas adicionales. Las células se sedimentan a 2.500 rpm y se resuspenden en 40 ml de 1X TE (Tris 10 mM, pH 7,5, EDTA 1 mM). Las células se sedimentan de nuevo a 2.500 rpm y se resuspenden en 2 ml de LiAc/0,5X TE 1 M seguido de incubación a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se mezclan 1 µg de ADN del vector, 1 µg de inserto y 100 µg de ADN de esperma de salmón sometido a cizalla y desnaturalizado (2 mg/ml) con 100 µl de la suspensión de levadura. Se añaden 700 µl de LiAc 1 M/40 % PEG3350/1X TE y se mezcla con la suspensión de levadura/ADN, seguido de incubación a 30 °C durante 30 minutos. Se añaden 88 µl de DMSO, se mezclan y la mezcla se incuba a 42°C durante 7 minutos, seguido de centrifugación en una microcentrifuga durante 10 segundos. Después se retira el sobrenadante, el sedimento celular se resuspende en 1 ml de 1X TE y se vuelve a sedimentar. Después el sedimento se resuspende en 50-100 µl de TE y se cultiva en placas mínimas de dextrosa que contienen leucina (10 g/l de base de nitrógeno de levadura, 20 g/l de dextrosa, 0,1 g/l de leucina, 15 g/l de agar). Tras la incubación de las placas a 30 °C durante un periodo de 2 a 4 días, aparecieron colonias individuales que se recolectaron después.

Como fuente del inserto para el vector pYD1dX_dCH1dCH3, se usaron las bibliotecas Fcab enumeradas en la Tabla 3. Estas bibliotecas se preparan mediante síntesis de ADN estándar y contienen restos aleatorizados, así como restos insertados en el bucle AB, y el bucle CD, así como en el bucle EF del dominio CH3 de la IgG1 humana (véase la Tabla 3). A partir de este ADN sintético, el inserto para la reparación de huecos en la levadura se amplifica mediante PCR utilizando los oligos YCH3.25rec.back y YCH3.25rec.opt.for (los cebadores utilizados se enumeran a continuación). La mezcla de transformación básica comprende 2 µg de pYD1dX_dCH1dCH3_Fcab_wt escindido con XhoI y 1 µg de ADN de inserto, que se mezclan y se utilizan para transformar la cepa de *Saccharomyces* EBY100 (Invitrogen) usando el procedimiento con acetato de litio, que se mejora con un factor de 100 para obtener la cantidad requerida de transformantes. En resumen, para una única transformación de 2 µg de ADN del vector y 1 µg de ADN del inserto, se inoculan 10 ml de YPD (2 % de peptona, 2 % de dextrosa (D-glucosa)) con una colonia de levaduras y se agita durante la noche a 30 °C. Se determina la DO600 del cultivo durante la noche y el cultivo se diluye hasta una DO600 de 0,3 en 50 ml de YPD y se dejan crecer durante 6 horas adicionales o DO600 de 2,5. Las células se sedimentan a 2500 rpm, se lavan dos veces: primero con 25 ml de agua destilada y después con LiAc 100 mM; y, por último, se resuspenden en 500 µl de LiAc 100 mM. Se mezclan 2 µg de ADN del vector, 1 µg del inserto y 100 µg de ADN de esperma de salmón sometido a cizalla y desnaturalizado (2 mg/ml) con 50 µl de la levadura en una solución que contiene PEG3500 (33 % p/v) y LiAc 100 mM en un volumen final de 360 µl. Después de una buena homogeneización, las levaduras se mantienen a 30 °C durante 30 minutos y, después, a 42 °C durante 45 minutos. Después se retira el sobrenadante y el sedimento celular se resuspende en YPD y se deja que las células se recuperen durante otros 60-90 minutos a 30 °C. Después, el sedimento se incuba en medio selectivo (placas y/o líquido, véase más adelante) a 30 °C durante 2 días. La diversidad de la biblioteca se determina mediante el número de células individuales cultivadas hasta colonias en placas que se han preparado e inoculado inmediatamente después del periodo de recuperación.

Lista de cebadores

55 a) CH3seqs/2 (SEQ ID No. 429): 5'-AAGGAGTACAAGTGAAGG-3'
b) cebadores inversos:

60 CDmut_back (SEQ ID No. 430): 5'-GCT CTC CCA CTC CAC G-3'
EFmut_back (SEQ ID No. 430): 5'-CAC GGT GAG CTT GCT GTA GAG-3'
ABMUT5/2_back (SEQ ID No. 432): 5'-CTCATCCCGGGATGGG-3'

c) cebadores directos (X=trinucleótidos - síntesis para aminoácidos aleatorios)

65 CDmut5cod_for (SEQ ID No.433):

5'-GTG GAG TGG GAG AGC X X X X X AAC AAC TAC AAG ACC ACG-3'

EFMUT7cod_for (SEQ ID No.434):

5 5'AGC AAG CTC ACC GTG X X X X X X GGG AAC GTC TTC TCA TGC-3'

EFMUT3+2_for (SEQ ID No.435):

10 5'AGC AAG CTC ACC GTG XXX AGG TGG X X GGG AAC GTC TTC TCA TGC-3'

ABMUT5 (wt)_for (SEQ ID No.436):

5'-CCA TCC CGG GAT GAG X X X X X GTC AGC CTG ACC TGC CTG G-3'

15 d) CH3seqAS (SEQ ID No. 437): 5'-TAGAATCGAGACCGAGG-3'

e) YCH3.25rec.opt.for (SEQ ID No. 438): 5'-A CCA TCT CCA AGG CCA AGG-3'

f) Ych3.25rec.back (SEQ ID No. 439): 5'-AAG GGC CCT CTA GAC TCG-3'

Inducción del cultivo

20 Las bibliotecas de levaduras recolectadas (bibliotecas y Fcab) se inoculan en 10 ml de medio SD-CAA (10 g/l de base de nitrógeno para levaduras, 10 g/l de casaminoácidos y 20 g/l de dextrosa, 0,1 g/l de leucina, 9,67 g/l de NaH₂PO₄·2H₂O y 10,19 g/l de Na₂HPO₄·7H₂O) y se cultivan en un agitador a 250 rpm a 28 °C durante 6-8 horas. La DO600 del cultivo se determina y el cultivo se diluye hasta una DO600 de 0,2 y se cultiva en las mismas condiciones hasta alcanzar una DO600 DE 1-2. Las células se recolectan mediante centrifugación (3.000 rpm/5 min/4° C) y se resuspenden en medio de inducción SG/R-CAA (10 g/l de base de nitrógeno de levadura, 10 g/l de casaminoácidos y 20 g/l de galactosa, 10 g/l de rafinosa, 0,1 g/l de leucina, 9,67 g/l de NaH₂PO₄·2H₂O y 10,19 g/l de Na₂HPO₄·7H₂O). Los cultivos se inducen mediante incubación durante 2 días en un agitador a 250 rpm a 20 °C y después se analizan y clasifican. Como alternativa, los cultivos se inducen mediante incubación durante 1 día en un agitador a 250 rpm a 37 °C y después se analizan y clasifican.

Control de calidad de las bibliotecas yFcab

35 Las bibliotecas yFcab se analizan para determinar su nivel de expresión y la calidad de los Fcab expresados dos días después de la inducción con medio SD-CAA. El nivel de expresión se analiza usando antisuero anti-IgG-Fc humano policlonal (Sigma). Con este fin, se diluyen 0,5x10⁶ células de la biblioteca en 1 ml de tampón de tinción (SB), que comprende PBS con 2 % de BSA. Las células se sedimentan y se tiñen con 100 µl de SB que contiene antisuero anti-IgG-Fc-PE humano diluido a 1/2000 (Sigma) durante 30 minutos en hielo, se lavan dos veces con SB y después se analizan en el FACS. En general, el 70-80 % de todas las células en cada biblioteca expresan Fcab sobre su superficie celular. Para analizar el plegamiento correcto de Fcab, se realiza tinción con proteína A. De nuevo, 0,5x10⁶ células de la biblioteca se diluyen en 1 ml de tampón de tinción SB, las células se sedimentan y se tiñen con 100 µl de SB que contiene 1 µg/ml de ProtA-FITC (Fluka) durante 30 minutos en hielo, se lavan dos veces con SB y después se analizan en el FACS. En general, las bibliotecas yFcab como se ha descrito anteriormente muestran ≥ 40 % de células positivas a la proteína A.

45 Con el fin de analizar si los Fcab se expresan como dímeros sobre la superficie de las células, se realiza una tinción con CD64 humano. Se sedimentan 5x10⁵ células y se tiñen durante 30 min en hielo con 50 µl de SB que contiene 1 µg/ml de CD64 (R&D Systems). Después de una etapa de lavado, las células se resuspenden en 50 µl de SB que contiene 1 µg/ml de Penta His Alexa Fluor 488 (QIAgen) y se incuban otros 30 minutos en hielo. Las células se lavan y se resuspenden en 200 µl de SB enfriado con hielo para el análisis FACS. Como control, las células se incuban con equivalente de Penta His Alexa Fluor 488, sin preincubación con CD64. Tras la incubación, las células se lavan una vez con SB enfriado con hielo y se analizan en el FACS. En general, > 50 % de todas las células en cada biblioteca expresan Fcab diméricos sobre su superficie celular.

Biotinilación del antígeno (Her2)

60 El antígeno recombinante, por ejemplo, Her2 (Bendermed systems) se realizó con el sistema EZ-link de Pierce de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En pocas palabras, el antígeno se dializa contra PBS, se diluye a 1 mg/ml en PBS y se mezcla con sulfo-LC-LC-biotina 10 mM (EZ link, Pierce), que previamente se había disuelto en agua. La proporción final entre antígeno y biotina es 1:3 y la mezcla se incubaba a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, la mezcla se "dializa" contra PBS usando columnas Vivaspin MWCO3000 (Sartorius) (5x8', 4.000 rpm). Por último, la concentración del antígeno biotinilado (Her2) se analiza mediante HPLC y se almacenan alícuotas a -20 °C.

65 La calidad del antígeno biotinilado se analiza mediante ELISA. En primer lugar, las placas se recubren con un anticuerpo anti-Her2 (por ejemplo, Herceptin) a 10 µg/ml en PBS, 100 µl/pocillo durante una noche a 4°C, después, la placa se lava 3 veces con tampón de lavado (WB) (PBS + 0,05 % de Tween20) y se bloquea mediante tampón de

bloqueo (BB) (PBS + 2 % BSA) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar 3 veces con WB, se añaden diferentes concentraciones de Her2-biotina en 100 µl/pocillo de BB durante 1 h a temperatura ambiente, seguido de lavado 3 veces con WB. Por último, la placa se incuba con 1-25.000 de estreptavidina-HRP (GE healthcare) en BB durante 1 hora a temperatura ambiente y se lava 3 veces con WB. Se desarrolla color añadiendo 100 µl/pocillo del sustrato TMB (Sigma) y después de -10 minutos, la reacción se detiene añadiendo 100 µl/pocillo de H₂SO₄ al 30 %. Los resultados se analizan con un lector de ELISA a 450-630 nm.

Ejemplo 6: Producción de Fcab específicos de antígeno

10 Selección de Fcab específicos de antígeno usando FACS

Primera ronda de selección:

15 Dos días antes de la clasificación con FACS, una biblioteca de levaduras que contiene 2,5 x10⁸ clones de Fcab se induce con medio SG/R-CAA para expresar los Fcab sobre la superficie celular como se ha descrito anteriormente. Tras dos días, la cantidad de células que cubren, por ejemplo, 10 veces la biblioteca (= 2,5 x10⁹) se incuba durante 30 minutos en hielo con antígeno biotinilado 500 nM (Her2) en 2 ml de SB. Después, las células se lavan una vez con SB frío y después se incuban durante 30 minutos en hielo con estreptavidina-PE (de R&D systems) diluido a 1:100 en SB. Las células se lavan dos veces con SB enfriado con hielo hasta una concentración final de 1x10⁹ células/ml. Se realizan tinciones de control con 5x10⁶ células/ml en 100 µl solo con estreptavidina-PE, en ausencia de antígeno. Tanto la biblioteca completa como las tinciones control se analizan, por ejemplo, en un FACS ARIA de BD. Para configurar las puertas para la clasificación se utilizan las células control. Primero, se establece una puerta FSC/SSC (G1) para identificar células de levadura sanas del gráfico del área de FSC frente a la anchura de FSC de G1 y solo se seleccionan las células que no se agregan en una nueva puerta (G2). Las células en G2 se analizan después para determinar la reactividad con estreptavidina-PE usando FSC frente a FL-2 (canal de PE). G3 se establece para incluir un 0,1 % de células positivas (falsas). Posteriormente, al menos 5x10⁸ células teñidas (dos veces el tamaño de la biblioteca, idealmente más) se analizan con los parámetros como se ha indicado anteriormente y las células en G3 se clasifican en un tubo que contiene 2-3 ml de medio SD-CAA. Aproximadamente 5x10⁵ células (Conjunto 1) se recogen en la primera ronda de selección y se propagan durante de 1 a 2 días, tras lo cual, las células se pueden almacenar a -80 °C y los alícuotas se pueden inducir para expresar los Fcab como se ha descrito anteriormente. Tras dos días más, puede tener lugar la siguiente ronda de selección.

Segunda ronda de selección:

35 El conjunto 1 seleccionado en la ronda 1 se induce para expresar el Fcab sobre su superficie como se ha descrito anteriormente. Al menos 5x10⁶ células (que comprenden múltiples copias del conjunto 1) se incuban durante 30 minutos en hielo con antígeno biotinilado 500 nM (Her2) en 1 ml de SB. Después, las células se lavan una vez con SB frío y después se incuban durante 30 minutos en hielo con estreptavidina-PE (de R&D systems) diluido a 1:100 en SB junto con 2 µg/ml de proteína A-FITC (Fluka). A continuación, las células se lavan dos veces con SB enfriado con hielo hasta una concentración final de aproximadamente 2x10⁶ células/ml. Además, se realizan tinciones control en las que 5x10⁶ células/ml del Conjunto 1 en 100 µl se incuban con una mezcla de proteína A y estreptavidina-PE como se ha indicado anteriormente, pero sin la incubación con el antígeno (Her2). Además, 5x10⁵ células en 100 µl de un clon de levadura que expresa el fragmento Fc no aleatorizado de Fcab wt) se tiñen con Prot A-FITC como se ha descrito en lo que antecede en ausencia de estreptavidina-PE. Las células que expresan Fcab-wt se analizan en, por ejemplo, FACS ARIA de BD para configurar las puertas para la clasificación. Primero, se establece una puerta SSC FSC (G1) para identificar células de levadura sanas, del gráfico del área de FSC frente a la anchura de FSC de G1 y solo se seleccionan las células que no se agregan en una nueva puerta (G2). Las células en G2 se analizan después para determinar la expresión de la proteína A usando FSC frente a FL-1 (FITC). G3 se configura para cubrir las células fuertemente positivas a la proteína A (50-60 % de la puerta parental) y G4 se configura para cubrir las células débilmente positivas a proteína A (20-30 % de células parentales). G3+G4 incluirán aproximadamente el 70-80 % de todas las células en G2. Ahora, el conjunto de células teñidas para estreptavidina-PE en presencia de Prot A-FITC se usan para establecer el resto de las puertas de clasificación. Primero se comprueban G1 y G2 con el conjunto de células y, si es necesario, se ajustan. El conjunto de células tendrá menos episodios en G3 y, quizá también en G4, lo que indica que no todas las células del conjunto 1 expresan Fcab que se pliega como Fcab-wt. Usando el conjunto de células teñidas control, se prepara una nueva puerta para G3 y para G4. Las nuevas puertas se configuran en el gráfico de FSC y FL-2 (PE). Se prepara una puerta (G5) que incluye 0,1 % de células positivas a estreptavidina (falsas) en G3 y lo mismo se realiza para las células en G4, que da lugar a G6. En la siguiente etapa, al menos 5x10⁶ células teñidas para her2-biotina + estreptavidina-PE y Prot A-FITC se clasifican mediante FACS-ARIA. Las células se recogen de G5 (conjunto 2.1 y G6 (conjunto 2.2) en tubos separados que contienen 2-3 ml de medio de cultivo para levaduras. Cabe esperar entre 10 y 1000 clones de ambas puertas. Ambos conjuntos nuevos se propagan durante 1 o 2 días y se almacenan a -80 °C. Las células de 2.1 y 2.2 se pueden usar para dirigir una clasificación adicional en una tercera ronda o se pueden someter (preferentemente después de mezclar los dos clones de nuevo) a una ronda de aleatorización adicional del bucle AB (maduración de la afinidad) antes de clasificarse adicionalmente en el FACS.

65 Maduración de la afinidad para clones/conjuntos determinados

Para la maduración de la afinidad, se introduce diversidad en determinados clones o en conjuntos de clones seleccionados, preferentemente solo en un bucle, en este caso el bucle AB. Con este fin, se efectuó una PCR con un cebador que contenía codones degenerados en las posiciones 359, 360 y 361 (numeración de la UE (cebador Abmut, gaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgnnbnnbnnbcaggtcagcctgacctgcc tggtaaag, SEQ ID No. 26), o, como alternativa, se efectuó una PCR con un cebador que contenía codones degenerados en las posiciones 358, 359, 360, 361 y 362 (numeración de la UE (cebador Abmut2LR, gaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgnnbnnbnnbnnbgtcagcctgacctgacctgcc aag, SEQ ID No. 27).

El segundo cebador usado en estas PCR es gapfcs3 en ambos casos. Con el fin de crear secuencias flanqueantes para una reparación de huecos eficiente en levaduras, los productos de la PCR resultantes se amplificaron adicionalmente con el par de cebadores gapch35 y gapfsc3 y después se utilizaron para transformar la cepa EBY100 de *Saccharomyces cerevisiae* mediante transformación con acetato de litio junto con pYD1CH12 escindido con Chol como se ha descrito en lo que antecede. Como cebadores alternativos, para la aleatorización de los restos descritos en el bucle AB, también se usaron cebadores tales como Abmut1L (gaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgnnbnnbnnbnnbcaggtcagcctgacctgacctgcc aag, SEQ ID No. 28) o Abmut1R (gaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgnnbnnbnnbnnbgtcagcctgacctgacctgcc aag, SEQ ID No. 29). De forma análoga, los restos en el bucle EF se aleatorizaron mediante aleatorización total.

Como alternativa, la aleatorización se realizó usando oligonucleótidos enriquecidos como cebadores sobre el clon individual y-Her.C2.P4.2-9. En este caso, los oligos se diseñaron de un modo similar a lo mencionado anteriormente para la aleatorización completa de los respectivos bucles, no obstante, la parte aleatorizada contenía 70 % de la base original en la primera y segunda posición del codón y 10 % de cada uno de los otros 3 nucleótidos. La tercera posición contenía un 70 % de la base original y 30 % de la base de acuerdo con el codón NNK o NNS.

El cebador Abmut tuvo como resultado 8.000 nuevas variantes (Conjunto 2.3) de cada clon y el cebador Abmut2LR condujo a 3x10⁶ nuevas variantes (Conjunto 2.4) tras la aleatorización completa. Por lo tanto, los conjuntos 2.3 y 2.4 tuvieron como resultado nuevas bibliotecas de aproximadamente 10⁸ individuos, ya que el material de partida (Conjunto 2.1+2.2) ya contenía aproximadamente 10-1.000 clones.

Tercera ronda de selección

En los conjuntos de afinidad madurada 2.3 y 2.4 y, en caso necesario, el conjunto 2.1 (solo se prefieren las células positivas a Prot A) se indujo la expresión de Fcab en su superficie celular como se ha descrito en lo que antecede y, después, se clasificaron como se ha descrito para la "Segunda ronda de selección", con la excepción de que los conjuntos 2.3 y 2.4 son mucho más grandes y, por lo tanto, los volúmenes de tinción para los conjuntos son iguales a los de la tinción de las bibliotecas descrita en la "Primera ronda de selección". En la tercera ronda de selección, solo se clasificaron las células positivas para Her2/positivas para Prot A. Los conjuntos derivados de estas selecciones contenían normalmente > 20 % de células positivas para Her2/Prot A. En caso contrario, se realizaron una cuarta y una quinta rondas de selección (o incluso más) de Her2 junto con o también sin proteína A. Por ejemplo, la maduración de la afinidad del clon H242-9Q dio un incremento en la afinidad de unión de CE50 = 155 nM a 18,9 nM (clon H10-03-6).

Análisis de los clones:

Los clones individuales de los conjuntos que contienen las células Her2/Prot (se prefiere >20 %) se prepararon sembrando los conjuntos en placas de agar con medio SD-CAA o mediante transferencia de las células únicas (=clones) directamente desde el FACS ARIA a placas sin generar un conjunto. Se dejan crecer los clones y se transfieren a cultivos líquidos y se almacenan a -80 °C. Las alícuotas de los clones se indujeron después para expresar Fcab sobre su superficie celular como se ha descrito en lo que antecede y se sometieron a detección selectiva para una serie de parámetros en el FACS. Estos parámetros fueron: un intervalo de respuesta a la dosis del antígeno usado para la selección (Her2) con y sin la presencia de Prot A- FITC. Tinción de CD64 como se ha descrito en lo que antecede. Además, usando protocolos de tinción similares, se realizó la detección selectiva de una serie de antígenos biotinilados irrelevantes para identificar los Fcab sin reacciones cruzadas.

Se observó que, tras varias rondas de selección de células positivas para antígeno (Her2) + Prot A, un gran porcentaje de clones muestran > 25 % de positividad al antígeno (Her2) cuando se tiñen con el antígeno (Her2) 500 nM y > 70 % de positividad a la proteína A cuando se tiñen con 2 µg/ml de Prot A-FITC. En la mayoría de los casos, estos clones también mostraron > 50 % de unión a CD64. Por tanto, esto refleja los niveles de tinción con Prot A y CD64 de los fragmentos Fc no aleatorizados (Fcab wt) expresados en levaduras.

Los clones seleccionados como se ha descrito en lo que antecede con características como se ha descrito en lo que antecede se produjeron como moléculas solubles. Esto se realizó principalmente mediante transfección transitoria, pero también mediante transfección estable del ADN de Fcab en las nuevas células hospedadoras. Con este fin, el ADN de clones de levaduras individuales se aisló usando procedimientos estándar. El ADN relevante que codificaba el dominio CH3 completo o solo la parte del dominio CH3 que se aleatorizó en la biblioteca se amplificó mediante PCR y se transfirió a un vector de expresión nuevo que contenía la parte que falta de Fcab y un promotor adecuado y uno de más marcadores de selección, tales como G418, lo que permite la selección de células transfectadas de un conjunto

de células no transfectadas. El nuevo vector se transfectó después transitoriamente en una nueva célula hospedadora, tal como células HEK293 o CHO. Se dejó que las células hospedadoras se recuperaran y se cultivaron posteriormente durante un máximo de 10 días. El sobrenadante de los cultivos que contiene el Fcab soluble se utilizó para su análisis adicional después de la purificación sobre Prot A. Las líneas celulares estables también se pueden realizar por procedimientos estándar.

Tabla 4. Secuencias de clones de levaduras de unión a Her2 seleccionados de bibliotecas iniciales, tras la expansión del conjunto y tras la maduración de la afinidad: con referencia a la numeración de la SEQ ID No. 1 (Figura) (bucle CD); AA169ff NGQPE)

Nombre del clon	Bucle AB AA143ff	Bucle EF AA198ff
Fcab wt	LTKNQ	—DKSRWQQ
y-Her.C2-P3.1-1	LDNSQ (SEQ ID No. 30)	IRSSVGSRRWWS (SEQ ID No. 51)
y-Her.C2-P3.1-3	YEGSS (SEQ ID No. 31)	IRSSVGSRRWWS (SEQ ID No. 51)
y-Her.C2-P3.1-5	YMSAD (SEQ ID No. 32)	SRRDSSLRWAH (SEQ ID No. 53)
y-Her.C2-P3.1-6	YRRGD (SEQ ID No. 33)	APGSKGYRRWAL (SEQ ID No. 54)
y-Her.C2-P3.1-8	LMSRQ (SEQ ID No. 34)	DKPFWGTSRWSR (SEQ ID No. 55)
y-Her.C2-P3.1-16	LHLAQ (SEQ ID No. 35)	SINDLINHRWPY (SEQ ID No. 56)
y-Her.C2-P3.1-18	YLSKD (SEQ ID No. 36)	MWGSRDYWRWSH (SEQ ID No. 57)
y-Her.C2-P3.2-3	YRSGS (SEQ ID No. 37)	NSGSAMMVRWAH (SEQ ID No. 58)
y-Her.C2-P3.2-9	LRDGQ (SEQ ID No. 38)	QRSRLSRQRWWR (SEQ ID No. 59)
y-Her.C2.P4.2-1	YSANT (SEQ ID No. 39)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-3	YASNT (SEQ ID No. 40)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-4	YSDGD (SEQ ID No. 41)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-5	YSGGS (SEQ ID No. 42)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-6	YGRDS (SEQ ID No. 43)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-8	YAGGT (SEQ ID No. 44)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-10	YSSDS (SEQ ID No. 45)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-12	YHSGS (SEQ ID No. 46)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-15	YLTNS (SEQ ID No. 47)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-18	YGSEE (SEQ ID No. 48)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-19	YRSGE (SEQ ID No. 49)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-20	YGTDD (SEQ ID No. 50)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
y-Her.C2.P4.2-9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	ARYSPRMLRWAH (SEQ ID No. 60)
HAF1311A1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VSRYSMTMWRWAH (SEQ ID No. 61)
HAF1311A10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSRSMWRWAH (SEQ ID No. 62)
HAF1311A11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSQMMWRWAH (SEQ ID No. 63)
HAF1311A12	YLHGD (SEQ ID No. 161)	ITRYSRQMLRWAH (SEQ ID No. 64)
HAF1311A2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSALMWRWAH (SEQ ID No. 65)
HAF1311A3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSEAMWKWGH (SEQ ID No. 66)
HAF1311A4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VGRYSQRMWRWAH (SEQ ID No. 67)
HAF1311A5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IRSSVGSRRWWS (SEQ ID No. 51)
HAF1311A6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VGRHSPTMWRWAH (SEQ ID No. 69)

ES 2 609 359 T3

HAF1311A7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LGRWSPKMWRWAH (SEQ ID No. 70)
HAF1311A8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARWSPSMRWAH (SEQ ID No. 71)
HAF1311A9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARNSPSMRWAH (SEQ ID No. 83)
HAF1311B1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARWSPSMRWAH (SEQ ID No. 84)
HAF1311B10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARKNHRKWRRTH (SEQ ID No. 85)
HAF1311B11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VSRYSPMWRWAH (SEQ ID No. 86)
HAF1311B12	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSLSMRWAH (SEQ ID No. 87)
HAF1311B2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSQTMRWAH (SEQ ID No. 88)
HAF1311B3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	MPRFSPSMRWAH (SEQ ID No. 89)
HAF1311B4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VTRYSQSMRWAH (SEQ ID No. 90)
HAF1311B5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IERYSTRMWSWAH (SEQ ID No. 91)
HAF1311B6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSPMWRWAH (SEQ ID No. 92)
HAF1311B7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARGSPSMWSWGH (SEQ ID No. 93)
HAF1311B8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSQTMWRWAH (SEQ ID No. 94)
HAF1311B9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARYSPGMWRWAH (SEQ ID No. 95)
HAF1311C1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRFSPTMWRWAH (SEQ ID No. 96)
HAF1311C10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRWSRTMLRWAH (SEQ ID No. 97)
HAF1311C11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSRPMWRWAH (SEQ ID No. 98)
HAF1311C2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARHSMWRWAH (SEQ ID No. 99)
HAF1311C3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	MPRWSKSLSGWAH (SEQ ID No. 100)
HAF1311C5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYTPSMWRWAH (SEQ ID No. 101)
HAF1311C7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARNSLTMWRWAH (SEQ ID No. 102)
HAF1311C8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 103)
HAF1311C9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARFSPSMWRWAH (SEQ ID No. 104)
HAF1311D2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSLRWAH (SEQ ID No. 105)
HAF1311D3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 106)
HAF1311D4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRSSLTMWRWAH (SEQ ID No. 107)
HAF1311D5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRHSTRMWRWAH (SEQ ID No. 108)
HAF1311D6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRHSRRMWRWAH (SEQ ID No. 109)
HAF1311D7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VTRYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 110)
HAF1311E10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRHSRRMWRWAH (SEQ ID No. 109)
HAF1311 E2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	MPRWSKSLSGWAH (SEQ ID No. 100)
HAF1311 E3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VTRHSSSMWRWAH (SEQ ID No. 111)
HAF1311 E4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSRSMKWRWAH (SEQ ID No. 112)
HAF1311 E5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARGSTTMWRWGH (SEQ ID No. 113)
HAF1311 E6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARSSPEMWRWAH (SEQ ID No. 114)
HAF1311 E7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSTGMWRWAH (SEQ ID No. 115)
HAF1311 E8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSQRMWRWAH (SEQ ID No. 116)
HAF1311 E9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRNSPRMWRWAH (SEQ ID No. 117)

ES 2 609 359 T3

HAF1312F1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSMSRWAH (SEQ ID No. 118)
HAF1312G12	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSMKSWAH (SEQ ID No. 119)
HAF1312F11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LPRYSTKMKRWAH (SEQ ID No. 120)
HAF1312F7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IRSSVGSRRWWS (SEQ ID No. 51)
HAF1312F3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IPRWSQQMSRWAH (SEQ ID No. 122)
HAF1312F5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VGRWTPSMWRWAH (SEQ ID No. 123)
HAF1312G10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VKRSSPSMWRWAH (SEQ ID No. 124)
HAF1312G2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARFSPSMWRWAH (SEQ ID No. 104)
HAF1312G1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARYSPGMWNWAH (SEQ ID No. 125)
HAF1312G9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARYSPNMWNWAH (SEQ ID No. 126)
HAF1312G8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 127)
HAF1312F12	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARFSPSMLKWAH (SEQ ID No. 128)
HAF1312F2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSKSMLKWAH (SEQ ID No. 129)
HAF1312F10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSRTMWRWGH (SEQ ID No. 130)
HAF1312G7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARHSREMLRWAH (SEQ ID No. 131)
HAF1312F8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSSTMSRWAH (SEQ ID No. 132)
HAF1321A1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSQRMWRWAH (SEQ ID No. 116)
HAF1321B11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSQMMWRWAH (SEQ ID No. 63)
HAF1321A2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSRPMWRWAH (SEQ ID No. 98)
HAF1321A10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IPRWSQQMSRWAH (SEQ ID No. 122)
HAF1321A4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRHSLKKLQRKH (SEQ ID No. 133)
HAF1321B10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSLSMWRWAH (SEQ ID No. 87)
HAF1321A5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPSMWNWAH (SEQ ID No. 134)
HAF1321B1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPTMWWKWAH (SEQ ID No. 148)
HAF1321A11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARFSPSMWRWAH (SEQ ID No. 104)
HAF1321B5	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VSRFSPSMWRWAH (SEQ ID No. 149)
HAF1321B2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VGRWTPSMWRWAH (SEQ ID No. 123)
HAF1321B6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 127)
HAF1321 B7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 127)
HAF1321B9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IPRYTPSMWRWAH (SEQ ID No. 150)
HAF1322C10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IPRWSQQMSRWAH (SEQ ID No. 122)
HAF1322C11	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VPRYSTLMWRWAH (SEQ ID No. 151)
HAF1322C7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LPRHSRRMWRWAH (SEQ ID No. 152)
HAF1322C6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSMLRWAH (SEQ ID No. 153)
HAF1322C3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSLSMWRWAH (SEQ ID No. 87)
HAF1322C4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSPAMWRWAH (SEQ ID No. 154)
HAF1322C8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARSSPSMWRWAH (SEQ ID No. 147)
H10-03-6	YLYGD (SEQ ID No. 162)	VPRHSARMWRWAH (SEQ ID No. 155)
H 10-03-6 R	YLYGD (SEQ ID No. 162)	VPRHSARMWRWAH (SEQ ID No. 155)

ES 2 609 359 T3

H 1 0-03-6Y	YLYGD (SEQ ID No. 162)	VPRYSARMWRWAH (SEQ ID No. 156)
ABEFs0101	YLSAD (SEQ ID No. 163)	VARYSPSMWRWGH (SEQ ID No. 135)
ABS01 01 G	YLSAD (SEQ ID No. 163)	VARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 106)
ABS0101P	YLSAD (SEQ ID No. 163)	VPRYSASMWRWGH (SEQ ID No. 136)
ABS0101PG	YLSAD (SEQ ID No. 163)	VPRYSASMWRWAH (SEQ ID No. 137)
EF3-1	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LPRYSPGMWRWAH (SEQ ID No. 138)
EF3-2	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPSMWNWAH (SEQ ID No. 134)
EF3-3	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPSMWRWGH (SEQ ID No. 135)
EF3-4	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IPRWSQQMSRWAH (SEQ ID No. 122)
EF3-6	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSQTMSRWAH (SEQ ID No. 139)
EF3-7	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 127)
EF3-8	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VAGYRPRRSGSSH (SEQ ID No. 140)
EF3-9	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARHSANMLRWAH (SEQ ID No. 141)
EF3-13	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSPSMWSWAH (SEQ ID No. 142)
EF3-14	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYTPSMWRWAH (SEQ ID No. 101)
EF3-15	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARWSPSMFRWAH (SEQ ID No. 143)
EF3-16	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSMKSWAH (SEQ ID No. 119)
EF3-17	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARHSRTMWRWGH (SEQ ID No. 130)
EF3-18	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSMSRWAH (SEQ ID No. 118)
EF3-20	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARWSPSMLRWAH (SEQ ID No. 144)
EF10-01	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARSSPTMWRWAH (SEQ ID No. 145)
EF10-02	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPSMWRWAH (SEQ ID No. 106)
EF10-03	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARWSPSMRWAH (SEQ ID No. 71)
EF10-04	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VTRWSPTMWRWAH (SEQ ID No. 146)
EF10-07	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARNSPSMWRWAH (SEQ ID No. 83)
EF10-08	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LARWSPSLSRWAH (SEQ ID No. 105)
EF10-09	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARSSPSMWRWAH (SEQ ID No. 147)
EF10-10	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSPRMWRWAH (SEQ ID No. 157)
EF10-13	YLHGD (SEQ ID No. 161)	VARYSRKMSSWGH (SEQ ID No. 158)
EF10-14	YLHGD (SEQ ID No. 161)	LASYSPSMWRWGH (SEQ ID No. 159)
EF10-15	YLHGD (SEQ ID No. 161)	IRSSVGSRRWWS (SEQ ID No. 51)

Tabla 5. Secuencias de clones de levaduras de unión a Her2 seleccionados de bibliotecas iniciales, tras la expansión del conjunto y tras la maduración de la afinidad: con referencia a la numeración de la SEQ ID No. 1 (Figura 3)

Nombre del clon	Bucle AB AA143ff	Bucle CD AA169ff	Bucle EF AA198ff
H542-M3C8	LSLPC (SEQ ID No. 164)	ISGPE (SEQ ID No. 240)	PQTPPSQ (SEQ ID No. 340)
H541-M2D7	REGGR (SEQ ID No. 165)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DKPFWGTSRWSR (SEQ ID No. 55)

ES 2 609 359 T3

H541-M2E11	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	DGRPE (SEQ ID No. 242)	DKPFWGTSRWSR (SEQ ID No. 55)
H541-M2D12	TKAFY (SEQ ID No. 167)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PPSPPR (SEQ ID No. 341)
H541-M2H10	TKGL_ (SEQ ID No. 172)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PPSPPR (SEQ ID No. 341)
H541-M2H8	TKAFY (SEQ ID No. 167)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PPSPPR (SEQ ID No. 341)
H542-M3A10	WWLFG (SEQ ID No. 168)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWVRW MQ (SEQ ID No. 342)
H542-M3F10	IKKKK (SEQ ID No. 169)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H542-M3D5	KWNKK (SEQ ID No. 170)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SRSRWRG (SEQ ID No. 344)
H542-M4A4	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PRWKM (SEQ ID No. 345)
H542-M3G11	YKTKD (SEQ ID No. 173)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRYNPRMVRWAH (SEQ ID No. 346)
H542-M3D9	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PQSRWYN (SEQ ID No. 347)
H542-M3F7	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWSRWRL (SEQ ID No. 348)
H542-M4B 12	RKEKK (SEQ ID No. 174)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H542-M3D11	WWVGG (SEQ ID No. 175)	DAGPE (SEQ ID No. 243)	PWVRWMQ (SEQ ID No. 342)
H542-M3A4	WWRGG (SEQ ID No. 176)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWVRWLQ (SEQ ID No. 350)
H542-M3B8	WWRGG (SEQ ID No. 176)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWVRW MQ (SEQ ID No. 342)
H542-M3C4	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NKQNH (SEQ ID No. 244)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H542-M4D4	TKKET (SEQ ID No. 178)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	ELEGEEQ (SEQ ID No. 351)
H542-M3A7	TGGNK (SEQ ID No. 179)	NMGPE (SEQ ID No. 245)	NRSRWQQ (SEQ ID No. 352)
H542-M3C12	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKCLKQ (SEQ ID No. 353)
H542-M3E10	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKQLKK (SEQ ID No. 354)
H542-M3E6	LDGDQ (SEQ ID No. 180)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	QQKKRKKKK (SEQ ID No. 355)
H542-M4E9	FIPHN (SEQ ID No. 181)	DCGPE (SEQ ID No. 246)	PPPLCAP (SEQ ID No. 356)
H542-M4D8	KKKGK (SEQ ID No. 182)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SLNRWKR (SEQ ID No. 357)

ES 2 609 359 T3

H542-M4H8	KKKGGK (SEQ ID No. 182)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SLNRWKR (SEQ ID No. 357)
H542-M4B11	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KNKKKRRK (SEQ ID No. 358)
H542-M4C10	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	MDGPE (SEQ ID No. 247)	KKKKIKK (SEQ ID No. 359)
H542-M4F11	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKKMKK (SEQ ID No. 360)
H542-M4C8	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H542-M4G2	KNKKK (SEQ ID No. 183)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	REREWRK (SEQ ID No. 362)
H542-M4C7	TKKET (SEQ ID No. 178)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	ELEGEEQ (SEQ ID No. 351)
H561 G3M1 B8	KKKNN (SEQ ID No. 184)	YPEKH (SEQ ID No. 248)	DKSRWQQ (SEQ ID No. 363)
H542-M4D10	TKKET (SEQ ID No. 178)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	ELEGEEQ (SEQ ID No. 351)
H542-M4B3	KKKKR (SEQ ID No. 185)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PLRLPPM (SEQ ID No. 364)
H542-M4A6	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NKQNH (SEQ ID No. 244)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H561 G3M1 C6	LKKKT (SEQ ID No. 186)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PRSNWYGNRWRR (SEQ ID No. 365)
H542-M4C1	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PQSRWYN (SEQ ID No. 347)
H542-M4F4	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWSRWRL (SEQ ID No. 348)
H561G3M1E1	TKGRW (SEQ ID No. 187)	NGAPQ (SEQ ID No. 249)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H542-M4F6	LSLPC (SEQ ID No. 164)	ISGPE (SEQ ID No. 240)	PQTPPSQ (SEQ ID No. 340)
H561G3M1A1	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	TPGNLAL (SEQ ID No. 366)
H561G3M1A10	KKKKN (SEQ ID No. 188)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SREDFRA (SEQ ID No. 367)
H561G3M1A9	KHAET (SEQ ID No. 189)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	LVSISVG (SEQ ID No. 368)
H561G3M1B10	-KKKK (SEQ ID No. 190)	DYGPM (SEQ ID No. 250)	PSRRWRE (SEQ ID No. 369)
H561 G3M1 G4	FFTYW (SEQ ID No. 191)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DRRRWTA (SEQ ID No. 370)
H561 G3M1 B9	EGKRR (SEQ ID No. 192)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H561 G3M1 CI	RHGGW (SEQ ID No. 193)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DLQDKKY (SEQ ID No. 371)

ES 2 609 359 T3

H561 G3M1 C2	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	ISVPPDE (SEQ ID No. 372)
H561 G3M1 H8	-KSGY (SEQ ID No. 194)	RKKKE (SEQ ID No. 251)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H561 G3M1 C8	AKEGG (SEQ ID No. 195)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	TGPDITV (SEQ ID No. 373)
H561G3M1D1	KYWMA (SEQ ID No. 196)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	IVLSGFR (SEQ ID No. 374)
H561G3M1D5	KKKNK (SEQ ID No. 188)	DAGPE (SEQ ID No. 243)	MGIHNIN (SEQ ID No. 375)
H564G11 M2F4	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	MKQDEMA (SEQ ID No. 376)
H561 G3M1 E2	FFTYW (SEQ ID No. 191)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DRRRWTA (SEQ ID No. 370)
H561 G3M1 E6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PQW RLQW (SEQ ID No.377)
H561 G3M1 E7	KKKNK (SEQ ID No. 188)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	HRRLVAR (SEQ ID No. 378)
H561G3M1F10	QLRNK (SEQ ID No. 197)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KQNLRRK (SEQ ID No. 379)
H561 G3M1 F2	QRGRM (SEQ ID No. 198)	KGGRE (SEQ ID No. 252)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H561G3M1G1	QRGRM (SEQ ID No. 198)	KGGRE (SEQ ID No. 252)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H564G11 M2F12	KNHNT (SEQ ID No. 199)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	SRSRLHGNRWRR (SEQ ID No. 380)
H561 G3M1 H3	KKKKK (SEQ ID No. 171)	GNWQP (SEQ ID No. 253)	NRERWRR (SEQ ID No. 381)
H561 G3M1 H7	MSENE (SEQ ID No. 200)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	TWVRW MQ (SEQ ID No.382)
H564G11 M2G2	KKKNK (SEQ ID No. 188)	TTGPY (SEQ ID No. 254)	PWSRWRL (SEQ ID No. 348)
H564G11M2A10	KKKNK (SEQ ID No. 188)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PHWQWKW (SEQ ID No. 383)
H564G11 M2A4	YGHKY (SEQ ID No. 177)	DMNQP (SEQ ID No. 255)	SKKKLRK (SEQ ID No. 384)
H564G11 M2A5	YGHKY (SEQ ID No. 177)	KWPMF (SEQ ID No. 256)	PWKRLRK (SEQ ID No. 385)
H564G11 M2A9	WWMDY (SEQ ID No. 201)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H564G11 M2B1	YGHKY (SEQ ID No. 177)	HDQRH (SEQ ID No. 257)	TQKRWRS (SEQ ID No. 386)
H564G11 M2B12	MKKNK (SEQ ID No. 202)	LGYMY (SEQ ID No. 258)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H564G11 M2B3	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NKMFT (SEQ ID No.259)	NRKHLRA (SEQ ID No. 387)

ES 2 609 359 T3

H564G11 M2B4	EYFRH (SEQ ID No. 203)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	TRRRWTR (SEQ ID No. 388)
H564G11 M2B5	KKKNK (SEQ ID No. 188)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DHRRINR (SEQ ID No. 389)
H564G11 M2B7	FDMRD (SEQ ID No. 204)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H564G11 M2C1	MKKPY (SEQ ID No. 205)	LGYPE (SEQ ID No. 260)	KKKKYHK (SEQ ID No. 390)
H564G11 M2C11	KKKNN (SEQ ID No. 184)	HGYQL (SEQ ID No. 261)	PWVRW MQ (SEQ ID No.342)
H564G11 M2C3	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NVFIE (SEQ ID No. 262)	QKKLKK (SEQ ID No. 391)
H564G11 M2C7	FEMPY (SEQ ID No. 206)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H564G11 M2C9	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NRGWH (SEQ ID No. 263)	PQKLRK (SEQ ID No. 392)
H564G11 M2D1	KKKNH (SEQ ID No. 207)	PFTLK (SEQ ID No. 264)	DKRGIRK (SEQ ID No. 393)
H564G11M2D10	FFTYW (SEQ ID No. 191)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DRRRWTA (SEQ ID No. 370)
H564G11 M2D4	-KKKK (SEQ ID No. 190)	DYGPM (SEQ ID No. 250)	PSRRWRE (SEQ ID No. 369)
H564G11 M2D9	YGHKY (SEQ ID No. 177)	STTRV (SEQ ID No. 265)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H564G11M2E10	KKKNH (SEQ ID No. 207)	WDQH (SEQ ID No. 266)	EKKRWKE (SEQ ID No. 394)
H564G11 M2E11	-KKKK (SEQ ID No. 190)	DYGPM (SEQ ID No. 250)	TSRRWRE (SEQ ID No. 395)
H564G11 M2E3	YGHKY (SEQ ID No. 177)	SGWMM (SEQ ID No. 267)	KKEKLRK (SEQ ID No. 396)
H564G11 M2E8	YGHKY (SEQ ID No. 177)	WRKMT (SEQ ID No. 268)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H564G11M2H10	YGHKY (SEQ ID No. 177)	FPKKY (SEQ ID No. 269)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H564G11 M2F2	MWEPS (SEQ ID No. 208)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKKLKK (SEQ ID No. 397)
H564G11 M2F5	LRGST (SEQ ID No. 209)	SPYFV (SEQ ID No. 270)	KKKKIMK (SEQ ID No. 398)
H564G11 M2F6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	IRGTS (SEQ ID No.271)	DQTRWRR (SEQ ID No. 399)
H564G11 M2F7	DSYMI (SEQ ID No. 210)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	TWVRWMQ (SEQ ID No. 382)
H564G11 M2F9	YGHKY (SEQ ID No. 177)	QVPGW (SEQ ID No. 272)	KKKEIKK (SEQ ID No. 400)
H564G11 M2G4	YGHKY (SEQ ID No. 177)	DLPYQ (SEQ ID No. 273)	KKNLKK (SEQ ID No. 401)

ES 2 609 359 T3

H564G11 M2G6	YGHKY (SEQ ID No. 177)	PRSHW (SEQ ID No. 274)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H564G11 M2G7	KKKNK (SEQ ID No. 188)	LYGHA (SEQ ID No. 275)	NRERWRR (SEQ ID No. 381)
H564G11 M2G9	KKKNK (SEQ ID No. 188)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWWQFRQ (SEQ ID No. 402)
H564G11 M2H2	YGHKY (SEQ ID No. 177)	APYVH (SEQ ID No. 276)	KKKEIKK (SEQ ID No. 400)
H564G11 M2H3	MEQHS (SEQ ID No. 211)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H564G11 M2H4	YGHKY (SEQ ID No. 177)	RTGQK (SEQ ID No. 277)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H564G11 M2H8	YGHKY (SEQ ID No. 177)	PTYWY (SEQ ID No. 278)	NRKHLRA (SEQ ID No. 387)
H564G11 M2H9	KKKKH (SEQ ID No. 212)	EGMEI (SEQ ID No. 279)	PSRRWRE (SEQ ID No. 369)
H565_G12C1	LKKKT (SEQ ID No. 186)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PRSNWYGNRWRR (SEQ ID No. 365)
H565_G12D5	KKKKK (SEQ ID No. 171)	PWGA (SEQ ID No. 280)	DQSKLSSLRWKK (SEQ ID No. 403)
H565_G12E4	KKKKK (SEQ ID No. 171)	PLMVD (SEQ ID No. 281)	DQSKLSSLRWKK (SEQ ID No. 403)
H565_G12A1	KKKNH (SEQ ID No. 207)	KYGSQ (SEQ ID No. 282)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12C4	KKKNH (SEQ ID No. 207)	RWNNQ (SEQ ID No. 283)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12F1	KKKNH (SEQ ID No. 207)	VYKQD (SEQ ID No. 284)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12A10	KKKNH (SEQ ID No. 207)	NQMKF (SEQ ID No. 285)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12A8	KKKNH (SEQ ID No. 207)	NHQHT (SEQ ID No. 286)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12A4	KKKNH (SEQ ID No. 207)	KRFVD (SEQ ID No. 287)	PNEKLKK (SEQ ID No. 404)
H565_G12B2	KKKNH (SEQ ID No. 207)	HHEPL (SEQ ID No. 288)	PLSRWKR (SEQ ID No. 405)
H565_G12F4	KKKNH (SEQ ID No. 207)	PKMPY (SEQ ID No. 289)	NRKHLRA (SEQ ID No. 387)
H565_G12H5	KKKNH (SEQ ID No. 207)	PKDHE (SEQ ID No. 290)	ARSRWRK (SEQ ID No. 408)
H565_G12G6	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	AKGSI (SEQ ID No. 291)	PKKRLRR (SEQ ID No. 409)
H565_G12A5	YGHKY (SEQ ID No. 177)	EDPEM (SEQ ID No. 292)	KNKKRKK (SEQ ID No. 410)
H565_G12E9	YGHKY (SEQ ID No. 177)	EFDHQ (SEQ ID No. 293)	KNKKRKK (SEQ ID No. 410)

ES 2 609 359 T3

H565_G12F8	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NEKQD (SEQ ID No. 294)	NTKKLKK (SEQ ID No. 411)
H565_G12D2	YGHKY (SEQ ID No. 177)	APHYY (SEQ ID No. 295)	NRKRIRK (SEQ ID No. 412)
H565_G12F7	YGHKY (SEQ ID No. 177)	PQLHL (SEQ ID No. 296)	SRKRFRS (SEQ ID No. 413)
H565_G12G2	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NWRAE (SEQ ID No. 297)	ARSRWRK (SEQ ID No. 408)
H565_G12H11	YGHKY (SEQ ID No. 177)	NNQYK (SEQ ID No. 298)	PFRRWVK (SEQ ID No. 414)
H565_G12A7	YGHKY (SEQ ID No. 177)	-RSIH (SEQ ID No. 299)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12A9	YGHKY (SEQ ID No. 177)	RDRIM (SEQ ID No. 300)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12B3	YGHKY (SEQ ID No. 177)	YGKGH (SEQ ID No. 301)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12B5	YGHKY (SEQ ID No. 177)	GKGGK (SEQ ID No. 302)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12E3	YGHKY (SEQ ID No. 177)	RHIGK (SEQ ID No. 303)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12E12	YGHKY (SEQ ID No. 177)	QYTYH (SEQ ID No. 304)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12B1	YGHKY (SEQ ID No. 177)	LHSHV (SEQ ID No. 305)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12B11	YGHKY (SEQ ID No. 177)	STTRV (SEQ ID No. 265)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12D1	YGHKY (SEQ ID No. 177)	ARDKR (SEQ ID No. 306)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12E2	YGHKY (SEQ ID No. 177)	EHKKT (SEQ ID No. 307)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12C5	KKKKK (SEQ ID No. 171)	MDEVP (SEQ ID No. 308)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12C7	-KKKK (SEQ ID No. 190)	QDWQR (SEQ ID No. 309)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12G1	-KKKK (SEQ ID No. 190)	PSDRE (SEQ ID No. 310)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12G8	NKKKK (SEQ ID No. 213)	QNTRW (SEQ ID No. 311)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12C9	-KKKK (SEQ ID No. 190)	DEGLH (SEQ ID No. 312)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H565_G12A11	IMNDW (SEQ ID No. 214)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H565_G12D10	WTNGD (SEQ ID No. 215)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H565_G12F6	WWHDM (SEQ ID No. 216)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)

ES 2 609 359 T3

H565_G12B4			KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
	WENPH (SEQ ID No. 217)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12H2			KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
	LYHEH (SEQ ID No. 218)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12H8			KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
	GGDQH (SEQ ID No. 219)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12C12	IYVPY (SEQ ID No. 220)		KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
		NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12G10			KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
	FEMPY (SEQ ID No. 206)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12C2	VVTSQ (SEQ ID No. 221)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KRKKLKK (SEQ ID No. 361)
H565_G12B6	VVNSK (SEQ ID No. 222)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKQLKK (SEQ ID No. 354)
H565_G12A12			KKKKIKK (SEQ ID No. 359)
	MTGPG (SEQ ID No. 223)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12D7			KKKKLKK (SEQ ID No. 397)
	MWEPS (SEQ ID No. 208)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12F3	DTYHD (SEQ ID No. 224)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKKLKK (SEQ ID No. 397)
H565_G12F5			KKKKIKK (SEQ ID No. 359)
	QDEKT (SEQ ID No. 225)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12B12			KKKKLQK (SEQ ID No. 353)
	GDHRI (SEQ ID No. 226)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12D8			KKKKLQK (SEQ ID No. 353)
	RNSNS (SEQ ID No. 227)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12D9			NKKKKKK (SEQ ID No. 415)
	RENTM (SEQ ID No. 228)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12H9			SKKKLRK (SEQ ID No. 384)
	VNDKM (SEQ ID No. 229)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12E1			KKKKLKK (SEQ ID No. 397)
	RKKDE (SEQ ID No. 230)	WPNME (SEQ ID No. 313)	
H565_G12E8			KKKKIKK (SEQ ID No. 359)
	SNSGY (SEQ ID No. 231)	MDGPE (SEQ ID No. 247)	
H565_G12G7			PKKRLRR (SEQ ID No. 409)
	FEYRH (SEQ ID No. 232)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12E5	QRGRM (SEQ ID No. 198)	KGGRE (SEQ ID No. 252)	SRARWRH (SEQ ID No. 343)
H565_G12A2			NGKRLHS (SEQ ID No. 416)
	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12C8			PKWLWHQ (SEQ ID No. 417)
	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12E7			PWWKHHV (SEQ ID No. 418)
	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H565_G12F12			PNWKYQW (SEQ ID No. 419)
	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	

ES 2 609 359 T3

H565_G12F10	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PQRKVAP (SEQ ID No. 420)
H565_G12G9	RKKKK (SEQ ID No. 233)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	PWYKVLN (SEQ ID No. 421)
H565_G12H10	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DRKWWTF (SEQ ID No. 422)
H565_G12A3	KKKKK (SEQ ID No. 171)	MTGRV (SEQ ID No. 314)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H565_G12B8	KKKKK (SEQ ID No. 171)	GKYNI (SEQ ID No. 315)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H565_G12H4	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NAYLL (SEQ ID No. 316)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H565_G12C10	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H565_G12C6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	AQYNV (SEQ ID No. 317)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H565_G12G11	KKKKK (SEQ ID No. 171)	LYGHA (SEQ ID No. 275)	NRERWRR (SEQ ID No. 381)
H565_G12G5	KKKKK (SEQ ID No. 171)	LYGHA (SEQ ID No. 275)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H565_G12A6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NQVMT (SEQ ID No. 318)	PSRRWRE (SEQ ID No. 369)
H565_G12E6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	VVHDT (SEQ ID No. 319)	PRHEWVM (SEQ ID No. 423)
H565_G12B10	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NIWHQ (SEQ ID No. 320)	DKSRWQQ (SEQ ID No. 363)
H565_G12H6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	QWGNM (SEQ ID No. 321)	DKSRWQQ (SEQ ID No. 363)
H565_G12D12	KKKKK (SEQ ID No. 171)	MHVKS (SEQ ID No. 322)	PWSRWMQ (SEQ ID No. 424)
H565_G12B9	-K K K K (SEQ ID No. 190)	EYTVV (SEQ ID No. 323)	PLSRWKR (SEQ ID No. 405)
H565_G12E11	-K K K K (SEQ ID No. 190)	GPYQD (SEQ ID No. 324)	PLSRWKR (SEQ ID No. 405)
H565_G12F9	KKKKK (SEQ ID No. 171)	QGVLE (SEQ ID No. 325)	TQNQIKK (SEQ ID No. 406)
H571A1	KKKKK (SEQ ID No. 171)	LYGHA (SEQ ID No. 275)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H571C10	KKKKK (SEQ ID No. 171)	QQPGV (SEQ ID No. 326)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H571 E6	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NQVRG (SEQ ID No. 327)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H571D10	KKKKK (SEQ ID No. 171)	VPHVL (SEQ ID No. 328)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)
H571D4	KKKKK (SEQ ID No. 171)	DGRKQ (SEQ ID No. 329)	DRERWRR (SEQ ID No. 407)

ES 2 609 359 T3

H571 C3			DRERWRR (SEQ ID No. 407)
	KKKKK (SEQ ID No. 171)	NASFE (SEQ ID No. 330)	
H571A3			SRARWLH (SEQ ID No. 425)
	LTKNQ (SEQ ID No. 166)	KKRVV (SEQ ID No. 331)	
H571D7		KGIKK (SEQ ID No. 332)	SRARWLH (SEQ ID No. 425)
	YGHKY (SEQ ID No. 177)		
H571B1	QRGRM (SEQ ID No. 198)	KGGRE (SEQ ID No. 252)	SRARWLH (SEQ ID No. 425)
H571 B9	TKGRW (SEQ ID No. 187)	NGAPQ (SEQ ID No. 249)	SRARWLH (SEQ ID No. 425)
H571 E5			SRARWLH (SEQ ID No. 425)
	EGKRK (SEQ ID No. 192)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H571A5			PKKRLRR (SEQ ID No. 409)
	YGHKY (SEQ ID No. 177)	YRRGD (SEQ ID No. 33)	
H571A9	YGHKY (SEQ ID No. 177)	PMGKY (SEQ ID No. 334)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
H571 C9			PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
	YGHKY (SEQ ID No. 177)	FPKKY (SEQ ID No. 269)	
H571 B3			PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
	YGHKY (SEQ ID No. 177)	RHIGK (SEQ ID No. 303)	
H571D9			PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
	YGNSY (SEQ ID No. 234)	RGIAK (SEQ ID No. 335)	
H571 C2			PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
	KKKNK (SEQ ID No. 188)	LWGGM (SEQ ID No. 336)	
H571 C5		NAHYI (SEQ ID No. 337)	PQKRWRS (SEQ ID No. 349)
	KKKNH (SEQ ID No. 207)		
H571B11			PSRRWRE (SEQ ID No. 369)
	RNRKK (SEQ ID No. 235)	SGTRL (SEQ ID No. 338)	
H571A6	WDHGS (SEQ ID No. 236)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	KKKKIKK (SEQ ID No. 359)
H571 F3			KKKKLKQ (SEQ ID No. 353)
	FAKRT (SEQ ID No. 237)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H571E12			DKSRWQQ (SEQ ID No. 363)
	SMDKV (SEQ ID No. 238)	YRRGD (SEQ ID No. 33)	
H571A7			DRRRWTA (SEQ ID No. 370)
	FFTYW (SEQ ID No. 191)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H571D12			TRRRWTR (SEQ ID No. 388)
	EYFRH (SEQ ID No. 203)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	
H571D6	RHQDR (SEQ ID No. 239)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	NRSRLHGNRWRR (SEQ ID No. 426)
H571A2			PRSNWYGNRWRR (SEQ ID No. 365)
	LKKKT (SEQ ID No. 186)	NGQPE (SEQ ID No. 241)	

Expresión y purificación de clones específicos de antígeno en células de mamíferos:

- 5 Clones seleccionados como se ha descrito en lo que antecede con características como se ha descrito en lo que antecede se clonan en un vector de expresión en mamíferos tal como pCEP4 (Invitrogen). Se usa ADN plasmídico altamente purificado (Qiagen) para transfectar transitoriamente células libres HEK293 con reactivo Freestyle™ MAX

según las recomendaciones del fabricante (Invitrogen). El día 5 después de la transfección, los sobrenadantes se limpian de restos celulares mediante centrifugación y filtración a través de un filtro de 0,2 µM Stericup (Millipore). Como alternativa, las células libres HEK293 o células CHO se transfectan con plásmidos de expresión que contienen genes para la resistencia a antibióticos, tales como neomicina o puomicina. Las células transfectadas se cultivan en presencia de los antibióticos dando lugar a una supervivencia específica de clones de células que expresan de forma estable el gen de resistencia a antibióticos junto con el fragmento Fc específico de antígeno. Estos transfectantes estables segregan constantemente la proteína de interés durante períodos de tiempo largos. Los Fcab específicos de antígeno se purificaron a partir de los sobrenadantes celulares mediante cromatografía de inmunoafinidad de la proteína A. Los Fcab unidos se eluyen de la proteína A lavando la columna con tampón glicina (pH=2,9-4,0), seguido de diálisis frente a PBS (pH = 6,8). La pureza de los Fcab se determina mediante análisis de SDS-PAGE no reductor y los potenciales agregados se detectan mediante HPLC de exclusión por tamaño usando una columna Zorbax GF250 y PBS como tampón de carrera.

Caracterización estructural de Fcab:

Se usó la unión a receptores Fc y la proteína A para estimar la integridad estructural global de los Fcab purificados. La asociación con el receptor neonatal de Fc (FcRn) se midió mediante la adición de 10 µg/ml de Fcab a un chip de Biacore CM5 acoplado a 5.000 unidades de respuesta (UR) del FcRn humano recombinante a pH = 6,0. La disociación de Fcab del FcRn se analizó a pH = 7,4. Estos experimentos demostraron una interacción dependiente del pH de los Fcab específicos de Her2 con FcRn con características de unión muy similares a las del Fcab silvestre. La unión de Fcab al receptor CD64 de Fc de alta afinidad se midió utilizando un chip de Biacore CM5 revestido con 3000 UR de Proteína A, seguido de la adición de una solución de Fcab 10 µg/ml. Finalmente, se añadió CD64 humano soluble a 5 µg/ml. Las curvas de unión resultantes eran indistinguibles de las obtenidas con el Fcab tipo silvestre. La interacción de Fcab recombinantes (10 µg/ml) con Proteína A también se midió mediante SPR usando un chip de Biacore CM5 recubierto con proteína A (3.000 UR). De nuevo, las afinidades eran comparables a las obtenidas con el Fcab silvestre.

Unión específica de antígeno para Fcab:

La potencia y especificidad de los Fcab específicos de Her2 para unirse a Her-2 se evaluó por ELISA. El Her-2 humano soluble (Bender Med Systems, Austria) se recubrió con plástico a 2 µg/ml. Después de lavar y bloquear los sitios de unión no específica, se añadieron concentraciones crecientes de Fcab. Para detectar los Fcab unidos a Her2, se añadieron anticuerpos monoclonales específicos del dominio CH2 anti-Fc que se conjugaron con peroxidasa de rábano picante (Serotec). Los resultados demostraron que algunos Fcab específicos de Her-2 podían interactuar con su diana en el límite bajo nanomolar (Tabla 6). Esta interacción fue específica, ya que la unión a otros miembros de la familia Her (Her1, Her3 y Her4) fue >100 veces más débil según el ELISA. No se detectó unión a antígenos Her-2 no relacionados.

Tabla 6: Afinidades de unión de Fcab específicos de Her-2 en ELISA:

clon de Fcab	CE ₅₀ [nM] ELISA de Her-2	CE ₅₀ [nM] de unión a células SKBR3
y-Her.C2.P4.2-3	463	nr
y-Her.C2.P4.2-4	370	nr
H561G3M1G4	263	nr
y-Her.C2.P4.2-19	93	nr
ABEFs0101	16,1	5,2
H10-03-6	4,8	10,3
EF3-17	4,7	1,3
y-Her.C2.P4.2-9	4,3	nr
H10-03-6R	2,6	11,1
nr= no realizado		

La unión al antígeno también se determinó mediante SPR. Se recubrieron chips Biacore CM5 con diferentes cantidades de Her-2 soluble humano, seguido de la adición de concentraciones crecientes de Fcab. La afinidad (K_d) de los Fcab se calculó a partir de las curvas de unión resultantes tras ajustar usando el software BiaEval. En estas condiciones experimentales. Los Fcab específicos de Her-2 H561G3M1G4 y H10-03-6 se unieron a Her-2 con valores de K_d de 7,55nM y 8,6nM, respectivamente. También se evaluó la unión al antígeno por FACS usando las líneas celulares de cáncer de mama humano que sobreexpresan Her-2, SKBR3 y Calu-3. Se incubaron 1x10⁵ células con concentraciones crecientes de Fcab durante 60 minutos en hielo. Después, los anticuerpos no unidos se eliminaron

mediante centrifugación y lavado. Los Fcab unidos a las células se detectaron por incubación con anticuerpos específicos anti-Fc humanos conjugados con ficoeritrina (Sigma) durante 60 minutos en hielo. Después de lavar las células, se midió la intensidad de la fluorescencia en la superficie celular en un instrumento FACS Calibur (Beckton Dickinson). Todas las bandas de Fcab específicos de Her-2 se unieron a las células SKBR3 y Calu-3, pero solo mínimamente a las células MDA-MB468 que no expresan Her-2, lo que confirma la débil reactividad cruzada observada en el ELISA. Las afinidades aparentes (CE_{50}) de los Fcab específicos de Her-2 sobre las células SKBR3 se enumeran en la Tabla 6.

Función efectora de Fcab específicos de antígeno (ADCC):

Con el fin de determinar si los Fcab específicos de Her-2 median las funciones efectoras de Fc, se realizan ensayos de ADCC. En estos tipos de ensayos, los anticuerpos se unen a las células diana y las marcan para apoptosis gracias a la unión a los receptores Fc sobre las células efectoras, tales como células asesinas naturales (NK). Las células SKBR3 (células diana) que están marcadas con el colorante fluorescente carboxifluoresceína succinimidil éster (CFSE) se incuban con concentraciones crecientes de Fcab específicos de Her-2 durante 20 minutos a 37 ° C. Las células NK sin tocar se aíslan a partir de sangre humana de donantes sanos por agotamiento negativo en un dispositivo de AutoMACS usando esferas magnéticas de MACS de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Miltenyi Biotech). Las células NK purificadas se mezclan con las células SKBR3 osonizadas en una proporción de 5:1 y se incuban durante 4 horas a 37 ° C. Después, se añade el colorante de fluorescencia 7-amino actinomicina (7-AAD), que tiñe específicamente las células apoptóticas. Las células apoptóticas SKBR3 se enumeran en el FACS como células dobles positivas a 7-AAD/CFSE. Los Fcab específicos de Her-2 H10-03-6 y ABEFs0101 demostraron ser potentes mediadores de la muerte de las células SKBR3, con valores de CD_{50} de 1,1 nM y 1,0 nM, respectivamente. El mecanismo de la inducción de apoptosis es dependiente de la presencia de células NK que demuestra que los Fcab específicos de Her-2 poseen funcionalidad de ADCC.

Ejemplo 7: Expresión en levaduras de Fab 4D5

Para la expresión de un fragmento Fab en levaduras, el vector de expresión en levadura pYD1 (Invitrogen) (SEQ ID No. 72 / Figura 17) se modifica como sigue:

Se introduce un sitio de restricción NheI mediante mutagénesis dirigida en la posición 581/586 para producir el vector modificado pYD1 Nhe (SEQ ID No. 73 / Figura 18). Este vector se restringe con NheI y PmeI, para producir 3 fragmentos. El fragmento más grande es el esqueleto del vector restante, en el que se inserta un enlazador oligonucleótido sintético para producir el vector pYD1Ink (SEQ ID No. 74 / Figura 19). Posteriormente, se amplifica por PCR un casete que incluye la región de terminación de la transcripción MAT α a partir del vector pYD1 y se clona en pYD1Ink a través de BamHI y PstI de restricción y ligación. El vector resultante es pYD1 mata (SEQ ID No.75 / Figura 20). Un casete que contiene el promotor GAL1, el gen que codifica AGA2 y un enlazador sintético con sitios de clonación NotI y SfiI se amplifica por PCR a partir de pYD1 y se clona en pYD1mata a través de la restricción EcoRI y PacI para producir el vector pYD1gal (SEQ.ID N ° 76 / Figura 21).

Como un ejemplo para un Fab que se muestra en la levadura, los genes que codifican VH-CH1 y VL-CL, respectivamente, del anticuerpo 4D5 (Herceptin) se hacen sintéticamente (secuencias 4D5H (SEQ ID No. 77 / Figura 22) y 4D5L (SEQ ID No. 78 / Figura 23)).

4D5H está flanqueado por los sitios de restricción SfiI y NotI, y se clona en el vector pYD1gal para producir el vector pYD4D5hc (SEQ ID No. 79 / Figura 24). En este vector, el extremo N-terminal de 4D5H se fusiona con el extremo C-terminal de AGA2, y en el extremo C-terminal de 4D5H está unido un marcador de hexahistidina, seguido por el codón de terminación. La secuencia de aminoácidos de VH-CH1 de 4D5 se da en 4D5hp (SEC ID No. 80/Figura 25).

4D5H está flanqueado por los sitios de restricción NcoI y Ascl y se clona en el vector pYD1gal para producir el vector pYD4D5hc (SEQ ID No. 79 / Figura 26). 4D5L está precedido por una señal de secreción de AGA2, y lleva un codón de terminación después del resto de cisteína C-terminal del dominio CL. La secuencia de aminoácidos de VL-CL de 4D5 se da en 4D5lp (SEC ID No.82 / Figura 27).

Para la expresión de Fab 4D5, el vector pYD4D5hl se utiliza para transformar la cepa de levadura EBY100 (Invitrogen), se seleccionan los transformantes en medio mínimo sin triptófano, y la expresión de la proteína recombinante se induce por crecimiento en un medio que contiene galactosa de acuerdo con protocolos estándar (Invitrogen).

Ejemplo 8: Construcción de una biblioteca con restos aleatorizados en los bucles estructurales del dominio CL de 4D5 Fab

Como primer paso en la construcción de la biblioteca de presentación en levadura, el dominio CL silvestre (κ C) se corta del vector de expresión pYD4D5hl (SEQ ID No. 81) con las enzimas de restricción BsiWI y Ascl. Se prepara un gen sintético que codifica dominios κ C humanos flanqueados por BsiWI y Ascl (en el contexto de acuerdo con pYD4D5hl) en el que se introducen mutaciones e inserciones aleatorias, respectivamente, en los bucles AB y EF. En este ejemplo en particular, la inserción de 3, 4 o 5 codones NNB se realiza entre los aminoácidos 16 y 17 del dominio

ES 2 609 359 T3

C kappa humano, y las posiciones de los restos 92, 93, 94, 95, 97, 98 y 99 se reemplazan por los codones NNB. (numeración IMGT, véase la Figura 2). Un codón NNB contiene los 4 nucleótidos en las posiciones 1 y 2 y C, G y T en la posición 3. Por tanto, NNB codifica los 20 aminoácidos de origen natural.

5 La biblioteca se prepara y se selecciona siguiendo procedimientos convencionales.

Como ligando estructural se usan epítopos 4D5 y Her2neu diana de CDR. Dichos miembros de la biblioteca se seleccionan para la producción de un anticuerpo modular citotóxico que tiene un sitio de unión modificado por ingeniería en el dominio CL, que es una unión específica a una molécula efectora, tal como un receptor Fc gamma. El Fab resultante se analiza para determinar su (i) unión a Her2neu con una $K_d < 10^{-8}$ M y una $CI_{50} < 10^{-8}$ M, y (ii) la función efectora, usando un ensayo de CDC y/o ADCC.

10

LISTADO DE SECUENCIAS

15 <110> F-Star Biotechnologische Forschungs - und Entwicklungsges. M.B.H.

<120> Inmunoglobulina citotóxica

20 <130> SMW/CP6896989

<140> EP

<141> 03-03-2009

25 <140> EP 09737920.0

<141> 03-03-2009

<150> EP 08450068.5

<151> 02-05-2008

30 <160> 439

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

35 <211> 232

<212> PRT

<213> ser humano

<400> 1

40

ES 2 609 359 T3

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

5 <210> 2
<211> 237

ES 2 609 359 T3

<212> PRT
 <213> artificial

<220>
 5 <223> IgG humana que incluye modificaciones de aminoácidos aleatorizadas

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (144)..(146)
 10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (198)..(205)
 15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (208)..(209)
 20 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 2

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45

ES 2 609 359 T3

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Xaa
130 135 140

Xaa Xaa Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Trp Xaa
195 200 205

Xaa Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
210 215 220

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 3
<211> 728
5 <212> ADN
<213> artificial

<220>
10 <223> Secuencia de ADN para la clonación de la IgG modificada (secuencia modificada por ingeniería)

<220>
<221> misc_feature
<222> (438)..(439)
15 <223> n e s a , c , g o t

<220>
<221> misc_feature

<222> (441)..(442)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (444)..(445)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 10 <221> misc_feature
 <222> (600)..(601)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 15 <221> misc_feature
 <222> (603)..(604)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 20 <221> misc_feature
 <222> (606)..(607)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (609)..(610)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 30 <221> misc_feature
 <222> (612)..(613)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 35 <221> misc_feature
 <222> (615)..(616)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 40 <221> misc_feature
 <222> (618)..(619)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (621)..(622)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 50 <221> misc_feature
 <222> (630)..(631)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 55 <221> misc_feature
 <222> (633)..(634)
 <223> n es a, c, g o t

 <400> 3
 60

ES 2 609 359 T3

```

ccatggccga gcccaaatct tgtgacaaaa ctcacacatg cccacogtgc ccagcacctg      60
aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaaa acccaaggac accctcatga      120

tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccctgagg      180
tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg      240
aggagcagta caacagcacg tacctgtggg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact      300
ggctgaatgg caaggagtac aagtgcgaag tctccaacaa agccctccca gccccatcg      360
agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc ctcgagaacc acaggtgtac accctgcccc      420
catcccgtga cgagctcnns nnsnnscaag tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct      480
atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC aactacaaga      540
ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcaag cttaccgtgn      600
nnsnnsnnsn snnsnnsns nnsaggtgn nsnsgggaa cgtcttctca tgctccgtga      660
tgcattgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaag      720
cggccgca                                          728

```

- 5 <210> 4
<211> 33
<212> ADN
<213> artificial
- 10 <220>
<223> Cebador para PCR EPKSNCO
- 15 <400> 4
ccatggccga gcccaaatct tgtgacaaaa ctc 33
- 20 <210> 5
<211> 30
<212> ADN
<213> artificial
- 25 <220>
<223> Cebador para PCR CH3LSAC
- 30 <400> 5
agtcgagctc gtcacgggat gggggcaggg 30
- 35 <210> 6
<211> 41
<212> ADN
<213> artificial
- 40 <220>
<223> Cebador para PCR CH3CSAC
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(12)
<223> n es a, c, g o t
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(15)
<223> n es a, c, g o t

ES 2 609 359 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(18)
 5 <223> n es a, c, g o t

 <400> 6
 10 gtacgagctc nnsnnsnsc aagtcagcct gacctgcctg g 41
 <210> 7
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> artificial
 15
 <220>
 <223> Cebador para PCR CH3CHIN

 <400> 7
 20 tgccaagctt gctgtagagg aagaaggagc cg 32
 <210> 8
 <211> 59
 <212> ADN
 25 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR CH3RHIN

 30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(18)
 <223> n es a, c, g o t

 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> n es a, c, g o t

 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (23)..(24)
 <223> n es a, c, g o t

 45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (32)..(33)
 <223> n es a, c, g o t

 50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (35)..(36)
 <223> n es a, c, g o t

 55 <400> 8
 tgccaagctt accgtgnnsn nsnnsaggtg gnnsnsggg aacgtcttct catgctccg 59
 <210> 9
 <211> 33
 60 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR CH3RNOT
 65
 <400> 9

ES 2 609 359 T3

agttgcggcc gctttaccgc gagacagga gag 33

5 <210> 10
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Región de unión
 <400> 10

Ser Pro Gly Lys Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
 1 5 10 15

Leu Asn Gly Ala Ala Thr Val Glu Ser
 20 25

15 <210> 11
 <211> 662
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de FcabRGD4L
 <400> 11

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 85 90 95

25

ES 2 609 359 T3

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Gly Cys Arg Gly Asp Cys Leu Ser Arg Trp Gln
 195 200 205

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 210 215 220

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Gly Gly
 225 230 235 240

Gly Ser Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn
 245 250 255

Gly Ala Ala Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala Lys Pro His Thr Glu Asn
 260 265 270

Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys Thr Leu Asp Arg Tyr Ala
 275 280 285

Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr Gly Val Val Val Cys Thr
 290 295 300

Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp Val Pro Ile Gly Leu Ala
 305 310 315 320

Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly
 325 330 335

Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro Pro Glu Tyr Gly Asp Thr
 340 345 350

ES 2 609 359 T3

Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro Leu Asp Gly Thr Tyr Pro
 355 360 365

Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro Asn Pro Ser Leu Glu Glu
 370 375 380

Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln Asn Asn Arg Phe Arg Asn
 385 390 395 400

Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly Thr Val Thr Gln Gly Thr
 405 410 415

Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr Pro Val Ser Ser Lys Ala
 420 425 430

Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg Asp Cys Ala Phe His
 435 440 445

Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu Tyr Gln Gly Gln Ser
 450 455 460

Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 465 470 475 480

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser
 485 490 495

Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser
 500 505 510

Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met
 515 520 525

Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys
 530 535 540

Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile
 545 550 555 560

Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe
 565 570 575

Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser
 580 585 590

Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser

ES 2 609 359 T3

	595		600		605												
	Val	Glu	Cys	Arg	Pro	Tyr	Val	Phe	Gly	Ala	Gly	Lys	Pro	Tyr	Glu	Phe	
	610						615					620					
	Ser	Ile	Asp	Cys	Asp	Lys	Ile	Asn	Leu	Phe	Arg	Gly	Val	Phe	Ala	Phe	
	625					630					635					640	
	Leu	Leu	Tyr	Val	Ala	Thr	Phe	Met	Tyr	Val	Phe	Ser	Thr	Phe	Ala	Asn	
					645					650						655	
	Ile	Leu	His	Lys	Glu	Ser											
					660												

<210> 12
 <211> 5200
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Vector pHENFcabRGD4

10

<400> 12

```

gacgaaaggg cctcgtgata cgcctatntt tataggttaa tgtcatgata ataatggttt      60
cttagacgtc aggtggcact ttcggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatntt      120
tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat      180
aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgcgcctt attccctntt      240
ttgcggcatt ttgccttctt gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg      300
ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga      360
tccttgagag ttttcgcccc gaagaacggt ttccaatgat gagcactntt aaagttctgc      420
tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcggg cgcgcatac      480
actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg      540
gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggcca      600
acttacttct gacaacgata ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg      660
gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg      720
acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg      780
gcgaactact tactctagct tcccggaac aattaataga ctggatggag gcggataaag      840
ttgcaggacc acttctgcgc tcggccttc cggctggctg gtttattgct gataaatctg      900
gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct      960
cccgatcgt agttatctac acgacggga gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac     1020
agatcgtgta gataggtgcc tcaactgatta agcattggta actgtcagac caagtttact     1080
    
```

ES 2 609 359 T3

catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga 1140
 tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt 1200
 cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct 1260
 gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtggg ttgtttgccg gatcaagagc 1320
 taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc 1380
 ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc 1440
 tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg 1500
 ggttggaactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt 1560
 cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg 1620
 agcattgaga aagcgcacag cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaaagcg 1680
 gcagggtcgg aacaggagag cgcaaggagg agcttccagg gggaaacgcc tggtatcttt 1740
 atagtctgt cggttttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag 1800
 gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt 1860
 gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta 1920
 ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag cgcagcaggt 1980
 cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcctaa tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc 2040
 cgattcatta atgcagctgg cacgacaggt ttcccactg gaaagcgggc agtgagcgcga 2100
 acgcaattaa tgtgagttag ctcaactcatt aggcacccca ggctttacac tttatgcttc 2160
 cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg 2220
 accatgatta cgccaagctt aagcttgcct gcaaatctta tttcaaggag acagtcataa 2280
 tgaaatacct attgcctaag gcagccgctg gattgttatt actcgcggcc cagccggcca 2340
 tggccgagcc caaatcttgt gacaaaactc acacatgcc accgtgcca gcacctgaac 2400
 tcctgggggg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct 2460
 cccggacccc tgaggtcaca tgctggtggg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca 2520
 agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg 2580
 agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgac caggactggc 2640
 tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatogaga 2700
 aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat 2760
 cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc 2820
 ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca 2880
 cgctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttctctta cagcaagctt accgtgggtt 2940

ES 2 609 359 T3

gccgcgggtga ttgtctgagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc 3000
 atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaagcgg 3060
 ccgcagaaca aaaactcatc tcagaagagg atctgaatgg ggccgcatag actgttgaaa 3120
 gttgtttagc aaaacctcat acagaaaatt catttactaa cgtctggaaa gacgacaaaa 3180
 ctttagatcg ttacgctaac tatgagggct gtctgtggaa tgctacagge gttgtggttt 3240
 gtactggtga cgaaactcag tgttacggta catgggttcc tattgggctt gctatccctg 3300
 aaaatgaggg tgggtggctct gaggggtggcg gttctgaggg tggcggttct gaggggtggcg 3360
 gtactaaacc tcctgagtac ggtgatacac ctattccggg ctatacttat atcaaccctc 3420
 tcgacggcac ttatccgcct ggtactgagc aaaaccccgc taatcctaata ccttctcttg 3480
 aggagtctca gcctcttaata actttcatgt ttcagaataa taggttccga aataggcagg 3540
 gtgcattaac tgtttatacg ggcactgta ctaaggcac tgaccccggt aaaacttatt 3600
 accagtacac tcctgtatca tcaaaagcca tgtatgacgc ttactggaac ggtaaattca 3660
 gagaactgccc tttccattct ggctttaatg aggatccatt cgtttgtgaa tatcaaggcc 3720
 aatogtctga cctgcctcaa cctcctgtca atgctggcgg cggctctggt ggtggttctg 3780
 gtggcggctc tgaggggtggc ggctctgagg gtggcggttc tgaggggtggc ggctctgagg 3840
 gtggcggttc cgggtggcggc tccggttccg gtgattttga ttatgaaaa atggcaaacg 3900
 ctaataaggg ggctatgacc gaaaatgccg atgaaaacgc gctacagtct gacgctaaag 3960
 gcaaacttga ttctgtcgt actgattacg gtgctgctat cgatggtttc attggtgacg 4020
 tttcggcct tgctaattgt aatggtgcta ctggtgattt tgctggctct aattcccaaa 4080
 tggctcaagt cggtgacggt gataattcac ctttaatgaa taatttccgt caatatttac 4140
 cttctttgcc tcagtccggt gaatgtgcc cttatgtctt tggcgtggt aaaccatag 4200
 aattttctat tgattgtgac aaaataaact tattccgtgg tgtctttgcg tttcttttat 4260
 atgttgccac ctttatgtat gtattttoga cgtttgctaa catactgcat aaggagtctt 4320
 aataagaatt cactggcctg cgttttacia cgtcgtgact gggaaaaccc tggcgttacc 4380
 caacttaatc gccttgacgc acatccccct ttcgccagct ggcgtaatag cgaagaggcc 4440
 cgcaccgatc gcccttccca acagttgogc agcctgaatg gcgaatggcg cctgatgcgg 4500
 tattttctcc ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca cgtcaaagca accatagtac 4560
 gcgcctgta gcggcgcatt aagcgcggcg ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgct 4620
 acaacttgcca gcgcctagc gcccgctcct ttcgctttct tcccttctt tctcgccacg 4680
 ttogccggct tccccgtca agctctaaat cgggggctcc ctttagggtt ccgatttagt 4740
 gctttacggc acctcgacc caaaaaactt gatttgggtg atggttcacg tagtgggcca 4800
 tcgcctgat agacggtttt tcgccctttg acgttgaggt ccacgttctt taatagtgga 4860

ES 2 609 359 T3

ctcttgttcc aaactggaac aacactcaac cctatctcgg gctattcttt tgatttataa 4920
 gggattttgc cgatttcggc ctattgggta aaaaatgagc tgatttaaca aaaatttaac 4980
 gcgaatttta acaaaatatt aacgtttaca attttatggg gcaactctcag tacaatctgc 5040
 tctgatgcgg catagttaag ccagccccga caccocccaa caccogctga cgcgcctga 5100
 cgggcttgtc tgctcccggc atccgcttac agacaagctg tgaccgtctc cgggagctgc 5160
 atgtgtcaga ggttttcacc gtcacacccg aaacgcgcga 5200

5 <210> 13
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> CH3rlink

<400> 13
 actagcggcc gcagagccac caccctcctt acccggagac agggagag 48

15 <210> 14
 <211> 5215
 <212> ADN
 <213> artificial

20 <220>
 <223> vector pHENFcabRGD4L

<400> 14

gacgaaagg cctcgtgata cgcctatfff tataggttaa tgtcatgata ataatgfff 60
 cttagacgtc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatfff 120
 tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat 180
 aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgtcgcctt attcctfff 240
 ttgcggcatt ttgccttctt gtttttctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg 300
 ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga 360
 tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactfff aaagttctgc 420
 tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg cggggcaaga gcaactcggc cgcgcatac 480
 actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg 540
 gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtc ccataacat gagtgataac actgcggcca 600
 acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg 660
 gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg 720
 acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg 780
 gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaag 840

ES 2 609 359 T3

ttgcaggacc acttctgccc tcggcccttc cggctggctg gtttattgct gataaatctg 900
 gagccgggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct 960
 cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac 1020
 agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta agcattggta actgtcagac caagtttact 1080
 catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga 1140
 tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt 1200
 cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct 1260
 gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtggg ttgtttgccg gatcaagagc 1320
 taccaactct ttttcogaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc 1380
 ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc 1440
 tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg 1500
 ggttgactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt 1560
 cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg 1620
 agcattgaga aagcgcaccg cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggat ccgtaagcg 1680
 gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc tggatcttt 1740
 atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgcctcagc 1800
 gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt 1860
 gctggccttt tgcacacatg ttctttcctg cgttatcccc tgattctgtg gataaacgta 1920
 ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag cgcagcaggt 1980
 cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcctaa tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc 2040
 cgattcatta atgcagctgg cacgacaggt tccccgactg gaaagcgggc agtgagcgca 2100
 acgcaattaa tgtgagttag ctcaactcatt aggcacccca ggctttacac tttatgcttc 2160
 cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg 2220
 accatgatta cgccaagctt aagcttgcct gcaaattcta tttcaaggag acagtcataa 2280
 tgaataacct attgcctacg gcagccgctg gattgttatt actcgcggcc cagccggcca 2340
 tggccgagcc caaatcttgt gacaaaactc acacatgcc accgtgccc gcacctgaac 2400
 tcctgggggg accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct 2460
 cccggacccc tgaggtcaca tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca 2520
 agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg 2580
 agcagtacaa cagcacgtac cgtgtgtgca gcgtcctcac cgtcctgac caggactggc 2640
 tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga 2700
 aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat 2760

ES 2 609 359 T3

cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc 2820
 ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca 2880
 cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaagctt accgtgggtt 2940
 gccgcggtga ttgtctgagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc 3000
 atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaggagg 3060
 gtggtggctc tggggccgca gaacaaaaac tcctctcaga agaggatctg aatggggccg 3120
 catagactgt tgaaagtgtt ttagcaaaac ctcatacaga aaattcattt actaacgtct 3180
 ggaaagacga caaaacttta gatcgttacg ctaactatga gggctgtctg tggaatgcta 3240
 caggcgttgt ggtttgtact ggtgacgaaa ctcaagtgtta cggtacatgg gttcctattg 3300
 ggcttgctat ccctgaaaat gagggtggtg gctctgaggg tggcggttct gaggggtggc 3360
 gttctgaggg tggcgggtact aaacctcctg agtacggtga tacacctatt cccggctata 3420
 cttatatcaa ccctctcgac ggcacttata cgcctgttac tgagcaaaac cccgctaata 3480
 ctaatccttc tcttgaggag tctcagcctc ttaatacttt catgtttcag aataataggt 3540
 tccgaaatag gcaggggtgca ttaactgttt atacgggcac tgttactcaa ggcactgacc 3600
 ccgttaaaac ttattaccag tacactcctg tatcatcaaa agccatgtat gacgcttact 3660
 ggaacggtaa attcagagac tgcgctttcc attctggctt taatgaggat ccattcgttt 3720
 gtgaatatca aggccaatcg tctgacctgc ctcaacctcc tgtcaatgct ggcggcggct 3780
 ctggtggtgg ttctggtggc ggctctgagg gtggcggctc tgagggtggc ggttctgagg 3840
 gtggcggctc tgagggtggc ggttccgggtg gcgctccgg ttccgggtgat tttgattatg 3900
 aaaaaatggc aaacgctaata aagggggcta tgaccgaaaa tgccgatgaa aacgcgctac 3960
 agtctgacgc taaaggcaaa cttgattctg tcgctactga ttacggtgct gctatcgatg 4020
 gtttcattgg tgacgtttcc ggccttgcta atggtaatgg tgctactggt gattttgctg 4080
 gctctaattc ccaaattggct caagtccgtg acggtgataa ttcaccttta atgaataatt 4140
 tccgtcaata tttaccttct ttgcctcagt cgggtgaatg tcgcccttat gtctttggcg 4200
 ctggtaaacc atatgaattt tctattgatt gtgacaaaat aaacttattc cgtggtgtct 4260
 ttgcgtttct tttatatgtt gccaccttta tgtatgtatt ttcgacgttt gctaacatac 4320
 tgcataagga gtcttaataa gaattcactg gccgtcgttt tacaacgtcg tgactgggaa 4380
 aacctggcg ttaccaact taatgcctt gcagcacatc cccctttcgc cagctggcgt 4440
 aatagcgaag aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa 4500
 tggcgcctga tggggtattt tctccttacg catctgtgcg gtatttcaca ccgcacgtca 4560
 aagcaaccat agtacgcgcc ctgtagcggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg 4620

ES 2 609 359 T3

cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgcc ctacgccccg ctcccttcgc tttcttccct 4680
 tcctttctcg ccacgttcgc eggctttccc cgtaagctc taaatcgggg gctcccttta 4740
 gggttcogat ttagtgcttt acggcacctc gaccccaaaa aacttgattt gggatgatgt 4800
 tcacgtagtg ggccatcgcc ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacggt ggagtccaag 4860
 ttctttaata gtggactctt gttccaaaact ggaacaacac tcaaccctat ctggggctat 4920
 tcttttgatt tataagggat tttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt 4980
 taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgt ttacaatttt atgggtgact 5040
 ctacgtacaa tctgctctga tgccgatag ttaagccagc ccgacaccc gccaacaccc 5100
 gctgacggc cctgacgggc ttgtctgctc ccggcatccg cttacagaca agctgtgacc 5160
 gtctccggga gctgcatgtg tcagaggttt tcacogtcat caccgaaacg cgcga 5215

<210> 15
 <211> 5013
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> vector pYD1dX

10

<400> 15

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgccgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggcccccac aaacctcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcagatgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgattt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac ccgggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcaactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg tttttcaata ttttctgta ttgcttcagt tttagcacag gaactgacaa 600
 ctatatgoga gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
 ctactathtt ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aaatcagtaa 720
 cgtttgtcag taattgcggg tctcaccctt caacaactag caaaggcagc ccataaaca 780
 cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtgggtg tggttctggt ggtggtggtt 840
 ctggtgggtg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
 acgatgacga taaggtacca ggatccagtg tggtggaatt ctgcagatat ccagcacagt 960
 ggccggccgct cgatcgagtc tagagggccc ttogaaggta agcctatccc taaccctctc 1020

ES 2 609 359 T3

ctcggtctcg attctaogcg taccggtcat catcaccatc accattgagt ttaaaccgcg 1080
 tgatctgata acaacagtgt agatgtaaca aaatcgactt tgttcccact gtacttttag 1140
 ctcgtaaaaa atacaatata cttttcattt ctccgtaaac aacatgtttt cccatgtaat 1200
 atccttttct atttttcggt ccgttaccaa ctttacacat actttatata gctattcact 1260
 tctatacact aaaaaactaa gacaatttta attttgctgc ctgccatatt tcaatttggt 1320
 ataaattcct ataatttata ctattagtag ctaaaaaaag atgaatgtga atcgaatcct 1380
 aagagaattg ggcaagtgca caacaatac ttaaataaat actactcagt aataacctat 1440
 ttcttagcat ttttgacgaa atttgctatt ttgttagagt cttttacacc atttgtctcc 1500
 acacctcgc ttacatcaac accaataacg ccatttaatc taagcgcac accaacattt 1560
 tctggcgtca gtccaccagc taacataaaa tgtaagctct cggggctctc ttgcctcca 1620
 acccagtcag aaatogagtt ccaatccaaa agttcacctg tcccacctgc ttctgaatca 1680
 aacaaggaa taaacgaatg aggtttctgt gaagctgcac tgagtagtat gttgcagtct 1740
 tttgaaata cgagtctttt aataactggc aaaccgagga actcttggtt ttcttgccac 1800
 gactcatctc cgtgcagttg gacgatatca atgccgtaat cattgaccag agccaaaaca 1860
 tcctccttag gttgattacg aaacacgcca accaagtatt tcggagtgcc tgaactattt 1920
 ttatatgctt ttacaagact tgaattttc cttgcaataa ccgggtcaat tgttctcttt 1980
 ctattgggca cacatataat acccagcaag tcagcatcgg aatctagagc acattctgog 2040
 gcctctgtgc tctgcaagcc gcaaactttc accaatggac cagaactacc tgtgaaatta 2100
 ataacagaca tactccaagc tgcctttgtg tgcttaatca cgtatactca cgtgctcaat 2160
 agtcaccaat gccctcctc ttggccctct ccttttcttt tttcgaccga atttcttgaa 2220
 gacgaaaggg cctcgtgata cgcctatttt tataggttaa tgtcatgata ataatggttt 2280
 cttaggacgg atcgtttgcc tgtaacttac acgcgcctcg tatcttttaa tgatggaata 2340
 atttgggaat ttactctgtg tttatttatt tttatgtttt gtatttggat tttagaaagt 2400
 aaataaagaa ggtagaagag ttacggaatg aagaaaaaaa aataaacaaa ggtttaaaaa 2460
 atttcaacaa aaagcgtact ttacatatat atttattaga caagaaaagc agattaaata 2520
 gatatacatt cgattaacga taagtaaaat gtaaaatcac aggattttcg tgtgtggtct 2580
 tctacacaga caagatgaaa caattcggca ttaatacctg agagcaggaa gagcaagata 2640
 aaaggtagta tttgttggcg atccccctag agtcttttac atcttcggaa acaaaaaact 2700
 attttttctt taatttcttt ttttactttc tatttttaat ttatatattt atattaaaaa 2760
 atttaaatta taattatttt tatagcacgt gatgaaaagg acccaggtgg cacttttcgg 2820
 ggaaatgtgc ggggaacccc tattgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg 2880

ES 2 609 359 T3

ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt 2940
 attcaacatt tccgtgtcgc cettattccc ttttttgccg cattttgcct tccgtgtttt 3000
 gctcaccag aaacgctggt gaaagtataa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg 3060
 ggttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa 3120
 cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtgtt 3180
 gacgccgggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag 3240
 tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt 3300
 gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga 3360
 ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt 3420
 tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta 3480
 gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg 3540
 caacaattaa tagactggat ggaggoggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc 3600
 cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt 3660
 atcattgcag cactggggcc agatggttaag ccctcccgtg tctgtagttat ctacacgagc 3720
 ggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg 3780
 attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa 3840
 cttcattttt aatttaaaag gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgacccaa 3900
 atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga 3960
 tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg 4020
 ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact 4080
 ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gtccttctag tgtagccgta gttaggccac 4140
 cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaatacct gttaccagtg 4200
 gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg 4260
 gataaggcgc agcgytcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga 4320
 acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagcatt gagaaagcgc cacgcttccc 4380
 gaaggagaaa aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg toggaacag agagcgcacg 4440
 agggagcttc caggggggaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt togccacctc 4500
 tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc cgagcctatg gaaaaacgcc 4560
 agcaacggcg cctttttaog gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt 4620
 cctgcgttat ccctgatcc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc 4680
 gctcgcgcga gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc 4740
 ccaatacgca aaccgcctct ccccgcgctg tggccgatcc attaatgcag ctggcacgac 4800

ES 2 609 359 T3

aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttacctcact 4860
 cattagggcac cccaggcttt acactttatg cttccggctc ctatgttgtg tggaattgtg 4920
 agcggataac aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa gctcgggaatt 4980
 aaccctcact aaagggaca aaagctggct agt 5013

<210> 16
 <211> 5971
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> vector pYD1dXFc

10

<400> 16

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgctg 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctccgccgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggccccac aaacctcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgtgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcactat agggaaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg ttttcaata ttttctgta ttgcttcagt ttagcacag gaactgacaa 600
 ctatatgoga gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
 ctactatfff ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aatcagtaa 720
 cgtttgtcag taattgcggt totcaccct caacaactag caaaggcagc cccataaaca 780
 cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggtt 840
 ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
 acgatgacga taaggtacca ggatccgcta gcaccaaggg cccagcgtg ttcctctggt 960
 cccccagctc caagagcacc tccggcgga ccgccgccct gggctgcctg gtgaaggatt 1020
 acttcccaga gcccgtagc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca 1080
 cctttccgc cgtgctgcag tccagcggcc tgtactccct gagcagcgtg gtgaccgtgc 1140
 ccagcagcag cctgggcacc cagacctaca tctgcaatgt gaaccacaag cccagcaata 1200
 ccaaggtgga taagaaggtg gagcccaaga gcagcgacaa gacacacag tgtccccat 1260
 gtcccccccc tgagctgctg ggcggccctt ccgtgttccct gttccctccc aagccaaagg 1320

ES 2 609 359 T3

acaccctgat gatctcccgg acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac gtgagccacg 1380
 aggacccaga ggtgaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaga 1440
 ccaagcctag agaggagcag tacaacagca cctaccgcgt ggtgagcgtg ctgaccgtgc 1500
 tgcaccagga ttggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtgagcaac aaggccctgc 1560
 ctgccccat cgagaagacc atctccaagg ccaagggcca gcctcgagaa ccacaggtgt 1620
 acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg 1680
 tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga 1740
 acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca 1800
 agctcacctg ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc 1860
 atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatgag 1920
 cggcgcctcg atcgagtcta gagggccctt cgaaggtaag cctatcccta accctctcct 1980
 cggctctgat tctacgcgta ccggtcatca tcaccatcac cattgagttt aaaccgcctg 2040
 atctgataac aacagtgtag atgtaacaaa atcgactttg tcccactgt acttttagct 2100
 cgtacaaaat acaatatact tttcatttct ccgtaacaa catgttttcc catgtaatat 2160
 ccttttctat ttttogttcc gttaccaact ttacacatac tttatatagc tattcacttc 2220
 tatacactaa aaaactaaga caattttaat tttgctgcct gccatatttc aatttgttat 2280
 aaattcctat aatttatcct attagtagct aaaaaagat gaatgtgaat cgaatcctaa 2340
 gagaattggg caagtgcaca aacaatactt aaataaatac tactcagtaa taacctattt 2400
 cttagcattt ttgacgaaat ttgctatttt gttagagtct tttacaccat ttgtctccac 2460
 acctccgctt acatcaacac caataacgcc atttaatcta agcgcacac caacattttc 2520
 tggcgtcagt ccaccagcta acataaaatg taagctctcg gggctctctt gccttccaac 2580
 ccagtcagaa atcgagttcc aatccaaaag ttcacctgtc ccacctgctt ctgaatcaaa 2640
 caaggaata aacgaatgag gtttctgtga agctgcactg agtagtatgt tgcagctttt 2700
 tggaaatacg agtcttttaa taactggcaa accgaggaac tcttggtatt cttgccacga 2760
 ctcatctccg tgcagttgga cgatatcaat gccgtaatca ttgaccagag caaaaacac 2820
 ctcttaggt tgattacgaa acacgccaac caagtatttc ggagtgcctg aactattttt 2880
 atatgctttt acaagacttg aaattttcct tgcaataacc gggtaattg ttctctttct 2940
 attgggcaca catataatac ccagcaagtc agcatcgaa tctagagcac attctgcggc 3000
 ctctgtgctc tgcaagccgc aaactttcac caatggacca gaactacctg tgaaattaat 3060
 aacagacata ctccaagctg cctttgtgtg cttaatcaog tatactcagc tgctcaatag 3120
 tcaccaatgc cctccctctt ggccctctcc ttttctttt togaccgaat ttcttgaaga 3180
 cgaaagggcc tcgtgatacg cctattttta taggttaatg tcatgataat aatggtttct 3240

ES 2 609 359 T3

taggacggat cgcttgccctg taacttacac ggcctcgtg tcttttaatg atggaataat 3300
ttgggaattt actctgtgtt tatttatttt tatgttttgt atttggattt tagaaagtaa 3360
ataaagaagg tagaagagtt acggaatgaa gaaaaaaaaa taacaaaagg tttaaaaaat 3420
ttcaacaaaa agcgtacttt acatatatat ttattagaca agaaaagcag attaaataga 3480
tatacattcg attaacgata agtaaaatgt aaaatcacag gattttcgtg tgtggtcttc 3540
tacacagaca agatgaaaca attcggcatt aatacctgag agcaggaaga gcaagataaa 3600
aggtagtatt tgttggcgat ccccctagag tcttttacat cttcggaaaa caaaaactat 3660
tttttcttta atttcttttt ttactttcta tttttaattt atatatttat attaaaaaat 3720
ttaaattata attattttta tagcacgtga tgaaaaggac ccagggtggca cttttcgggg 3780
aaatgtgctg ggaaccoccta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata tgtatccgct 3840
catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatttga aaaaggaaga gtatgagtat 3900
tcaacatttc cgtgtcgcoc ttattccctt ttttgcggca ttttgccttc ctgtttttgc 3960
tcaccagaa acgctggtga aagtaaaaga tgctgaagat cagttgggtg cacgagtggg 4020
ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc ccgaagaacg 4080
ttttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat cccgtgttga 4140
cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgcat aactattct cagaatgact tggttgagta 4200
ctcaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcagtgc 4260
tgccataacc atgagtgata aactgccc caacttactt ctgacaacga tcggaggacc 4320
gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc ttgatcgttg 4380
ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccacga tgctgtagc 4440
aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta cttactctag cttcccggca 4500
acaattaata gactggatgg aggcggataa agttgcagga ccacttctgc gctcggccct 4560
tccggctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggg gagcgtgggt ctcgcggtat 4620
cattgcagca ctggggccag atggtaagcc ctcccgtatc gtagttatct acacgacggg 4680
cagtcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgct gagataggtg octcactgat 4740
taagcattgg taactgtcag accaagttta ctcatatata ctttagattg atttaaaact 4800
tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgacccaaat 4860
cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc 4920
ttcttgagat cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct 4980
accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg 5040
cttcagcaga ggcagatac caaatactgt ccttctagtg tagccgtagt taggccacca 5100

ES 2 609 359 T3

cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgcctctg ctaatcctgt taccagtggc 5160
 tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttgac tcaagacgat agttaccgga 5220
 taaggcgcag cggtcgggct gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac 5280
 gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagcattga gaaagcgcca cgcttcccga 5340
 agggagaaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag 5400
 ggagcttcca ggggggaacg cctgggtatct ttatagtccct gtcgggtttc gccacctctg 5460
 acttgagcgt cgatTTTTGT gatgctcgtc aggggggccc agcctatgga aaaacgccag 5520
 caacgcggcc ttttacgggt tcttggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc 5580
 tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagtgag ctgataccgc 5640
 tcgcgcgagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg aagagcgccc 5700
 aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcgctt gccgattcat taatgcagct ggcacgacag 5760
 gtttcccgac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt acctcactca 5820
 ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcct atgttgtgtg gaattgtgag 5880
 cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc tcggaattaa 5940
 ccctcactaa agggaacaaa agctggctag t 5971

<210> 17
 <211> 5657
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> pYD1CH12

10

<400> 17

acggattaga agccgcgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
 cctcgtcttc accggtcgcy ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgocgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgca 240
 ttagtTTTTT agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttccatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg tttttcaata tttttctgta ttgcttcagt tttagcacag gaactgacaa 600
 ctatatgcca gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
 ctactatttt ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aatcagtaa 720

ES 2 609 359 T3

cgtttgcag taattgcggt tctcaccct caacaactag caaaggcagc ccataaaca 780
 cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggtt 840
 ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
 acgatgacga taaggtacca ggatccgcta gcaccaaggg cccagcgtg ttccctctgg 960
 cccccagctc caagagcacc tccggcggca ccgccgccct gggctgcctg gtgaaggatt 1020
 acttcccaga gcccgtagcc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca 1080
 ctttcccgc cgtgctgcag tccagcggcc tgtactccct gagcagcgtg gtgaccgtgc 1140
 ccagcagcag cctgggcacc cagacctaca tctgcaatgt gaaccacaag cccagcaata 1200
 ccaaggtgga taagaaggtg gagcccaaga gcagcgacaa gacacacacg tgtccccat 1260
 gtcccgcgcc tgagctgctg gggggccctt ccgtgttccct gttccctccc aagccaaagg 1320
 acaccctgat gatctcccg acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac gtgagccacg 1380
 aggaccaga ggtgaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaaga 1440
 ccaagcctag agaggagcag tacaacagca cctaccgctg ggtgagcgtg ctgaccgtgc 1500
 tgcaccagga ttggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtgagcaac aaggccctgc 1560
 ctgccccat cgagaagacc atctccaagg ccaagggcca gcctcgaggc cgctcgatcg 1620
 agtctagagg gcccttoga ggtaagccta tcctaacc tctcctcgggt ctcgattcta 1680
 cgcgtaccgg tcatcatcac catcaccatt gagttaaac ccgctgatct gataacaaca 1740
 gtgtagatgt aacaaaatcg actttgttcc cactgtactt ttagctcgtc caaaatacaa 1800
 tatacttttc atttctcgt aaacaacatg ttttcccatg taatatcctt ttctatTTTT 1860
 cgttccgta ccaactttac acatacttta tatagctatt cacttctata cactaaaaaa 1920
 ctaagacaat tttatTTTg ctgcctgcc aTTTTcaatt tgttataaat tcctataatt 1980
 tatcctatta gtagctaaaa aaagatgaat gtgaatcgaa tcctaagaga attgggcaag 2040
 tgcacaaaaa atacttaaat aaatactact cagtaataac ctatttctta gcatttttga 2100
 cgaaatttgc tattttgta gagtctttta caccatttgt ctccacacct ccgcttacat 2160
 caacaccaat aacgccattt aatctaagcg catcaccaac attttctggc gtcagtccac 2220
 cagctaacat aaaatgtaag ctctcggggc tctcttgcc tccaaccag tcagaaatcg 2280
 agttccaatc caaaagtca cctgtcccac ctgcttctga atcaacaag ggaataaacg 2340
 aatgaggtt ctgtgaagct gcactgagta gtatgttga gtcttttga aatacgagtc 2400
 ttttaataac tggcaaacgg aggaactctt ggtattcttg ccacgactca tctccgtgca 2460
 gttggacgat atcaatgccg taatcattga ccagagccaa aacatcctcc ttaggttgat 2520
 tacgaaacac gccaaccaag tatttcggag tgccgtaact atttttatat gcttttacia 2580

ES 2 609 359 T3

gacttgaaat tttccttgca ataaccgggt caattgttct ctttctattg ggcacacata 2640
taatacccag caagtcagca tcggaatcta gagcacattc tgcggcctct gtgctctgca 2700
agccgcaaac tttcaccaat ggaccagaac tacctgtgaa attaataaca gacatactcc 2760
aagctgcctt tgtgtgctta atcacgtata ctcacgtgct caatagtcac caatgccttc 2820
cctcttgcc ctctcctttt cttttttcga ccgaatttct tgaagacgaa agggcctcgt 2880
gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg gtttcttagg acggatcgtc 2940
tgcctgtaac ttacacgcgc ctcgatctt ttaatgatgg aataatttgg gaatttactc 3000
tgtgtttatt tatttttatg ttttgtatth ggattttaga aagtaataa agaaggtaga 3060
agagttacgg aatgaagaaa aaaaaataaa caaaggttta aaaaatttca acaaaaagcg 3120
tactttacat atatatttat tagacaagaa aagcagatta aatagatata cattcgatta 3180
acgataagta aatgtaaaa tcacaggatt ttcgtgtgtg gtcttctaca cagacaagat 3240
gaaacaattc ggcattaata cctgagagca ggaagagcaa gataaaaggt agtatttght 3300
ggcgatcccc ctagagtctt ttacatcttc ggaaaacaaa aactattttt tctttaattt 3360
ctttttttac tttctatttt taatttatat atttatatta aaaaatttaa attataatta 3420
tttttatagc acgtgatgaa aaggaccag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgaggaa 3480
cccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac 3540
cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg 3600
tcgcccctat tccctttttt gcggcatttt gccttctgt ttttgctcac ccagaaacgc 3660
tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg 3720
atctcaacag cggttaagatc cttgagagtt ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga 3780
gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccg tgttgacgcc gggcaagagc 3840
aactcggctc ccgcatacac tattctcaga atgacttggg tgagtactca ccagtcacag 3900
aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg cagtgctgcc ataaccatga 3960
gtgataaacac tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg 4020
cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctgccttga tcggtgggaa cgggagctga 4080
atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt 4140
tgcgcaaacct attaaactggc gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact 4200
ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggg 4260
ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg cggtatcatt gcagcactgg 4320
ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacgggcagt caggcaacta 4380
tggatgaacg aaatagacag atcgtgaga taggtgcctc actgattaag cattggtaac 4440
tgtcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta 4500

ES 2 609 359 T3

```

aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt 4560
tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt 4620
tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt 4680
gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc 4740
agataccaaa tactgtcctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg 4800
tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa tcctgttacc agtggctgct gccagtggcg 4860
ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggg 4920
cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac 4980
tgagatacct acagcgtgag cattgagaaa gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg 5040
acaggtatcc ggtaagcggc agggctcggaa caggagagcg cacgaggag cttccagggg 5100
ggaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat 5160
ttttgtgatg ctcgtcaggg gggccgagcc tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt 5220
tacggttcct ggccttttgc tggccttttg ctacatggt ctttctgcg ttatcccctg 5280
attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctcgc gcgagccgaa 5340
cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcgggaaga gcgcccaata cgcaaaccgc 5400
ctctccccgc gcggttgccg attcattaat gcagctggca cgacaggttt cccgactgga 5460
aagcgggcag tgagcgcAAC gcaattaatg tgagttacct cactcattag gcaccccagg 5520
ctttacactt tatgcttccg gctcctatgt tgtgtggaat tgtgagcggg taacaatttc 5580
acacaggaaa cagctatgac catgattacg ccaagctcgg aattaaccct cactaaaggg 5640
aacaaaagct ggctagt 5657

```

- 5 <210> 18
- <211> 738
- <212> ADN
- <213> artificial

- 10 <220>
- <223> Fcab01

- 15 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (449)..(450)
- <223> n es a, c, g o t

- 20 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (452)..(453)
- <223> n es a, c, g o t

- 25 <222> (455)..(456)
- <223> n es a, c, g o t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (611)..(612)

<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
5 <222> (614)..(615)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
10 <222> (617)..(618)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
15 <222> (620)..(621)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
20 <222> (623)..(624)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
25 <222> (626)..(627)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
30 <222> (629)..(630)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
35 <222> (632)..(633)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
40 <222> (641)..(642)
<223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
45 <222> (644)..(645)
<223> n es a, c, g o t

<400> 18

ES 2 609 359 T3

ggcccagccg gccatggccg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gccaccctg 60
cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc tccccccaa aacccaagga 120
caccctcatg atctcccga ccctgaggt cacatgctg gtggtggacg tgagccacga 180
agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac 240
aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct 300
gcaccaggac tggtgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc 360
agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag cctcgagaac cacaggtgta 420
caccctgccc ccattcccgg atgaactggn bnnbnnbcag gtcagcctga cctgcctggt 480
caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa 540
caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa 600
gctcaccgtg nbnbnbnbn nbnbnbnbn bnnbaggtgg nbnbnbggga acgtcttctc 660
atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc 720
tccgggtaaa gcggccgc 738

<210> 19
<211> 738
<212> ADN
<213> artificial

5

<220>
<223> Fcab02

10

<400> 19

ggcccagccg gccatggccg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gccaccctg 60
cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc tccccccaa aacccaagga 120
caccctcatg atctcccga ccctgaggt cacatgctg gtggtggacg tgagccacga 180
agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac 240
aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct 300
gcaccaggac tggtgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc 360
agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag cctcgagaac cacaggtgta 420
caccctgccc ccattcccgg atgagctgkm tkmtkmtcag gtgagcctga cctgcctggt 480
caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa 540
caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa 600
gctcaccgtg kmtkmtkmtk mtkmtkmtkm tkmtaggtgg kmtkmtggga acgtcttctc 660
atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc 720
tccgggtaaa gcggccgc 738

15 <210> 20

<211> 750
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> Fcab03

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (449)..(450)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (452)..(453)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (455)..(456)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 25 <222> (617)..(618)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 30 <222> (620)..(621)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (623)..(624)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (626)..(627)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 45 <222> (629)..(630)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (632)..(633)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 55 <222> (635)..(636)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 60 <222> (638)..(639)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 65 <222> (653)..(654)
 <223> n es a, c, g o t

ES 2 609 359 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (656)..(657)
 5 <223> n es a, c, g o t

 <400> 20

 ggcccagccg gccatggccg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gcccaaccgtg 60
 cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aaccoaagga 120
 caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgctg gtggtggacg tgagccacga 180
 agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaaagac 240
 aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct 300
 gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc 360
 agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag cctcgagaac cacaggtgta 420
 caccctgcc cctcccggg atgagctggn bnnbnnbcag gtcagcctga cctgcctggt 480
 caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa 540
 caactacaag accaagcctc cgtgctgga ctccgacggc tcctttcttc tctacagcaa 600
 gtcaccctg ggtctnbn nbnbnbnbn bnnbnbnbn agcggcaggt ggnbnbnbgg 660
 gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag 720
 cctctccctg tctccgggta aagcggccgc 750

10 <210> 21
 <211> 750
 <212> ADN
 <213> artificial

15 <220>
 <223> Fcab04

20 <400> 21

ES 2 609 359 T3

```

ggcccagccg gccatggccg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gccccaccgtg      60
cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcttc ttcccccaa aaccaagga      120
caccctcatg atctcccgga ccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga      180
agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac      240
aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct      300
gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc      360
agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag cctcgagaac cacaggtgta      420
caccctgcc ccactcggg atgagctgkm tkmtkmtcag gtcagcctga cctgcctggt      480
caaaggcttc tatcccgagc acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa      540
caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa      600
gctcaccgtg ggttctkmtk mtkmtkmtkm tkmtkmtkmt agcggcaggt ggtkmtkmtgg      660
gaaagtcttc tcagtctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag      720
cctctccctg tctccgggta aagcggccgc                                     750

```

- 5 <210> 22
- <211> 738
- <212> ADN
- <213> artificial

- 10 <220>
- <223> Fcab05

- 15 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (449)..(450)
- <223> n es a, c, g o t

- 20 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (452)..(453)
- <223> n es a, c, g o t

- 25 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (455)..(456)
- <223> n es a, c, g o t

- 30 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (611)..(612)
- <223> n es a, c, g o t

- 35 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (614)..(615)
- <223> n es a, c, g o t

- 40 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (617)..(618)
- <223> n es a, c, g o t

- <220>
- <221> misc_feature

ES 2 609 359 T3

<222> (620)..(621)
 <223> n es a, c, g o t

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (623)..(624)
 <223> n es a, c, g o t

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (626)..(627)
 <223> n es a, c, g o t

15 <220>
 <221> misc_feature

<222> (629)..(630)
 <223> n es a, c, g o t

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (632)..(633)
 <223> n es a, c, g o t

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (641)..(642)
 <223> n es a, c, g o t

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (644)..(645)
 <223> n es a, c, g o t

35 <400> 22

```

ggcccagccg gccatggccg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gccaccgtg      60
cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga     120
caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgctgtg gtggtggacg tgagccacga     180
agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac     240
aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct     300
gcaccaggac tggtgtaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc     360
agccccatc gagaaaacca tctccaagc caaagggcag cctcgagaac cacaggtgta     420
caccctgcc ccatcccggt atgagkmtnn bnnbnnbkmt gtcagcctga cctgcctggt     480
caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa     540
caactacaag accacgcctc ccggtctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa     600
gtcaccgtg nbnbnbnbn nbnbnbnbn bnnbaggtgg nbnbnbggga acgtcttctc     660
atgetccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactaacag cagaagagcc tctccctgtc     720
tccgggtaaa gcggccgc

```

40 <210> 23
 <211> 738
 <212> ADN
 <213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Fcab06

5 <400> 23

```

ggcccagccg gccatggccg agcccaaata ttgtgacaaa actcacacat gccaccctg      60
cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc ttcccccaa aaccoaagga      120
caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga      180
agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaaagac      240
aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct      300
gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc      360

agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag cctcgagaac cacaggtgta      420
caccctgcc ccatcccgga acgagkmtkm tkmtkmtkmt gtcagcctga cctgcctggt      480
caaaggcttc tatcccagcg acatgcctgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa      540
caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tetacagcaa      600
gctcaccgtg kmtkmtkmtk mtkmtkmtkm tkmtaggtgg kmtkmtggga acgtcttctc      660
atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc      720
tccgggtaaa ggggccgc                                     738
    
```

10 <210> 24
<211> 85
<212> ADN
<213> artificial

15 <220>
<223> Cebador para PCR gapch35

<400> 24

```

caacaaggcc ctgctgccc ccatcgagaa gaccatctcc aaggccaagg gccagcctcg      60
agaaccacag gtgtacaccc tgccc                                     85
    
```

20 <210> 25
<211> 99
<212> ADN
<213> artificial

25 <220>
<223> Cebador para PCR gapfcs3

<400> 25

```

gagaccgagg agagggtag ggataggctt accttogaag ggccctctag actcgatcga      60
ggggccgctc atttaccgg agacaggag aggctcttc                                     99
    
```

35 <210> 26
<211> 79
<212> ADN
<213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Cebador Abmut

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(44)
 <223> n es a, c, g o t

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(47)
 <223> n es a, c, g o t

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(50)
 <223> n es a, c, g o t

20 <400> 26

 gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggatgagc tgnnbnnbnn bcaggtcagc 60

 ctgacctgcc tggtaaag 79

25 <210> 27
 <211> 79
 <212> ADN
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Cebador Abmut2LR

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(41)
 <223> n es a, c, g o t

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(44)
 <223> n es a, c, g o t

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(47)
 <223> n es a, c, g o t

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(50)
 <223> n es a, c, g o t

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(53)
 <223> n es a, c, g o t

60 <400> 27

 gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggatgagn nbnnbnnbnn bnnbgtcagc 60

 ctgacctgcc tggtaaag 79

<210> 28
 <211> 79
 <212> ADN
 5 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador Abmut1L

 10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(41)
 <223> n es a, c, g o t

 15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(44)
 <223> n es a, c, g o t

 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(47)
 <223> n es a, c, g o t

 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(50)
 <223> n es a, c, g o t

 30 <400> 28

 gaaccacagg tgtacaccct gcccacatcc cgggatgagn nbnnbnnbnn bcaggtcagc 60
 ctgacctgcc tggcctcaaag 79

 <210> 29
 <211> 79
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador Abmut1R

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(44)
 45 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(47)
 50 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(50)
 55 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(53)
 60 <223> n es a, c, g o t

 <400> 29

ES 2 609 359 T3

gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggatgagc tgnnbnnbnn bnnbgtcagc 60
 ctgacctgcc tggtaaag 79

5 <210> 30
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 30

Leu Asp Asn Ser Gln
 1 5

15 <210> 31
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 31

Tyr Glu Gly Ser Ser
 1 5

25 <210> 32
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 32

Tyr Met Ser Ala Asp
 1 5

35 <210> 33
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

40 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 33

Tyr Arg Arg Gly Asp
 1 5

45 <210> 34
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 5 <400> 34

 Leu Met Ser Arg Gln
 1 5

 <210> 35
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 10

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 15

 <400> 35

 Leu His Leu Ala Gln
 1 5
 20

 <210> 36
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 25

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

 <400> 36
 30

 Tyr Leu Ser Lys Asp
 1 5

 <210> 37
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 35

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 40

 <400> 37

 Tyr Arg Ser Gly Ser
 1 5

 <210> 38
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 45

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 50

 <400> 38

 Leu Arg Asp Gly Gln
 1 5
 55

 <210> 39

ES 2 609 359 T3

<211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 39

Tyr Ser Ala Asn Thr
1 5

10
 <210> 40
 <211> 5
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 20 <400> 40

Tyr Ala Ser Asn Thr
1 5

25 <210> 41
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 41

Tyr Ser Asp Gly Asp
1 5

35 <210> 42
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 42
 45

Tyr Ser Gly Gly Ser
1 5

50 <210> 43
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 55 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 43

ES 2 609 359 T3

Tyr Gly Arg Asp Ser
1 5

5 <210> 44
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 44

Tyr Ala Gly Gly Thr
1 5

15 <210> 45
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 45

Tyr Ser Ser Asp Ser
1 5

25 <210> 46
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 46

Tyr His Ser Gly Ser
1 5

40 <210> 47
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 47

Tyr Leu Thr Asn Ser
1 5

50 <210> 48
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 48
 5
 Tyr Gly Ser Glu Glu
 1 5
 <210> 49
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 10
 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 15
 <400> 49
 Tyr Arg Ser Gly Glu
 1 5
 20
 <210> 50
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 50
 Tyr Gly Thr Asp Asp
 1 5
 30
 <210> 51
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial
 35
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 40
 <400> 51
 Ile Arg Ser Ser Val Gly Ser Arg Arg Trp Trp Ser
 1 5 10
 45
 <210> 52
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial
 50
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 52
 Ala Arg Tyr Ser Pro Arg Met Leu Arg Trp Ala His
 1 5 10
 55
 <210> 53

ES 2 609 359 T3

<211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 53

Ser Arg Arg Asp Ser Ser Leu Leu Arg Trp Ala His
 1 5 10

10

<210> 54
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

15

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

20

<400> 54

Ala Pro Gly Ser Lys Gly Tyr Arg Arg Trp Ala Leu
 1 5 10

25

<210> 55
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

30

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 55

Asp Lys Pro Phe Trp Gly Thr Ser Arg Trp Ser Arg
 1 5 10

35

<210> 56
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

40

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

45

<400> 56

Ser Ile Asn Asp Leu Ile Asn His Arg Trp Pro Tyr
 1 5 10

50

<210> 57
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

55

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 57

ES 2 609 359 T3

Met Trp Gly Ser Arg Asp Tyr Trp Arg Trp Ser His
 1 5 10

5 <210> 58
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 58

Asn Ser Gly Ser Ala Met Met Val Arg Trp Ala His
 1 5 10

15 <210> 59
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 59

Gln Arg Ser Arg Leu Ser Arg Gln Arg Trp Trp Arg
 1 5 10

30 <210> 60
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

35 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 60

Ala Arg Tyr Ser Pro Arg Met Leu Arg Trp Ala His
 1 5 10

40 <210> 61
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 61

Val Ser Arg Tyr Ser Met Thr Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

50 <210> 62
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 62

Val Pro Arg Tyr Ser Arg Ser Met Met Arg Trp Ala His
1 5 10

5

<210> 63
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15

<400> 63

Val Pro Arg Tyr Ser Gln Met Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

20

<210> 64
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

25

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 64

Ile Thr Arg Tyr Ser Arg Gln Met Leu Arg Trp Ala His
1 5 10

30

<210> 65
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

40

<400> 65

Val Pro Arg Tyr Ser Ala Leu Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

45

<210> 66
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

50

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 66

Val Ala Arg His Ser Glu Ala Met Trp Lys Trp Gly His
1 5 10

55

ES 2 609 359 T3

<210> 67
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 67
 10
 Val Gly Arg Tyr Ser Gln Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

 <210> 68
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 20
 <400> 68

 Val Ala Arg Tyr Ser Pro Thr Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

 <210> 69
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 30
 <400> 69

 Val Gly Arg His Ser Pro Thr Met Trp Lys Trp Ala His
 1 5 10
 35

 <210> 70
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 70
 45

 Leu Gly Arg Trp Ser Pro Lys Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

 <210> 71
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 50
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 55
 <400> 71

ES 2 609 359 T3

Val Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Met Arg Trp Ala His
 1 5 10

5 <210> 72
 <211> 5009
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> vector pYD1

<400> 72

```

acggattaga agcogccgag cgggtgacag ccctcogaag gaagactctc ctccgtgogt      60
cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctogcgccgc actgctccga      120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac      180
ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaatataca accataggat gataatgcga      240
ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcogatgatt ttgatctat      300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc      360
ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac      420
ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac      480
gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt      540
tacttcgctg tttttcaata ttttctgtta ttgcttcagt tttagcacag gaactgacaa      600
ctatatgcga gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga      660
ctactatfff ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtfff tgaatattac aaatcagtaa      720
cgtttgtcag taattgcggt tctcaccocf caacaactag caaaggcagc cccataaaca      780
cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggtt      840
ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg      900
acgatgacga taagggtacca ggatccagtg tgggtggaatt ctgcagatat ccagcacagt      960
ggcggccgct cgagtctaga gggcccttcg aaggtaagcc tatccctaac cctctcctcg     1020
gtctcgattc tacgcgtacc ggtcatcacc accatcacca ttgagtttaa acccgcctgat     1080
ctgataacaa cagtgtagat gtaacaaaat cgactttggt cccactgtac ttttagctcg     1140
tacaaaatac aatatacttt tcatttctcc gtaaacaaca tgttttccca tgtaatatcc     1200
  
```

ES 2 609 359 T3

ttttctatTT ttcgTtccgt taccaactTT acacatactt tatatagcta ttcacttcta 1260
 taaactaaaa aactaagaca attTTtaattt tgctgcctgc catatttcaa tttgTttataa 1320
 attcctataa tttatcctat tagtagctaa aaaaagatga atgtgaatcg aatcctaaga 1380
 gaattgggca agtgcacaaa caatacttaa ataaatacta ctcaagtaata acctatttct 1440
 tagcattttt gacgaaattt gctattttgt tagagtcttt tacaccattt gtctccacac 1500
 ctccgcttac atcaacacca ataacgccat ttaatctaag cgcacacca acattttctg 1560
 gcgtcagTcc accagctaac ataaaatgta agctctcggg gctctcttgc cttccaaccc 1620
 agtcagaaat cgagTtccaa tccaaaagTt cacctgtccc acctgcttct gaatcaaaaa 1680
 agggaataaa cgaatgaggt ttctgtgaag ctgcactgag tagtatgttg cagtcttttg 1740
 gaaatagcag tctTTtaata actggcaaac cgaggaactc ttggtattct tgccacgact 1800
 catctccgtg cagTtgagc atacaatgc cgtaacatt gaccagagcc aaaacatcct 1860
 ccttaggtg attacgaaac acgccaacca agtatttctg agtgcctgaa ctatttttat 1920
 atgcttttac aagacttgaa attttcctg caataaccgg gtcaattgtt ctctttctat 1980
 tgggcacaca tataataccc agcaagtcag catcggaatc tagagcacat tctcggcct 2040
 ctgtgctctg caagccgcaa actttcacca atggaccaga actacctgtg aaattaataa 2100
 cagacatact ccaagctgcc tttgtgtgct taatcacgta tactcacgtg ctcaatagtc 2160
 accaatgccc tccctcttg ccctctcctt ttcttttttc gaccgaattt ctggaagacg 2220
 aaagggcctc gtgatacgc tatttttata ggTtaatgtc atgataataa tggTttctta 2280
 ggacggatcg cttgcctgta acttacacgc gcctcgtatc ttttaatgat ggaataattt 2340
 gggaaTttac tctgtgttta tttattttta tgtttgtat ttggatttta gaaagtaaat 2400
 aaagaagTta gaagagTtac ggaatgaaga aaaaaaata aacaaaggtt taaaaattt 2460
 caacaaaaag cgtactttac atatatattt attagacaag aaaagcagat taaatagata 2520
 tacattcgat taacgataag taaaatgtaa aatcacagga tttcgtgtg tggTcttcta 2580
 cacagacaag atgaaacaat tcggcattaa tacctgagag caggaagagc aagataaaaag 2640
 gtagtatttg ttggcgatcc ccctagagtc tttacatct tcggaaaaca aaaactattt 2700
 tttctttaat ttctttttt actttctatt ttttaattat atatttatat taaaaattt 2760
 aaattataat tatttttata gcaagtgatg aaaaggacc aggtggcact tttcggggaa 2820
 atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca 2880
 tgagacaata acctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 2940
 aacatttccg tgtcgcctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttct gttttgtc 3000
 acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 3060

ES 2 609 359 T3

acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 3120
 ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtggtgacg 3180
 ccgggcaaga gcaactcggg cgccgcatac actatttctca gaatgacttg gttgagtact 3240
 caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg 3300
 ccataacat gagtgataac actgcgcca acttaacttct gacaacgatc ggaggaccga 3360
 aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 3420
 aaccggagct gaatgaagcc ataccaaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 3480
 tggcaacaac gttgcgcaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 3540
 aattaataga ctggatggag gcgataaaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 3600
 cggctggetg gtttattgct gataaatctg gagccgggta gcgtgggtct cgcggtatca 3660
 ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggca 3720
 gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgcgtga gataggtgcc tcaactgatta 3780
 agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaaacttc 3840
 atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 3900
 cttaacgtga gttttcgctt cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatcct 3960
 cttgagatcc ttttttctg cgcgtaactc gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac 4020
 cagcgggtgg ttgtttgccc gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct 4080
 tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 4140
 tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 4200
 ctgccagtg gataaagtcg tgtcttaccg ggttgactc aagacgatag ttaccggata 4260
 aggcgcagcg gtcgggctga acggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 4320
 cctacacoga actgagatac ctacagcgtg agcattgaga aagcgccacg cttccogaag 4380
 ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaaagc gcagggctgg aacaggagag cgcacgaggg 4440
 agcttccagg ggggaacgcc tggatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 4500
 ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggccgag cctatggaaa aacgccagca 4560
 acgcggcctt tttacggctt ctggccttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 4620
 cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc 4680
 gccgcagccg aacgaccgag cgcagcagat cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa 4740
 tacgaaaacc gcctctcccc ggcggttggc cgattcatta atgcagctgg caogacaggt 4800
 ttcccactg gaaagcgggc agtgagcgc aocgaattaa tgtgagttac ctcaactcatt 4860
 aggcacccca ggctttacac tttatgcttc cggctcctat gttgtgtgga attgtgagcg 4920
 gataacaatt tcacacagga aacagctatg accatgatta cgccaagctc ggaattaacc 4980

ctcactaaag ggaacaaaag ctggctagt

5009

5 <210> 73
 <211> 5009
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> vector modificado pYD1Nhe
 <400> 73

```

acggattaga agccgccgag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtgct 60
cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgccgc actgctccga 120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
tacttcgctg tttttcaata ttttctgtta ttgcttcagt gctagcacag gaactgacaa 600
ctatatgcga gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
ctactatfff ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aatcagtaa 720
cgtttgtcag taattgcggt tctcaccct caacaactag caaaggcagc cccataaaca 780
cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggt 840
ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
acgatgacga taaggtacca ggatccagtg tgggtgaatt ctgcagatat ccagcacagt 960
ggcggccgct cgagtctaga gggcocttcg aaggtaagcc tatccctaac cctctcctcg 1020
gtctcgattc tacgcgtacc ggtcatcatc accatcacca ttgagtttaa acccgctgat 1080
ctgataacaa cagtgtagat gtaacaaaat cgactttggt cccactgtac ttttagctcg 1140
tacaaaatac aatatacttt tcatttctcc gtaacaaca tgttttccca tgtaatatcc 1200
ttttctatff ttogttccgt taccaacttt acacatactt tatatagcta ttcacttcta 1260
tacactaaaa aactaagaca attttaatff tgctgcctgc catatttcaa tttgttataa 1320
attcctataa tttatcctat tagtagctaa aaaaagatga atgtgaatcg aatcctaaga 1380
gaattgggca agtgcacaaa caatacttaa ataaatacta ctcagtaata acctatffct 1440
tagcattfff gacgaaatff gctatffftg tagagctfff tacaccatff gtctccacac 1500
    
```

ES 2 609 359 T3

ctccgcttac atcaacacca ataacgccat ttaatctaag cgcacacca acattttctg 1560
 gcgtcagtc accagctaac ataaaatgta agctctcggg gctctcttgc cttccaaccc 1620
 agtcagaaat cgagttccaa tccaaaagtt cacctgtccc acctgcttct gaatcaaca 1680
 aggaataaa cgaatgaggt ttctgtgaag ctgcactgag tagtatgttg cagtcttttg 1740
 gaaatacagag tcttttaata actggcaaac cgaggaactc ttggtattct tgccacgact 1800
 catctccgtg cagttggacg atatcaatgc cgtaatcatt gaccagagcc aaaacatcct 1860
 ccttaggttg attacgaaac acgccaacca agtatttcgg agtgcctgaa ctatttttat 1920
 atgcttttac aagacttgaa attttccttg caataaccgg gtcaattggt ctctttctat 1980
 tgggcacaca tataataccc agcaagttag catcggaatc tagagcacat tctgcgccct 2040
 ctgtgctctg caagccgcaa actttcacca atggaccaga actacctgtg aaattaataa 2100
 cagacatact ccaagctgcc tttgtgtgct taatcacgta tactcacgtg ctcaatagtc 2160
 accaatgcc tccctcttgg cctctcctt ttcttttttc gaccgaattt cttgaagacg 2220
 aaagggcctc gtgatacgc tatttttata ggtaaatgtc atgataataa tggtttctta 2280
 ggacggatcg cttgcctgta acttacacgc gcctcgtatc ttttaatgat ggaataattt 2340
 ggaattttac tctgtgttta tttattttta tgttttgtat ttggatttta gaaagtaa 2400
 aaagaaggta gaagagttac ggaatgaaga aaaaaaata aacaaaggtt taaaaaattt 2460
 caacaaaaag cgtactttac atatatattt attagacaag aaaagcagat taaatagata 2520
 tacattcgat taacgataag taaaatgtaa aatcacagga tttctgtgtg tggctctcta 2580
 cacagacaag atgaaacaat tcggcattaa tacctgagag caggaagagc aagataaaag 2640
 gtagtatttg ttggcgatcc ccttagagtc ttttacatct tcggaaaaca aaaactattt 2700
 tttctttaat ttcttttttt actttctatt ttaattttat atatttatat taaaaaattt 2760
 aaattataat tatttttata gcacgtgatg aaaaggacc aggtggcaact tttcggggaa 2820
 atgtgcgagg aaccctatt tgtttatttt tctaaatata ttcaaatatg tatccgctca 2880
 tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 2940
 aacatttcg tgtcgcctt attcctttt ttgcggcatt ttgccttct gtttttctc 3000
 acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 3060
 acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag tttcgcctc gaagaacgtt 3120
 ttccaatgat gagcactttt aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtgttgacg 3180
 ccggcaaga gcaactcggc cgcgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 3240
 caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtc 3300
 ccataacat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga 3360
 aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 3420

ES 2 609 359 T3

aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacy acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 3480
 tggcaacaac gttgocgcaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 3540
 aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 3600
 cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccgggtga gcgtgggtct cgcggtatca 3660
 ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggca 3720
 gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgcctga gataggtgcc tcaactgatta 3780
 agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 3840
 atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 3900
 cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt 3960
 cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac 4020
 cagcgggtgg ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct 4080
 tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc ttctagtgtg gccgtagtta gcccaccact 4140
 tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 4200
 ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata 4260
 aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 4320
 cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agcattgaga aagcgcaccg cttcccgaag 4380
 ggagaaagc ggacaggtat ccggtaaagc gcagggctcg aacaggagag cgcacgaggg 4440
 agcttccagg ggggaacgcc tggatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 4500
 ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggccgag cctatggaaa aacgccagca 4560
 acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 4620
 cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc 4680
 gccgcagccg aacgaccgag cgcagcaggt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcctca 4740
 tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgctggc cgattcatta atgcagctgg cacgacaggt 4800
 ttcccgactg gaaagcgggc agtgagcga acgcaattaa tgtgagttac ctcaactatt 4860
 aggcacccca ggctttacac tttatgcttc cggctcctat gttgtgtgga attgtgagcg 4920
 gataacaatt tcacacagga aacagctatg accatgatta cgccaagctc ggaattaacc 4980
 ctactaaag ggaacaaaag ctggctagt 5009

<210> 74
 <211> 4605
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Vector pYD1lnk

10

<400> 74

ES 2 609 359 T3

acggattaga agccgcccag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctccgcccgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata cttagctttha tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtTTTTT agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcaactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg ttttcaata ttttctgtha ttgcttcagt gctagccgct ggggccatgg 600
 ttactgattg gcgcgccgga tccttcagac tctgcagaat tcggccgcgt acttaattaa 660
 gtttaaaccg gctgatctga taacaacagt gtgatgtaa caaaatcgac tttgttccca 720
 ctgtactttt agctcgtaca aaatacaata tacttttcat ttctccgtaa acaacatggt 780
 ttcccattga atatcctttt ctatttttctg ttccggtacc aactttacac atactttata 840
 tagctattca cttctataca ctaaaaaact aagacaattt taattttgct gcctgccata 900
 tttcaatttg ttataaattc ctataattta tcctattagt agctaaaaaa agatgaatgt 960
 gaatcgaatc ctaagagaat tgggcaagtg cacaacaat acttaataa atactactca 1020
 gtaataacct atttcttagc atttttgacg aaatttgcta ttttgthaga gtcttttaca 1080
 ccatttgtct ccacacctcc gcttacatca acaccaataa cgccatttaa tctaagcgca 1140
 tcaccaacat tttctggcgt cagtcacca gctaacataa aatgtaagct ctccgggctc 1200
 tcttgccctc caaccagtc agaaatcgag ttccaatcca aaagttcacc tgtcccacct 1260
 gcttctgaat caaacaaggg aataaacgaa tgaggtttct gtgaagctgc actgagtagt 1320
 atgttgcaat cttttgaaa tacgagctct ttaataactg gcaaaccgag gaactcttgg 1380
 tattcttgcc acgactcatc tccgtgcagt tggacgatat caatgccgta atcattgacc 1440
 agagccaaaa catcctcctt aggttgatta cgaaacacgc caaccaagta tttcggagtg 1500
 cctgaactat ttttatatgc ttttacaaga cttgaaattt tccttgcaat aaccgggtca 1560
 attgttctct ttctattggg cacacatata ataccagca agtcagcatc ggaatctaga 1620
 gcacattctg cggcctctgt gctctgcaag ccgcaaactt tcaccaatgg accagaacta 1680
 cctgtgaaat taataacaga catactccaa gctgcctttg tgtgcttaat cacgtatact 1740
 cacgtgctca atagtcacca atgccctccc tcttggccct ctcttttct ttttctgacc 1800
 gaatttcttg aagacgaaag ggctcgtga tacgcctatt tttataggtt aatgtcatga 1860

ES 2 609 359 T3

taataatggt ttcttaggac ggatcgcttg cctgtaactt acacgcgcct cgtatctttt 1920
 aatgatggaa taatttggga atttactctg tgtttattta tttttatggt ttgtatttgg 1980
 attttagaaa gtaaataaag aaggtagaag agttacggaa tgaagaaaaa aaaataaaca 2040
 aaggtttaaa aaatttcaac aaaaagcgta ctttacatat atatttatta gacaagaaaa 2100
 gcagattaaa tagatataca ttcgattaac gataagtaaa atgtaaaatc acaggatttt 2160
 cgtgtgtggt cttctacaca gacaagatga aacaattcgg cattaatacc tgagagcagg 2220
 aagagcaaga taaaaggtag tatttgttgg cgatccccct agagtctttt acatcttcgg 2280
 aaaacaaaaa ctattttttc ttttaattct ttttttactt tctattttta atttatatat 2340
 ttatattaaa aaatttaaat tataattatt tttatagcac gtgatgaaaa ggaccagggt 2400
 ggcacttttc ggggaaatgt gcgcggaacc cctatttgtt tatttttcta aatacattca 2460
 aatatgtatc cgctcatgag acaataaccc tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg 2520
 aagagtatga gtattcaaca tttccgtgtc gcccttattc ccttttttgc ggcattttgc 2580
 cttcctgttt ttgctcacc agaaacgctg gtgaaagtaa aagatgctga agatcagttg 2640
 ggtgcacgag tgggttacat cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct tgagagtttt 2700
 cgccccgaag aacgttttcc aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg tggcgcggtg 2760
 ttatcccgtg ttgacgccgg gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat 2820
 gacttgggtg agtactcacc agtcacagaa aagcatctta cggatggcat gacagtaaga 2880
 gaattatgca gtgctgccat aaccatgagt gataaacctg cggccaactt acttctgaca 2940
 acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct tttttgcaca acatggggga tcatgtaact 3000
 cgccttgatc gttggaacc ggagctgaat gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc 3060
 acgatgcctg tagcaatggc aacaacgttg cgcaaaactat taactggcga actacttact 3120
 ctagcttccc ggcaacaatt aatagactgg atggagggcg ataaagtgc aggaccactt 3180
 ctgcgctcgg cccttcgggc tggctggttt attgctgata aatctggagc cggtgagcgt 3240
 gggctctcgc gtatcattgc agcactgggg ccagatggta agccctcccg tatcgtagtt 3300
 atctacacga cgggcagtca ggcaactatg gatgaaocga atagacagat cgctgagata 3360
 ggtgcctcac tgattaagca ttgtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag 3420
 attgatttaa aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat 3480
 ctcatgacca aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa 3540
 aagatcaaag gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaaa 3600
 aaaaaaccac cgctaccagc ggtggtttgt ttgcgggatc aagagctacc aactcttttt 3660
 ccgaaggtaa ctggcttcag cagagcgag ataccaata ctgtccttct agtgtagccg 3720

ES 2 609 359 T3

tagttaggcc accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaate 3780
ctgttaccag tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga 3840
cgatagttac cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc 3900
agcttgagc gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagca ttgagaaagc 3960
gccacgcttc ccgaaggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaaca 4020
ggagagcgcga cgaggagct tccagggggg aacgcctggg atctttatag tcctgtcggg 4080
tttcgccacc tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gccgagccta 4140
tggaaaaacg ccagcaacgc gcccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct 4200
cacatgttct ttctcgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcttttgag 4260
tgagctgata ccgctcgcg cagccgaacg accgagcgcga gcgagtcagt gagcggaggaa 4320
gcggaagagc gcccaatacg caaacgcct ctcccgcgc gttggccgat tcattaatgc 4380
agctggcacg acaggtttcc cgactggaaa gcgggcagtg agcgcacgc aattaatgtg 4440
agttacctca ctcataggc accccaggt ttacacttta tgcttcggc tcctatgttg 4500
tgtggaattg tgagcggata acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc 4560
aagctcggaa ttaaccctca ctaaaggaa caaaagctgg ctagt 4605

<210> 75
<211> 4886
<212> ADN
<213> artificial

5

<220>
<223> Vector pYD1mata

10

<400> 75

acggattaga agccgccgag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctccgcgcgc actgctccga 120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
ctggcccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
ttagtTTTTT agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgtatgatt tttgatctat 300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccgatcgc actactagca gctgtaatac 480
gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
tacttcgctg tttttcaata ttttctgtta ttgcttcagt gctagccgct ggggccatgg 600
ttactgattg gcgcgcggga tccgatgtaa caaatcgac tttgttccca ctgtactttt 660
agctcgtaca aaatacaata tacttttcat ttctccgtaa acaacatggt ttcccatgta 720

ES 2 609 359 T3

atatcctttt ctatthtttcg ttccgttacc aactttacac atactttata tagctattca 780
 cttctataca ctaaaaaact aagacaattt taatthttgct gcctgccata tttcaatttg 840
 ttataaattc ctataattta tcctattagt agctaaaaaa agatgaatgt gaatcgaatc 900
 ctaagagaat tgctgcagaa ttccggccgcg tacttaatta agtttaaaccc cgctgatctg 960
 ataacaacag tgtagatgta acaaaatcga ctttgttccc actgtacttt tagctcgtac 1020
 aaaatacaat atactthttca tttctccgta aacaacatgt tttcccatgt aatcctttt 1080
 tctatthttc gttccgttac caactthtaca catactttat atagctattc acttctatac 1140
 actaaaaaac taagacaatt ttaatthttgc tgccctgccat atthtcaattt gttataaatt 1200
 cctataattt atcctattag tagctaaaaa aagatgaatg tgaatcgaat cctaagagaa 1260
 ttgggcaagt gcacaaaaca tacttaaaata aatactactc agtaataacc tathttcttag 1320
 cattthttgac gaaatthtgc tthttgttag agtctthttac accatthtgc tccacacctc 1380
 cgcttacatc aacaccaata acgccattta atctaagcgc atcaccaaca tthttctggcg 1440
 tcagtccacc agctaacata aaatgtaagc tctcggggct ctcttgccct ccaaccagt 1500
 cagaaatcga gttccaatcc aaaagttcac ctgtcccacc tgcttctgaa tcaacaagg 1560
 gaataaacga atgaggthttc tgtgaagctg cactgagtag tatgttgacg tctthttggaa 1620
 atacgagtct tthtaataact ggcaaaccca ggaactcttg gtattcttgc cacgactcat 1680
 ctccgtgcag ttggacgata tcaatgccgt aatcattgac cagagccaaa acatcctcct 1740
 taggttgatt acgaaacacg ccaaccaagt atthcggagt gcctgaacta tthtttatatg 1800
 cthttacaag acttgaaatt ttcccttgcaa taaccgggtc aattgttctc tthctattgg 1860
 gcacacatat aataccacg aagtcagcat cggaatctag agcacattct gggccctctg 1920
 tgctctgcaa gccgcaaac ttcaccaatg gaccagaact acctgtgaaa ttaataacag 1980
 acatactcca agctgccttt gtgtgcttaa tcacgtatac tcacgtgctc aatagtcacc 2040
 aatgccctcc ctcttgcccc tctcctthttc tthtttcgac cgaatthtct gaagacgaaa 2100
 gggcctcgtg atacgcctat tthttatagg taaatgcatg ataataatgg tthcttagga 2160
 cggatcgtct gcctgtaact tacacgcgcc tcgtatcttt taatgatgga ataathttggg 2220
 aathttactct gtgtthtatt atthttatgt tthgtatttg gathtttagaa agtaaaaaa 2280
 gaaggtagaa gagttacgga atgaagaaaa aaaaataaac aaaggtthaa aathttcaa 2340
 caaaaagcgt actthtacata tatathttatt agacaagaaa agcagattaa atagatatac 2400
 attcgattaa cgataagtaa aatgtaaaat cacaggattt tcgtgtgtgg tcttctacac 2460
 agacaagatg aaacaattcg gcattaatac ctgagagcag gaagagcaag ataaaaggta 2520
 gtathttgtg gcgatcccc tagagtcttt tacatcttcg gaaaacaaaa actathtttt 2580

ES 2 609 359 T3

ctttaatttc tttttttact ttctatTTTT aatttatata tttatattaa aaaatttaaa 2640
 ttataattat ttttatagca cgtgatgaaa aggaccocagg tggcactttt cggggaaatg 2700
 tggcgcggaac cccatattgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 2760
 gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 2820
 atttccgtgt cgccttatt ccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 2880
 cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 2940
 tcgaaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 3000
 caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccggt gttgacgccg 3060
 ggcaagagca actcgggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 3120
 cagtcacaga aaagcatcct acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 3180
 taaccatgag tgataaacct gcggccaact tacttctgac aacgatcggga ggaccgaagg 3240
 agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 3300
 cggagctgaa tgaagccata ccaaocgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 3360
 caacaacggt gcgcaaaact ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 3420
 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 3480
 ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 3540
 cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg accggcagtc 3600
 aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 3660
 attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 3720
 ttttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 3780
 aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 3840
 gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 3900
 cggtggtttg tttgcgggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 3960
 gcagagcgcga gataccaaat actgtccttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca 4020
 agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 4080
 ccagtggcga taagtctgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 4140
 cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 4200
 acaccgaact gagataccta cagcgtgagc attgagaaag cggcacgctt cccgaaggga 4260
 gaaaggcggga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 4320
 ttccaggggg gaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 4380
 agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg gggcagcct atggaaaaac gccagcaacg 4440
 cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggcttttgc tcacatgttc tttcctgctg 4500

ES 2 609 359 T3

tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta cgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 4560
 gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 4620
 gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gacaggtttc 4680
 ccgactggaa agcgggcagt gagcgcaacg caattaatgt gagttacctc actcattagg 4740
 caccocaggc tttacacttt atgcttcogc ctocctatggt gtgtggaatt gtgagcggat 4800
 aacaatttca cacaggaac agctatgacc atgattacgc caagctcgga attaaccctc 4860
 actaaaggga acaaaagctg gctagt 4886

<210> 76
 <211> 5801
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Vector pYD1gal

10

<400> 76

acggattaga agccgccgag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtcgt 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgccgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggcccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtTTTTT agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttogctg tttttcaata ttttctgta ttgcttcagt gctagccgt ggggccatgg 600
 ttactgattg gcgcgccgga tccgatgtaa caaatcgac tttgttcca ctgtactttt 660
 agctcgtaca aaatacaata tacttttcat ttctccgtaa acaacatggt ttcccatgta 720
 atatcctttt ctatTTTTcg ttccgttacc aactttacac atactttata tagctattca 780
 cttctataca ctaaaaaact aagacaattt taattttgct gcctgccata tttcaatttg 840
 ttataaattc ctataattta tcctattagt agctaaaaaa agatgaatgt gaatcgaatc 900
 ctaagagaat tgctgcagaa ttcacggatt agaagccgc gagcgggtga cagccctccg 960
 aaggaagact ctctccgtg cgtcctcgtc ttcaccggtc gcgttctga aacgcagatg 1020
 tgctcgcgc cgcactgctc cgaacaataa agattctaca atactagctt ttatggttat 1080
 gaagaggaaa aattggcagt aacctggccc cacaaacctt caaatgaacg aatcaaatta 1140

ES 2 609 359 T3

acaaccatag gatgataatg cgattagttt tttagcctta tttctggggt aattaatcag 1200
 cgaagcgatg atttttgatc tattaacaga tatataaatg caaaaactgc ataaccactt 1260
 taactaatac tttcaacatt ttcggtttgt attacttctt attcaaatgt aataaaagta 1320
 tcaacaaaaa attgttaata tacctctata cttaacgtc aaggagaaaa aaccccggat 1380
 cggactacta gcagctgtaa tacgactcac tatagggaat attaagctaa ttctacttca 1440
 tacattttca attaagatgc agttacttcg ctgtttttca atattttctg ttattgcttc 1500
 agtttttagca caggaactga caactatatg cgagcaaac cctcaccaa ctttagaatc 1560
 gacgcgtagc tctttgtcaa cgactactat tttggccaac ggggaaggcaa tgcaaggagt 1620
 ttttgaatat tacaatcag taacgtttgt cagtaattgc ggttctcacc cctcaacaac 1680
 tagcaaaggc agccccataa acacacagta tgtttttaag cttctgcagg ctagtggagg 1740
 tgggtggttct ggtggtggtg gttctggtgg tgggtggttct gctagcatga ctggtggcca 1800
 gcaaggccta attctgatgc ggccgcacat catcaccatc accattgatt aattaagttt 1860
 aaacccgctg atctgataac aacagtgtag atgtaacaaa atcgactttg tcccactgt 1920
 acttttagct cgtacaaaat acaatatact tttcatttct ccgtaaaaaa catgttttcc 1980
 catgtaatat ccttttctat ttttcgttcc gttaccaact ttacacatac tttatatagc 2040
 tattcacttc tatacactaa aaaactaaga caattttaat tttgctgctt gccatatttc 2100
 aatttggtat aaattcctat aatttatoct attagtagct aaaaaaagat gaatgtgaat 2160
 cgaatcctaa gagaattggg caagtgcaca aacaatactt aaataaatac tactcagtaa 2220
 taacctattt cttagcattt ttgacgaaat ttgctatttt gttagagtct tttacaccat 2280
 ttgtctccac acctccgctt acatcaaac caataacgcc atttaatcta agcgcacac 2340
 caacattttc tggcgtcagt ccaccagcta acataaaaatg taagctctcg gggctctctt 2400
 gccttccaac ccagtcagaa atcgagttcc aatccaaaag ttcacctgtc ccacctgctt 2460
 ctgaatcaaa caagggaata aacgaatgag gtttctgtga agctgcactg agtagtatgt 2520
 tgcagtcttt tggaaatacg agtcttttaa taactggcaa accgaggaac tcttggatt 2580
 cttgccacga ctcatctocg tgcagttgga cgatatcaat gccgtaatca ttgaccagag 2640
 ccaaaacatc ctcccttaggt tgattacgaa acacgccaac caagtatttc ggagtgcctg 2700
 aactattttt atatgctttt acaagacttg aaattttcct tgcaataacc gggccaattg 2760
 ttctctttct attgggcaca catataatac ccagcaagtc agcatcggaa tctagagcac 2820
 attctgoggc ctctgtgctc tgcaagcgc aaactttcac caatggacca gaactacctg 2880
 tgaattaat aacagacata ctccaagctg cctttgtgtg cttaatcacg tatactcacg 2940
 tgctcaatag tcaccaatgc cctccctctt ggcctctcc ttttctttt tcgaccgaat 3000
 ttcttgaaga cgaaagggcc togtgatag cctattttta taggttaatg tcatgataat 3060

ES 2 609 359 T3

aatggtttct taggacggat cgcttgccctg taacttacac ggcgctcgta tcttttaatg 3120
atggaataat ttgggaattt actctgtggt tattttatfff tatgttttgt atttggattt 3180
tagaaagtaa ataaagaagg tagaagagtt acggaatgaa gaaaaaaaaa taaacaaagg 3240
tttaaaaaat ttcaacaaaa agcgtacttt acatatatat ttattagaca agaaaagcag 3300
attaaataga tatacattcg attaacgata agtaaaatgt aaaatcacag gatftttcgtg 3360
tgtggtcttc tacacagaca agatgaaaca attcggcatt aatacctgag agcaggaaga 3420
gcaagataaa aggtagtatt tgttggcgat ccccttagag tcttttacat cttcggaaaa 3480
caaaaactat tttttcttta atttcttttt ttactttcta tttttaattt atatatttat 3540
attaaaaaat ttaaattata attattttta tagcacgtga tgaaaaggac ccaggtggca 3600
cttttcgggg aatgtgccc ggaaccctta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata 3660
tgtatccgct catgagacaa taaccctgat aatgcttca ataatttga aaaaggaaga 3720
gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgcct ttattccctt ttttgccgca ttttgccttc 3780
ctgtttttgc tcaccagaa acgctgggta aagtaaaaga tgctgaagat cagttgggtg 3840
cacgagtggg ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc 3900
ccgaagaacg tttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat 3960
cccggttga cgcgggcaa gagcaactcg gtcgccgat acactattct cagaatgact 4020
tggttgagta ctaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat 4080
tatgcagtgc tgccataacc atgagtgata aactgcggc caacttactt ctgacaacga 4140
tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc 4200
ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaa cgcagagcgt gacaccacga 4260
tgctgtagc aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta ctactctag 4320
cttcccggca acaattaata gactggatgg agcgggataa agttgcagga cacttctgc 4380
gctcggccct tccggtggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt 4440
ctcgggtat cattgcagca ctggggccag atggttaagc ctcccgtatc gtagttatct 4500
acacgacggg cagtcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgtc gagatagggt 4560
cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagtfta ctcatatata ctttagattg 4620
atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca 4680
tgacaaaaat cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga 4740
tcaaaggatc ttcttgagat cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa 4800
aaccaccgct accagcgtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact cttttccga 4860
aggttaactgg cttcagcaga ggcagatac caaatactgt ccttctagtg tagccgtagt 4920

ES 2 609 359 T3

taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt 4980
 taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat 5040
 agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct 5100
 tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagcattga gaaagcgcca 5160
 cgcttccoga agggagaaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag 5220
 agcgcaogag ggagcttcca ggggggaacg cctggtatct ttatagtctt gtcgggtttc 5280
 gccacctctg acttgagcgt cgatTTTTgt gatgctcgtc aggggggccc agcctatgga 5340
 aaaaagccag caacgcggcc tttttacggt tcttggcctt ttgctggcct tttgctcaca 5400
 tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagtgag 5460
 ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg 5520
 aagagcgcgc aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcggtg gccgattcat taatgcagct 5580
 ggcacgacag gtttcccgac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt 5640
 acctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcct atgttgtgtg 5700
 gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaaagc 5760
 tcggaattaa ccctcactaa agggaacaaa agctggctag t 5801

<210> 77
 <211> 692
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> 4D5H

10

<400> 77

ggccagcaag gccaaagagt tcaactagtg gagtctggcg gtggcctggt gcagccaggg 60
 ggctcactcc gtttgtcctg tgcagcttct ggcttcaaca ttaaagacac ctatatacac 120
 tgggtgcgtc aggccccggg taagggcctg gaatgggttg caaggattta tccctacgaat 180
 ggttatacta gatatgccga tagcgtcaag ggccgtttca ctataagcgc agacacatcc 240
 aaaaacacag cctacctgca gatgaacagc ctgcgtgctg aggacactgc cgtctattat 300
 tgttctagat ggggagggga cggcttctat gctatggact actggggtca aggaaccctg 360
 gtcaccgtct cctcggetag caccaagggc cccagcgtgt tccctctggc cccagctcc 420
 aagagcacct ccggcggcac cgcgcacctg ggctgcctgg tgaaggatta cttcccagag 480
 ccogtgaccg tgagctggaa cagcggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac ctttcccgcc 540
 gtgctgcagt ccagcggcct gtactccctg agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc 600
 ctgggcaccc agacctacat ctgcaatgtg aaccacaagc ccagcaatac caaggtggat 660
 aagaaggtgg agcccaagag ctgcgcggcc gc 692

<210> 78
 <211> 661

15

ES 2 609 359 T3

<212> ADN
<213> artificial

5 <220>
<223> 4D5L

<400> 78

```

ccatggogga tatccagatg acccagtccc cgagctccct gtccgcctct gtgggogata    60
gggtcaccaat cacctgocgt gccagtcagg atgtgaatac tgctgtagcc tggatatcaac    120
agaaaccagg aaaagctccg aaactactga tttactoggc atccttcctc tactctggag    180
tcccttctcg cttctctgga tccagatctg ggacggattt cactctgacc atcagcagtc    240
tgcagcogga agacttcgca acttattact gtcagcaaca ttatactact cctcccacgt    300
tcggacaggg taccaaggtg gagatcaaac gtacgggtggc ggcgccatct gtcttcatct    360
tcccgccatc tgatgagcag cttaagtctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata    420
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta    480
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca    540
ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc    600
atcagggcct gagctcggcc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt tgaggcgcgc    660
c                                                                                   661

```

10 <210> 79
<211> 6468
<212> ADN
<213> artificial

15 <220>
<223> Vector pYD4D5hc

20 <400> 79

```

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt    60
cctogtcttc accggtcgog ttctgaaac gcagatgtgc ctcgcgccgc actgctccga    120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac    180
ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga    240
ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat    300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc    360
ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac    420
ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac    480
gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt    540

```

ES 2 609 359 T3

tacttcgctg ttttcaata ttttctgta ttgcttcagt gctagccgct ggggccatgg 600
 ttactgattg gcgcgcgga tccgatgtaa caaaatcgac tttgttocca ctgtactttt 660
 agctcgtaca aaatacaata tacttttcat ttctccgtaa acaacatggt ttcccatgta 720
 atatcctttt ctatttttcg ttccggtacc aactttacac atactttata tagctattca 780
 ctctataca ctaaaaaact aagacaattt taattttgct gcctgccata tttcaatttg 840
 ttataaattc ctataattta tcctattagt agctaaaaaa agatgaatgt gaatcgaatc 900
 ctaagagaat tgctgcagaa ttcacggatt agaagccgcc gagcgggtga cagccctccg 960
 aaggaagact ctctccgtg cgtcctcgtc ttcaccggtc gcgttcctga aacgcagatg 1020
 tgctcgcgc cgcactgctc cgaacaataa agattctaca atactagctt ttatggttat 1080
 gaagaggaaa aattggcagt aacctggccc cacaaacctt caaatgaacg aatcaaatta 1140
 acaaccatag gatgataatg cgattagttt tttagcctta tttctggggt aattaatcag 1200
 cgaagcgatg atttttgatc tattaacaga tatataaatg caaaaactgc ataaccactt 1260
 taactaatac tttcaacatt ttcggtttgt attacttctt attcaaatgt aataaaaagta 1320
 tcaacaaaaa attgttaata tacctctata ctttaacgtc aaggagaaaa aaccccggat 1380
 cggactacta gcagctgtaa tacgactcac tatagggatg attagctaa ttctacttca 1440
 tacattttca attaagatgc agttacttgg ctgtttttca atattttctg ttattgcttc 1500
 agtttttagca caggaaactga caactatatg cgagcaaatc ccctcaccaa ctttagaatc 1560
 gacgccgtac tctttgtcaa cgactactat tttggccaac ggggaaggcaa tgcaaggagt 1620
 ttttgaatat tacaatcag taacgtttgt cagtaattgc ggttctcacc cctcaacaac 1680
 tagcaaaggc agccccataa acacacagta tgtttttaag cttctgcagg ctagtgggtg 1740
 tgggtggtct ggtggtggtg gttctggtgg tgggtggtct gctagcatga ctggtggcca 1800
 gcaaggccaa ggttctgagg ttcaactagt ggagtctggc ggtggcctgg tgcagccagg 1860
 gggctcactc cgtttgcct gtgcagcttc tggcttcaac attaaagaca cctatataca 1920
 ctgggtgctg caggccccgg gtaaggccct ggaatgggtt gcaaggattt atcctacgaa 1980
 tggttatact agatatgccg atagcgtcaa gggcggtttc actataagcg cagacacatc 2040
 caaaaacaca gcctacctgc agatgaacag cctgcgtgct gaggacactg ccgtctatta 2100
 ttgttctaga tggggagggg acggcttcta tgctatggac tactggggtc aaggaacctt 2160
 ggtcaccgct tcctcggcta gcaccaaggg cccagcgtg ttccctctgg cccccagctc 2220
 caagagcacc tccggcggca ccgccgccct gggctgctg gtgaaggatt acttcccaga 2280
 gccogtgacc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ctttcccgc 2340
 cgtgctgcag tccagcggcc tgtactccct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag 2400
 cctgggcacc cagacctaca tctgcaatgt gaaccacaag cccagcaata ccaaggtgga 2460

ES 2 609 359 T3

taagaagggtg gagcccaaga gctgcgoggc cgcacatcat caccatcacc attgattaat 2520
 taagtttaaa cccgctgatc tgataacaac agtgtagatg taacaaaatc gactttgttc 2580
 ccaactgtact tttagctcgt acaaaatata atatactttt catttctccg taacaacat 2640
 gttttcccat gtaatatcct tttctatfff tegtccggtt accaacttta cacatacttt 2700
 atatagctat tcacttctat aacttaaaaa actaagacaa ttttaatttt gctgcctgcc 2760
 atatttcaat ttgttataaa ttcctataat ttatcctatt agtagctaaa aaaagatgaa 2820
 tgtgaatcga atcctaagag aattgggcaa gtgcacaaac aataacttaa taaatactac 2880
 tcagtaataa cctatftctt agcatttttg acgaaatttg ctatftttgt agagtctftt 2940
 acaccatttg tctccacacc tccgcttaca tcaacaccaa taacgccatt taatctaagc 3000
 gcatcaccaa cattttctgg cgtcagtcca ccagctaaca taaaatgtaa gctctcgggg 3060
 ctctcttgcc ttccaacca gtcagaaatc gagtccaat ccaaaagttc acctgtccca 3120
 cctgcttctg aatcaaacaa gggataaaac gaatgaggtt tctgtgaagc tgcactgagt 3180
 agtatgttgc agtctfttg aaatacagagt cttttaataa ctggcaaacc gaggaactct 3240
 tggatftctt gccacgactc atctccgtgc agttggacga tatcaatgcc gtaatcattg 3300
 accagagcca aacatcctc cttaggttga ttacgaaaca cgccaacca gtatftcgga 3360
 gtgcctgaac tattfttata tgctfttaca agacttgaaa tfttccttgc aataaccggg 3420
 tcaattgttc tctftctatt gggcacacat ataataccca gcaagtcaac atcggaatct 3480
 agagcacatt ctggggctc tgtgctctgc aagccgcaa cfttcaccaa tggaccagaa 3540
 ctacctgtga aattaataac agacatactc caagctgcct ttgtgtgctt aatcacgtat 3600
 actcacgtgc tcaatagtca ccaatgccct cctctctggc cctctcctt tctftftctg 3660
 accgaatttc ttgaagacga aagggcctcg tgatacgcct atftfttatag gttaatgtca 3720
 tgataataat ggtftcttag gacggatcgc ttgcctgtaa cttacacgcg cctcgtatct 3780
 tftaatgatg gaataattg ggaatttact ctgtgtttat tftftfttat gttftgtatt 3840
 tggatfttag aaagtaata aagaaggtag aagagttacg gaatgaagaa aaaaaataa 3900
 acaaaggtt aaaaaattc acaaaaaagc gtactfttaca tatatattta ttagacaaga 3960
 aaagcagatt aatagatat acattcgtt aacgataagt aaaatgtaa atcacaggat 4020
 tftcgtgtgt ggtcttctac acagacaaga tgaacaatt cggcattaat acctgagagc 4080
 aggaagagca agataaaag tagtatttgt tggcgatccc cctagagtct tftacatct 4140
 cgaaaaaaa aactatftt tctfttaatt tctftfttfta cfttctatft ttaatttata 4200
 tftftatatt aaaaaattta aattataatt atftfttatag cacgtgatga aaaggaccca 4260
 ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga acccctatft gttftatftt ctaatacat 4320

ES 2 609 359 T3

tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa ccoctgataaa tgcttcaata atattgaaaa 4380
 aggaagagta tgagtattca acatttccgt gtogccotta ttcocttttt tgoggcattt 4440
 tgccttcctg tttttgctca cccagaaaacg ctgggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag 4500
 ttgggtgcac gagtgggtta catcgaaactg gatctcaaca gcggtaaagat ccttgagagt 4560
 tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg agcactttta aagttctgct atgtggcgcg 4620
 gtattatccc gtgttgacgc cgggcaagag caactcggtc gccgcataca ctattctcag 4680
 aatgacttg ttgagtactc accagtcaca gaaaagcatc ttaaggatgg catgacagta 4740
 agagaattat gcagtgtgc cataaccatg agtgataaca ctgoggccaa cttacttctg 4800
 acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta 4860
 actcgccttg atcgttggga accggagctg aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac 4920
 accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg ttgogcaaac tattaactgg cgaactactt 4980
 actctagctt cccggcaaca attaatagac tggatggagg cggataaagt tgcaggacca 5040
 cttctgcgct cggcccttcc ggotggctgg tttattgctg ataaatctgg agccgggtgag 5100
 cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta 5160
 gttatctaca cgacgggcag tcaggcaact atggatgaac gaaatagaca gatcgcctgag 5220
 ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa ctgtcagacc aagtttactc atatatactt 5280
 tagattgatt taaaacttca tttttaattt aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat 5340
 aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta 5400
 gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa 5460
 acaaaaaaac caccgctacc agcgggtggtt tgtttgccgg atcaagagct accaactctt 5520
 tttccgaagg taactggctt cagcagagcg cagataccaa atactgtcct tctagtgtag 5580
 ccgtagttag gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta 5640
 atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca 5700
 agacgatagt taccggataa ggccgagcgg tcgggctgaa cgggggggttc gtgcacacag 5760
 cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gcattgagaa 5820
 agcggcacgc ttcccgaagg gagaaaggcg gacaggtatc cggtaaagcg cagggtcgga 5880
 acaggagagc gcacgagga gcttccaggg gggaacgcct ggtatcttta tagtctgtc 5940
 gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggcccagc 6000
 ctatggaaaa acgccagcaa cggggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt 6060
 gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt 6120
 gagtgagctg ataccgctcg ccgagccga acgaccgagc gcagcagtc agtgagcag 6180
 gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa 6240

ES 2 609 359 T3

tgcagctggc acgacaggtt tcccgactgg aaagcgggca gtgagcgc aa cgcaattaat 6300
 gtgagttacc tcaactcatta ggcaccccag getttacact ttatgcttcc ggctcctatg 6360
 ttgtgtggaa ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagctatga ccatgattac 6420
 gccaaagctcg gaattaacc tcaactaaagg gaacaaaagc tggctagt 6468

<210> 80
 <211> 223
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> 4D5hp

<400> 80

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

ES 2 609 359 T3

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 81
 <211> 7100
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> Vector pYD4D5hl

<400> 81

5

10

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgccgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggcccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcagatgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgattt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg tttttcaata ttttctgta ttgcttcagt gctagccgct ggggccatgg 600
 cggatatoca gatgaccocag tccccgagct ccctgtccgc ctctgtgggc gatagggtca 660
 ccatcacctg ccgtgccagt caggatgtga atactgctgt agcctggtat caacagaaac 720
 caggaaaagc tccgaaacta ctgatttact oggcatcctt cctctactct ggagtccctt 780
 ctcgttctc tggatccaga tctgggacgg atttactct gaccatcagc agtotgcagc 840
 cggaagactt cgcaacttat tactgtcagc aacattatac tactcctccc acgttcggac 900
 aggtaccaca ggtggagatc aaacgtacgg tggcggcgcc atctgtcttc atcttccgcg 960
 catctgatga gcagcttaag tctggaactg cctctgttgt gtgctgctg aataacttct 1020
 atccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg ggtaactccc 1080
 aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc agcaacctga 1140
 cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc acccoatcagg 1200
 gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttgaggc gcgccggatc 1260

ES 2 609 359 T3

cgatgtaaca aaatogactt tgttcccact gtacttttag ctcgtaaaa atacaatata 1320
 cttttcattt ctccgtaaac aacatgtttt cccatgtaat atccttttct atttttcggt 1380
 ccggtaccaa ctttacacat actttatata gctattcact tctatacact aaaaaactaa 1440
 gacaatttta attttgctgc ctgccatatt tcaatttggt ataaattcct ataatttate 1500
 ctattagtag ctaaaaaaag atgaatgtga atcgaatcct aagagaattg ctgcagaatt 1560
 cacggattag aagccgcoga gcggggtgaca gccctccgaa ggaagactct cctccgtgcg 1620
 tctcgtctt caccggctgc gttcctgaaa cgcagatgtg cctcgcgccg cactgctccg 1680
 aacaataaag attctacaat actagctttt atggttatga agaggaaaaa ttggcagtaa 1740
 cctggcccca caaaccttca aatgaacgaa tcaaatlaac aaccatagga tgataatgcg 1800
 attagttttt tagccttatt tctggggtaa ttaatcagcg aagcgatgat ttttgatcta 1860
 ttaacagata tataaatgca aaaactgcat aaccacttta actaatactt tcaacatttt 1920
 cggtttgtat tacttcttat tcaaagttaa taaaagtatc aacaaaaaat tgттаatata 1980
 cctctatact ttaacgtcaa ggagaaaaaa ccccggatcg gactactagc agctgtaata 2040
 cgactcacta tagggaatat taagctaatt ctacttcata cattttcaat taagatgcag 2100
 ttacttcgct gtttttcaat attttctggt attgcttcag ttttagcaca ggaactgaca 2160
 actatatgcg agcaaatccc ctcaccaact ttagaatcga cgcctactc tttgtcaacg 2220
 actactattt tggccaacgg gaaggcaatg caaggagttt ttgaatatta caaatcagta 2280
 acgtttgtca gtaattgcgg ttctcacccc tcaacaacta gcaaaggcag ccccataaac 2340
 acacagtatg tttttaagct tctgcaggct agtgggtggtg gtggttctgg tgggtgggtgt 2400
 tctgggtggtg gtggttctgc tagcatgact ggtggccagc aaggccaaga ggttcaacta 2460
 gtggagtctg gcggtggcct ggtgcagcca gggggctcac tccgtttgc ctgtgcagct 2520
 tctggcttca acattaaaga cacctatata cactgggtgc gtcaggcccc gggtaagggc 2580
 ctggaatggg ttgcaaggat ttatcctacg aatggttata ctagatatgc cgatagcgtc 2640
 aagggcogtt tcactataag cgcagacaca tccaaaaaca cagcctacct gcagatgaac 2700
 agcctgcgtg ctgaggacac tgccgtctat tattgttcta gatggggagg ggacggcttc 2760
 tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc ctggtcaccg tctcctcggc tagcaccaag 2820
 ggccccagcg tgttccctct ggccccagc tccaagagca cctccggcgg caccgccgcc 2880
 ctgggctgcc tgggtgaagga ttacttccca gagcccgta ccgtgagctg gaacagcggc 2940
 gccctgacca gggcgtgca cacctttccc gccgtgctgc agtccagcgg cctgtactcc 3000
 ctgagcagcg tggtgaccgt gccagcagc agcctgggca cccagaccta catctgcaat 3060
 gtgaaccaca agcccagcaa taccaaggtg gataagaagg tggagcccaa gagctgcgcg 3120

ES 2 609 359 T3

gccgcacatc atcaccatca ccattgatta attaagttta aaccgcgctga tctgataaca 3180
 acagtglaga tgtaacaaaa tcgactttgt tcccactgta cttttagctc gtacaaaata 3240
 caatatactt ttcattttctc cgtaaacacac atgttttccc atgtaatatc cttttctatt 3300
 tttcgttccg ttaccaactt tacacatact ttatatagct attcacttct atacactaaa 3360
 aaactaagac aattttaatt ttgctgcctg ccataattca atttgttata aattcctata 3420
 atttatccta ttagtagcta aaaaaagatg aatgtgaatc gaatcctaag agaattgggc 3480
 aagtgcacaa acaatactta aataaatact actcagtaat aacctatttc ttagcatttt 3540
 tgacgaaatt tgctattttg ttagagtctt ttacaccatt tgtctccaca cctccgctta 3600
 catcaacacc aataacgcc a tttaatctaa gcgcacacc aacattttct ggcgctcagtc 3660
 caccagctaa cataaaatgt aagctctcgg ggctctcttg ccttccaacc cagtcagaaa 3720
 tcgagttcca atccaaaagt tcacctgtcc cacctgcttc tgaatcaaac aaggggataa 3780
 acgaatgagg tttctgtgaa gctgcactga gtagtatggt gcagtctttt ggaaatacga 3840
 gtcttttaat aactggcaaa ccgaggaact cttgggtattc ttgccacgac tcatctccgt 3900
 gcagttggac gatatacatg ccgtaatcat tgaccagagc caaaacatcc tccttagggt 3960
 gattacgaaa cacgccacc aagtatttcg gagtgcctga actattttta tatgctttta 4020
 caagacttga aattttcctt gcaataaccg ggtcaattgt tctctttcta ttgggcacac 4080
 atataatacc cagcaagtca gcacgggaat ctagagcaca ttctgcggcc tctgtgetct 4140
 gcaagccgca aactttcacc aatggaccag aactacctgt gaaattaata acagacatac 4200
 tccaagctgc ctttgtgtgc ttaatcacgt atactcacgt gctcaatagt caccaatgcc 4260
 ctccctcttg gccctctcct tttctttttt cgaccgaatt tcttgaagac gaaagggcct 4320
 cgtgatacgc ctatttttat aggttaatgt catgataata atggtttctt aggacggatc 4380
 gcttgccctg aacttacacg gcctcgtat cttttaatga tggataaatt tgggaattta 4440
 ctctgtgttt atttattttt atgttttgta tttggatttt agaaagtaaa taaagaaggt 4500
 agaagagtta cggaatgaag aaaaaaaaaat aaacaaaggt ttaaaaaatt tcaacaaaaa 4560
 gcgtacttta catatatatt tattagacaa gaaaagcaga ttaaatagat atacattcga 4620
 ttaacgataa gtaaaatgta aatcacagg attttcgtgt gtggtcttct acacagacaa 4680
 gatgaaacaa ttcggcatta atacctgaga gcaggaagag caagataaaa ggtagtattt 4740
 gttggcgatc ccctagagt cttttacatc ttcggaaaac aaaaactatt ttttctttaa 4800
 tttctttttt tactttctat ttttaattta tatatttata ttaaaaaatt taaattataa 4860
 ttatttttat agcacgtgat gaaaaggacc caggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg 4920
 gaaccocctat ttgtttattt ttctaaatac attcaaatat gtatccgctc atgagacaat 4980
 aaccctgata aatgcttcaa taatattgaa aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc 5040

ES 2 609 359 T3

gtgtcgccct tattcccttt ttgcgccat ttgcccctcc tgtttttgct caccagaaa 5100
 cgctggtgaa agtaaaagat gctgaagatc agttgggtgc acgagtgggt tacatogaac 5160
 tggatctcaa cagcggtaag atccttgaga gttttcgccc cgaagaacgt tttccaatga 5220
 tgagcacttt taaagttctg ctatgtggcg cgttattatc ccgtggtgac gccgggcaag 5280
 agcaactcgg tcgccgata cactattctc agaatgactt ggttgagtac tcaccagtca 5340
 cagaaaagca tcttacggat ggcatacag taagagaatt atgcagtgct gccataacca 5400
 tgagtgataa cactgcccgc aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa 5460
 ccgctttttt gcacaacatg ggggatcatg taactcgccct tgatcgttgg gaaccggagc 5520
 tgaatgaagc cataccaaac gacgagcgtg acaccacgat gcctgtagca atggcaacaa 5580
 cgttgccgaa actattaact ggcgaactac ttactctagc ttcccggcaa caattaatag 5640
 actggatgga ggcgataaa gttgcaggac cacttctgcg ctccggccctt ccggctggct 5700
 ggtttattgc tgataaatct ggagccggtg agcgtgggtc tcgcggtatc attgcagcac 5760
 tggggccaga tggtaaagcc tcccgtatcg tagttatcta cacgacgggc agtcaggcaa 5820
 ctatggatga acgaaataga cagatcgctg agatagggtc ctactgatt aagcattggt 5880
 aactgtcaga ccaagtttac tcatatatac tttagattga tttaaaactt ctttttaat 5940
 ttaaaaggat ctaggatgaag atcctttttg ataatctcat gaccaaaatc ccttaacgtg 6000
 agttttcgtt ccaactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc 6060
 ctttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgggtg 6120
 tttgtttgcc ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag 6180
 cgcagatacc aaatactgtc cttctagtgt agccgtagtt aggccaccac ttcaagaact 6240
 ctgtagcacc gcctacatac ctgctctgct taatcctggt accagtggct gctgccagtg 6300
 gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccggat aaggcgcagc 6360
 ggtcgggctg aacgggggggt tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg 6420
 aactgagata cctacagcgt gagcattgag aaagcgcac gcttcccga gggagaaagg 6480
 cggacaggta tccggtgtaagc ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg gagcttccag 6540
 gggggaacgc ctggtatctt tatagtctctg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc 6600
 gatttttgtg atgctcgtca ggggggccga gcctatggaa aaacgcagc aacgcggcct 6660
 ttttacgggt cctggccctt tgctggcctt ttgctcacat gttctttcct gcgttatccc 6720
 ctgattctgt ggataacogt attacgcctt ttgagtgagc tgataccgct cgcgcagcc 6780
 gaacgaccga gcgcagcagc tcagtgagcg aggaagcggg agagcgcaca atacgaaaac 6840
 cgcctctccc cgcgcggttg ccgattcatt aatgcagctg gcacgacagg tttcccact 6900

ES 2 609 359 T3

ggaaagcggg cagtgagcgc aacgcaatta atgtgagtta cctcactcat taggcacccc 6960
 aggctttaca ctttatgctt ccggctccta tgttggtggtg aattgtgagc ggataacaat 7020
 ttcacacaggy aaacagctat gaccatgatt acgccaagct cggaattaac cctcactaaa 7080
 gggaacaaaa gctggctagt 7100

<210> 82
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> 4D51p

<400> 82

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

ES 2 609 359 T3

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

5 <210> 83
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 83

Val Ala Arg Asn Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

15 <210> 84
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 84

Val Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Val Arg Trp Ala His
 1 5 10

30 <210> 85
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

35 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 85

Val Ala Arg Lys Asn His Arg Lys Trp Arg Arg Thr His
 1 5 10

40 <210> 86
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 86

50 <210> 87
 <211> 13

ES 2 609 359 T3

<212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 5 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 87

 Val Ala Arg His Ser Leu Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 10
 <210> 88
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 88
 20
 Val Ala Arg Tyr Ser Gln Thr Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

 <210> 89
 <211> 13
 25 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 30
 <400> 89

 Met Pro Arg Phe Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 35
 <210> 90
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 90

 Val Thr Arg Tyr Ser Gln Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 45
 <210> 91
 <211> 13
 <212> PRT
 50 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 91
 55

ES 2 609 359 T3

Ile Glu Arg Tyr Ser Thr Arg Met Trp Ser Trp Ala His
 1 5 10

5 <210> 92
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 92

Val Ala Arg His Ser Pro Glu Met Trp His Trp Ala His
 1 5 10

15 <210> 93
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 93

Val Ala Arg Gly Ser Pro Ser Met Trp Ser Trp Gly His
 1 5 10

25 <210> 94
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 94

Val Ala Arg His Ser Gln Thr Met Trp His Trp Ala His
 1 5 10

35 <210> 95
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

40 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 95

Leu Ala Arg Tyr Ser Pro Gly Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

45 <210> 96
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

50 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 96

5 Val Pro Arg Phe Ser Pro Thr Met Trp Lys Trp Ala His
1 5 10

<210> 97

<211> 13

<212> PRT

10 <213> artificial

<220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 97

Val Pro Arg Trp Ser Arg Thr Met Leu Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 98

20 <211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220>

25 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 98

Val Pro Arg Tyr Ser Pro Arg Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

30 <210> 99

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

35 <220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 99

40 <210> 100

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220>

45 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 100

<210> 101

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220>

50 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 100

Met Pro Arg Trp Ser Lys Ser Leu Ser Gly Trp Ala His
1 5 10

55 <210> 101

<211> 13

ES 2 609 359 T3

<212> PRT
 <213> artificial

<220>
 5 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 101

Val Ala Arg Tyr Thr Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

10 <210> 102
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

15 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 102

20 Val Ala Arg Asn Ser Leu Thr Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

<210> 103
 <211> 13
 25 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

30 <400> 103

Val Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Met Trp Lys Trp Ala His
 1 5 10

35 <210> 104
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

40 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 104

Val Ala Arg Phe Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

45 <210> 105
 <211> 13
 <212> PRT
 50 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

55 <400> 105

ES 2 609 359 T3

Leu Ala Arg Trp Ser Pro Ser Leu Ser Arg Trp Ala His
 1 5 10

5 <210> 106
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 106

Val Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

15 <210> 107
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 107

Val Pro Arg Ser Ser Leu Thr Met Trp Lys Trp Ala His
 1 5 10

25 <210> 108
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 35 <400> 108

Val Pro Arg His Ser Thr Arg Met Trp Lys Trp Ala His
 1 5 10

40 <210> 109
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 109

Val Pro Arg His Ser Arg Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

50 <210> 110
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 110

5 Val Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 111
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 111

Val Thr Arg His Ser Ser Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 112
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

20

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

25

<400> 112

Val Ala Arg Tyr Ser Arg Ser Met Lys Lys Trp Ala His
1 5 10

30

<210> 113
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

40 <400> 113

Val Ala Arg Gly Ser Thr Thr Met Trp Arg Trp Gly His
1 5 10

<210> 114
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

45

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

50

<400> 114

Val Ala Arg Ser Ser Pro Glu Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

55 <210> 115

ES 2 609 359 T3

<211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 115
 Val Ala Arg Tyr Ser Thr Gly Met Trp Asn Trp Ala His
 10 1 5 10
 <210> 116
 <211> 13
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 20 <400> 116
 Val Pro Arg Tyr Ser Gln Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 <210> 117
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 30 <400> 117
 Val Pro Arg Asn Ser Pro Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 35 <210> 118
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 45 <400> 118
 Leu Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Ser Arg Trp Ala His
 1 5 10
 <210> 119
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 55 <400> 119

ES 2 609 359 T3

Leu Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Lys Ser Trp Ala His
1 5 10

5 <210> 120
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 120

Leu Pro Arg Tyr Ser Thr Lys Met Lys Arg Trp Ala His
1 5 10

15 <210> 121
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 121

Leu Ala Arg Tyr Ser Gly Arg Met Lys Arg Trp Ala His
1 5 10

30 <210> 122
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

35 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 122

Ile Pro Arg Trp Ser Gln Gln Met Ser Arg Trp Ala His
1 5 10

40 <210> 123
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 123

Val Gly Arg Trp Thr Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

50 <210> 124
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 124

5 Val Lys Arg Ser Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 125

<211> 13

<212> PRT

10 <213> artificial

<220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 125

Leu Ala Arg Tyr Ser Pro Gly Met Trp Asn Trp Ala His
1 5 10

<210> 126

20 <211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220>

25 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 126

Ile Ala Arg Tyr Ser Pro Asn Met Trp Asn Trp Ala His
1 5 10

30 <210> 127

<211> 13

<212> PRT

35 <213> artificial

<220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

40 <400> 127

Ile Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 128

45 <211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220>

50 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 128

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

55 <210> 129

ES 2 609 359 T3

<211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 129
 Val Ala Arg Tyr Ser Lys Ser Met Leu Lys Trp Ala His
 10 1 5 10
 <210> 130
 <211> 13
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 20 <400> 130
 Val Ala Arg His Ser Arg Thr Met Trp Arg Trp Gly His
 1 5 10
 <210> 131
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 30 <400> 131
 Ile Ala Arg His Ser Arg Glu Met Leu Arg Trp Ala His
 1 5 10
 35 <210> 132
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 132
 45 Val Ala Arg Tyr Ser Ser Thr Met Ser Arg Trp Ala His
 1 5 10
 <210> 133
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 55 <400> 133

ES 2 609 359 T3

Val Pro Arg His Ser Leu Lys Lys Leu Gln Arg Lys His
1 5 10

5 <210> 134
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 134

Val Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Met Trp Asn Trp Ala His
1 5 10

15 <210> 135
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 135

Val Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Gly His
1 5 10

25 <210> 136
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
35 <400> 136

Val Pro Arg Tyr Ser Ala Ser Met Trp Arg Trp Gly His
1 5 10

40 <210> 137
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 137

Val Pro Arg Tyr Ser Ala Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

50 <210> 138
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 138

5 Leu Pro Arg Tyr Ser Pro Gly Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 139

<211> 13

<212> PRT

10 <213> artificial

<220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 139

Val Ala Arg Tyr Ser Gln Thr Met Ser Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 140

20 <211> 13

<212> PRT

<213> artificial

<220>

25 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 140

Val Ala Gly Tyr Arg Pro Arg Arg Ser Gly Ser Ser His
1 5 10

30 <210> 141

<211> 13

<212> PRT

<213> artificial

35 <220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 141

40 <210> 142

Leu Ala Arg His Ser Ala Asn Met Leu Arg Trp Ala His
1 5 10

<210> 142

<211> 13

45 <212> PRT

<213> artificial

<220>

50 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 142

Val Ala Arg His Ser Pro Ser Met Trp Ser Trp Ala His
1 5 10

55 <210> 143

<211> 13

ES 2 609 359 T3

<212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 5 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 143

 Val Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Phe Arg Trp Ala His
 1 5 10
 10
 <210> 144
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 144
 20
 Val Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Leu Arg Trp Ala His
 1 5 10

 <210> 145
 <211> 13
 25 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 30
 <400> 145

 Val Ala Arg Ser Ser Pro Thr Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 35
 <210> 146
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 146

 Val Thr Arg Trp Ser Pro Thr Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10
 45
 <210> 147
 <211> 13
 <212> PRT
 50 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 55
 <400> 147

ES 2 609 359 T3

Val Ala Arg Ser Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

5 <210> 148
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 148

Val Ala Arg Tyr Ser Pro Thr Met Trp Lys Trp Ala His
1 5 10

15 <210> 149
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 149

Val Ser Arg Phe Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

25 <210> 150
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
35 <400> 150

Ile Pro Arg Tyr Thr Pro Ser Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

40 <210> 151
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 151

Val Pro Arg Tyr Ser Thr Leu Met Trp Arg Trp Ala His
1 5 10

50 <210> 152
<211> 13
<212> PRT
<213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

5 <400> 152

Leu Pro Arg His Ser Arg Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

<210> 153
 <211> 13
 10 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 153

Leu Ala Arg Trp Ser Pro Ser Met Leu Arg Trp Ala His
 1 5 10

20 <210> 154
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

25 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 154

Val Ala Arg His Ser Pro Ala Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

30 <210> 155
 <211> 13
 <212> PRT
 35 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

40 <400> 155

Val Pro Arg His Ser Ala Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

45 <210> 156
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

50 <400> 156

Val Pro Arg Tyr Ser Ala Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 1 5 10

55 <210> 157

ES 2 609 359 T3

<211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 157
 Val Ala Arg Tyr Ser Pro Arg Met Trp Arg Trp Ala His
 10 1 5 10
 <210> 158
 <211> 13
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 20 <400> 158
 Val Ala Arg Tyr Ser Arg Lys Met Ser Ser Trp Gly His
 1 5 10
 <210> 159
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 30 <400> 159
 Leu Ala Ser Tyr Ser Pro Ser Met Trp Arg Trp Gly His
 1 5 10
 35 <210> 160
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 160
 45 Val Ala Arg Tyr Ser Pro Thr Met Lys Arg Trp Ala His
 1 5 10
 <210> 161
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 55 <400> 161

ES 2 609 359 T3

Tyr Leu His Gly Asp
1 5

5 <210> 162
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 162

Tyr Leu Tyr Gly Asp
1 5

15 <210> 163
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 163

Tyr Leu Ser Ala Asp
1 5

25 <210> 164
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 164

Leu Ser Leu Pro Cys
1 5

35 <210> 165
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

40 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 165

Arg Glu Gly Gly Arg
1 5

45 <210> 166
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

50

ES 2 609 359 T3

```

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

5 <400> 166

      Leu Thr Lys Asn Gln
      1           5

<210> 167
<211> 5
10 <212> PRT
    <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
15 <400> 167

      Thr Lys Ala Phe Tyr
      1           5

20 <210> 168
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> artificial

25 <220>
    <223> Secuencia bucle AB AA143ff

    <400> 168

      Trp Trp Leu Phe Gly
      1           5

30 <210> 169
    <211> 5
    <212> PRT
35 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
40 <400> 169

      Ile Lys Lys Lys Lys
      1           5

45 <210> 170
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> artificial

<220>
50 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

    <400> 170

      Lys Trp Asn Lys Lys
      1           5

```

ES 2 609 359 T3

5 <210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

10 <400> 171

Lys Lys Lys Lys Lys
1 5

15 <210> 172
<211> 4
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

20 <400> 172

Thr Lys Gly Leu
1

25 <210> 173
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

30 <400> 173

35

Tyr Lys Thr Lys Asp
1 5

40 <210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

45 <400> 174

Arg Lys Glu Lys Lys
1 5

50 <210> 175
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

55

ES 2 609 359 T3

<400> 175

Trp Trp Val Gly Gly
1 5

5

<210> 176
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

15

<400> 176

Trp Trp Arg Gly Gly
1 5

20

<210> 177
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

25

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 177

Tyr Gly His Lys Tyr
1 5

30

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 178

Thr Lys Lys Glu Thr
1 5

40

<210> 179
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

50

<400> 179

Thr Gly Gly Asn Lys
1 5

ES 2 609 359 T3

5 <210> 180
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

10 <400> 180

Leu Asp Gly Asp Gln
1 5

15 <210> 181
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

20 <400> 181

Phe Ile Pro His Asn
1 5

25 <210> 182
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 182

Lys Lys Lys Gly Lys
1 5

35 <210> 183
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

40 <400> 183

Lys Asn Lys Lys Lys
1 5

45 <210> 184
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

50 <400> 184

55 <210> 184
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 184

ES 2 609 359 T3

Lys Lys Lys Asn Asn
1 5

5 <210> 185
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 185

Lys Lys Lys Lys Arg
1 5

15 <210> 186
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 186

Leu Lys Lys Lys Thr
1 5

25 <210> 187
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 35 <400> 187

Thr Lys Gly Arg Trp
1 5

40 <210> 188
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 188

Lys Lys Lys Asn Lys
1 5

50 <210> 189
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 189

Lys His Ala Glu Thr
1 5

5

<210> 190
<211> 4
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA144ff

15

<400> 190

Lys Lys Lys Lys
1

<210> 191
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

25

<400> 191

Phe Phe Thr Tyr Trp
1 5

30

<210> 192
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

40

<400> 192

Glu Gly Lys Arg Lys
1 5

<210> 193
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

50

<400> 193

Arg His Gly Gly Trp
1 5

55

<210> 194

<211> 4
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA144ff
 <400> 194

 Lys Ser Gly Tyr
 1
 10
 <210> 195
 <211> 5
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 20 <400> 195

 Ala Lys Glu Gly Gly
 1 5
 25
 <210> 196
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 196

 Lys Tyr Trp Met Ala
 1 5
 35
 <210> 197
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 197
 45

 Gln Leu Arg Asn Lys
 1 5
 50
 <210> 198
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 55 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 198

ES 2 609 359 T3

Gln Arg Gly Arg Met
1 5

5 <210> 199
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 199

Lys Asn His Asn Thr
1 5

15 <210> 200
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 200

Met Ser Glu Asn Glu
1 5

25 <210> 201
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
35 <400> 201

Trp Trp Met Asp Tyr
1 5

40 <210> 202
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 202

Met Lys Lys Asn Lys
1 5

50 <210> 203
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

	<223> Secuencia bucle AB AA143ff			
	<400> 203			
5		Glu Tyr Phe Arg His		
		1		5
	<210> 204			
	<211> 5			
10	<212> PRT			
	<213> artificial			
	<220>			
	<223> Secuencia bucle AB AA143ff			
15	<400> 204			
		Phe Asp Met Arg Asp		
		1		5
	<210> 205			
20	<211> 5			
	<212> PRT			
	<213> artificial			
	<220>			
25	<223> Secuencia bucle AB AA143ff			
	<400> 205			
		Met Lys Lys Pro Tyr		
		1		5
30	<210> 206			
	<211> 5			
	<212> PRT			
35	<213> artificial			
	<220>			
	<223> Secuencia bucle AB AA143ff			
	<400> 206			
40		Phe Glu Met Pro Tyr		
		1		5
	<210> 207			
	<211> 5			
45	<212> PRT			
	<213> artificial			
	<220>			
	<223> Secuencia bucle AB AA143ff			
50	<400> 207			
		Lys Lys Lys Asn His		
		1		5
55	<210> 208			
	<211> 5			

ES 2 609 359 T3

Lys Lys Lys Lys His
1 5

5 <210> 213
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 213

Asn Lys Lys Lys Lys
1 5

15 <210> 214
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 214

Ile Met Asn Asp Trp
1 5

25 <210> 215
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 215

Trp Thr Asn Gly Asp
1 5

40 <210> 216
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff
 <400> 216

Trp Trp His Asp Met
1 5

50 <210> 217
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

5 <400> 217

Trp Glu Asn Pro His
1 5

<210> 218
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

15 <400> 218

Leu Tyr His Glu His
1 5

20

<210> 219
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

25

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

30 <400> 219

Gly Gly Asp Gln His
1 5

<210> 220
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

40 <400> 220

Ile Tyr Val Pro Tyr
1 5

45 <210> 221
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 221

Val Val Thr Ser Gln
1 5

55

ES 2 609 359 T3

5 <210> 222
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

 10 <400> 222

 Trp Trp Asn Ser Lys
 1 5

 15 <210> 223
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

 20 <400> 223

 Met Thr Gly Pro Gly
 1 5

 25 <210> 224
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 30 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

 <400> 224

 35 Asp Thr Tyr His Asp
 1 5

 40 <210> 225
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

 45 <400> 225

 Gln Asp Glu Lys Thr
 1 5

 50 <210> 226
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 55 <220>
 <223> Secuencia bucle AB AA143ff

ES 2 609 359 T3

<400> 226

Gly Asp His Arg Ile
1 5

5 <210> 227
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 227

Arg Asn Ser Asn Ser
1 5

15 <210> 228
<211> 5
<212> PRT
20 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

25 <400> 228

Arg Glu Asn Thr Met
1 5

30 <210> 229
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 229

Val Asn Asp Lys Met
1 5

40 <210> 230
<211> 5
<212> PRT
45 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

50 <400> 230

Arg Lys Lys Asp Glu
1 5

55 <210> 231
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

5 <400> 231

Ser Asn Ser Gly Tyr
1 5

<210> 232
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

15 <400> 232

Phe Glu Tyr Arg His
1 5

20

<210> 233
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

25

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

30 <400> 233

Arg Lys Lys Lys Lys
1 5

<210> 234
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

40 <400> 234

Tyr Gly Asn Ser Tyr
1 5

45 <210> 235
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff

<400> 235

ES 2 609 359 T3

Arg Asn Arg Lys Lys
1 5

5 <210> 236
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 236

Trp Asp His Gly Ser
1 5

15 <210> 237
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 237

Phe Ala Lys Arg Thr
1 5

25 <210> 238
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 238

Ser Met Asp Lys Val
1 5

40 <210> 239
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle AB AA143ff
<400> 239

Arg His Gln Asp Arg
1 5

50 <210> 240
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

5 <400> 240

Ile Ser Gly Pro Glu
1 5

<210> 241
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

15 <400> 241

Asn Gly Gln Pro Glu
1 5

20

<210> 242
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

25

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

30 <400> 242

Asp Gly Arg Pro Glu
1 5

<210> 243
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

40 <400> 243

Asp Ala Gly Pro Glu
1 5

45 <210> 244
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 244

Asn Lys Gln Asn His
1 5

55

ES 2 609 359 T3

5 <210> 245
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

10 <400> 245

Asn Met Gly Pro Glu
1 5

15 <210> 246
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

20 <400> 246

Asp Cys Gly Pro Glu
1 5

25 <210> 247
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

35 <400> 247

Met Asp Gly Pro Glu
1 5

40 <210> 248
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

45 <400> 248

Tyr Pro Glu Lys His
1 5

50 <210> 249
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

55 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

ES 2 609 359 T3

<400> 249

Asn Gly Ala Pro Gln
1 5

5 <210> 250
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 250

Asp Tyr Gly Pro Met
1 5

15 <210> 251
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

25 <400> 251

Arg Lys Lys Lys Glu
1 5

30 <210> 252
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

35 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 252

Lys Gly Gly Arg Glu
1 5

40 <210> 253
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

50 <400> 253

Gly Asn Trp Gln Pro
1 5

55 <210> 254
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
5 <400> 254

Thr Thr Gly Pro Tyr
1 5

10 <210> 255
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

15 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 255

Asp Met Asn Gln Pro
1 5

20 <210> 256
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

25 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 256

30 **Lys Trp Pro Met Phe**
1 5

35 <210> 257
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

40 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 257

His Asp Gln Arg His
1 5

45 <210> 258
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 258

ES 2 609 359 T3

Leu Gly Met Tyr Met
1 5

5 <210> 259
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 259

Asn Lys Met Phe Thr
1 5

15 <210> 260
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 260

Leu Gly Tyr Pro Glu
1 5

25 <210> 261
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 261

His Gly Tyr Gln Leu
1 5

40 <210> 262
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 262

Asn Val Phe Ile Glu
1 5

50 <210> 263
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 5 <400> 263

Asn Arg Gly Trp His
1 5

 10 <210> 264
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 15 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 264

Pro Phe Thr Leu Lys
1 5

 20 <210> 265
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 265

 30 <210> 266
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 35 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 266

Trp Asp Gln His Gln
1 5

 45 <210> 267
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 50 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 267

Ser Gly Trp Met Met
1 5

 55

ES 2 609 359 T3

5 <210> 268
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 10 <400> 268

 Trp Arg Lys Met Thr
 1 5

 15 <210> 269
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 20 <400> 269

 Phe Pro Lys Lys Tyr
 1 5

 25 <210> 270
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 30 <400> 270

 Ser Pro Tyr Phe Val
 1 5

 35 <210> 271
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 40 <400> 271

 Ile Arg Gly Thr Ser
 1 5

 45 <210> 272
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 50 <400> 272

 55 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

ES 2 609 359 T3

<400> 272

Gln Val Pro Gly Trp
1 5

5 <210> 273
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 273

Asp Leu Pro Tyr Gln
1 5

15 <210> 274
<211> 5
<212> PRT
20 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

25 <400> 274

Pro Arg Ser His Trp
1 5

30 <210> 275
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 275

Leu Tyr Gly His Ala
1 5

40 <210> 276
<211> 5
<212> PRT
45 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 276

50

Ala Pro Tyr Val His
1 5

55 <210> 277
<211> 5
<212> PRT

ES 2 609 359 T3

<213> artificial
<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
5
<400> 277

Arg Thr Gly Gln Lys
1 5

10 <210> 278
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

15 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 278

Pro Thr Tyr Trp Tyr
1 5

20

25 <210> 279
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
30 <400> 279

Glu Gly Met Glu Ile
1 5

35 <210> 280
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
40 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 280

Pro Val Val Gly Ala
1 5

45 <210> 281
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

55 <400> 281

ES 2 609 359 T3

Pro Leu Met Val Asp
1 5

5 <210> 282
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 282

Lys Tyr Gly Ser Gln
1 5

15 <210> 283
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 283

Arg Trp Asn Asn Gln
1 5

25 <210> 284
<211> 5
<212> PRT
30 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
35 <400> 284

Val Tyr Lys Gln Asp
1 5

40 <210> 285
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 285

Asn Gln Met Lys Phe
1 5

50 <210> 286
<211> 5
<212> PRT
55 <213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 286
 5
Asn His Gln His Thr
1 5

<210> 287
 <211> 5
 10 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 15 <400> 287

Lys Arg Phe Val Asp
1 5

20 <210> 288
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

25 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 288

His His Glu Pro Leu
1 5

30 <210> 289
 <211> 5
 <212> PRT
 35 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 40 <400> 289

Pro Lys Met Pro Tyr
1 5

45 <210> 290
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 50 <400> 290

Pro Lys Asp His Glu
1 5

ES 2 609 359 T3

<210> 291
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 10 <400> 291

Ala Lys Gly Ser Ile
1 5

 <210> 292
 15 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 20 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 292

Glu Asp Pro Glu Met
1 5

 25 <210> 293
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 30
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 293
 35
Glu Phe Asp His Gln
1 5

 <210> 294
 <211> 5
 40 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 45
 <400> 294

Asn Glu Lys Gln Asp
1 5

 50 <210> 295
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 55
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

 <400> 295

ES 2 609 359 T3

Ala Pro His Tyr Tyr
1 5

5 <210> 296
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 296

Pro Gln Leu His Leu
1 5

15 <210> 297
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 297

25

Asn Trp Arg Ala Glu
1 5

30 <210> 298
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

35 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 298

Asn Asn Gln Tyr Lys
1 5

40 <210> 299
<211> 4
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA170ff

<400> 299

Arg Ser Ile His
1

50

<210> 300
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 300
5
Arg Asp Arg Ile Met
1 5

<210> 301
<211> 5
10 <212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
15
<400> 301

Tyr Gly Lys Gly His
1 5

20 <210> 302
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

25 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 302

Gly Lys Gly Gly Lys
1 5

30 <210> 303
<211> 5
<212> PRT
35 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 303
40

Arg His Ile Gly Lys
1 5

45 <210> 304
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
50
<400> 304

Gln Tyr Thr Tyr His
1 5
55

ES 2 609 359 T3

5 <210> 305
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

10 <400> 305

Leu His Ser His Val
1 5

15 <210> 306
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

20 <400> 306

Ala Arg Asp Lys Arg
1 5

25 <210> 307
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 307

Glu His Lys Lys Thr
1 5

35 <210> 308
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

45 <400> 308

Met Asp Glu Val Pro
1 5

50 <210> 309
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

55 <400> 309

ES 2 609 359 T3

	Gln	Asp	Trp	Gln	Arg
	1				5
5	<210> 310				
	<211> 5				
	<212> PRT				
	<213> artificial				
10	<220>				
	<223> Secuencia bucle CD AA169ff				
	<400> 310				
		Pro	Ser	Asp	Arg
		1			5
15	<210> 311				
	<211> 5				
	<212> PRT				
	<213> artificial				
20	<220>				
	<223> Secuencia bucle CD AA169ff				
	<400> 311				
		Gln	Asn	Thr	Arg
		1			5
25	<210> 312				
	<211> 5				
	<212> PRT				
30	<213> artificial				
	<220>				
	<223> Secuencia bucle CD AA169ff				
35	<400> 312				
		Asp	Glu	Gly	Leu
		1			5
40	<210> 313				
	<211> 5				
	<212> PRT				
	<213> artificial				
45	<220>				
	<223> Secuencia bucle CD AA169ff				
	<400> 313				
		Trp	Pro	Asn	Met
		1			5
50	<210> 314				
	<211> 5				
	<212> PRT				
55	<213> artificial				

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 314
 5
 Met Thr Gly Arg Val
 1 5
 <210> 315
 <211> 5
 10 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 15 <400> 315
 Gly Lys Tyr Asn Ile
 1 5
 <210> 316
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 20
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 25 <400> 316
 Asn Ala Tyr Leu Leu
 1 5
 <210> 317
 <211> 5
 <212> PRT
 35 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 40 <400> 317
 Ala Gln Tyr Asn Val
 1 5
 <210> 318
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 45
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 50 <400> 318
 Asn Gln Val Met Thr
 1 5
 55 <210> 319

ES 2 609 359 T3

<211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 319
 Val Val His Asp Thr
 10 1 5
 <210> 320
 <211> 5
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 20 <400> 320
 Asn Ile Trp His Gln
 1 5
 <210> 321
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 30 <400> 321
 Gln Trp Gly Asn Met
 1 5
 35
 <210> 322
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 322
 45
 Met His Val Lys Ser
 1 5
 <210> 323
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 50
 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 55 <400> 323

ES 2 609 359 T3

Glu Tyr Thr Val Val
1 5

5 <210> 324
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 324

Gly Pro Tyr Gln Asp
1 5

15 <210> 325
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 325

Gln Gly Val Leu Glu
1 5

25 <210> 326
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
35 <400> 326

Gln Gln Pro Gly Val
1 5

40 <210> 327
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff
<400> 327

Asn Gln Val Arg Gly
1 5

50 <210> 328
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 5 <400> 328

 Val Pro His Val Leu
 1 5

 <210> 329
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 15 <400> 329

 Asp Gly Arg Lys Gln
 1 5

 20 <210> 330
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 25 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 330
 30
 Asn Ala Ser Phe Glu
 1 5

 <210> 331
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 35 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 40 <400> 331

 Lys Lys Arg Val Val
 1 5

 45 <210> 332
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> Secuencia bucle CD AA169ff
 <400> 332

 Lys Gly Ile Lys Lys
 1 5
 55

ES 2 609 359 T3

5 <210> 333
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

10 <400> 333

Pro Met Gly Met Gly
1 5

15 <210> 334
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

20 <400> 334

Pro Met Gly Lys Tyr
1 5

25 <210> 335
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

30 <400> 335

35 <400> 335

Arg Gly Ile Ala Lys
1 5

40 <210> 336
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

45 <400> 336

Leu Trp Gly Gly Met
1 5

50 <210> 337
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

55 <400> 337

ES 2 609 359 T3

Asn Ala His Tyr Ile
1 5

5 <210> 338
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

<220>
10 <223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 338

Ser Gly Thr Arg Leu
1 5

15 <210> 339
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle CD AA169ff

<400> 339

Asn Leu Gly Pro Glu
1 5

25

30 <210> 340
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

<220>
35 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 340

Pro Gln Thr Pro Pro Ser Gln
1 5

40 <210> 341
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 341

Pro Pro Ser Pro Pro Arg Thr
1 5

50

55 <210> 342
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

5 <400> 342

Pro Trp Val Arg Trp Met Gln
 1 5

10 <210> 343
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

15 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 343

Ser Arg Ala Arg Trp Arg His
 1 5

20 <210> 344
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

25 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 344

30 <210> 345
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

35 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 345

Pro Arg Trp Lys Met
 1 5

45 <210> 346
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

50 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 346

Lys Arg Tyr Asn Pro Arg Met Val Arg Trp Ala His
 1 5 10

55

ES 2 609 359 T3

<210> 347
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 347
 10
 Pro Gln Ser Arg Trp Tyr Asn
 1 5
 <210> 348
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 20
 <400> 348
 Pro Trp Ser Arg Trp Arg Leu
 1 5
 25
 <210> 349
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 30
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 349
 Pro Gln Lys Arg Trp Arg Ser
 1 5
 35
 <210> 350
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 45
 <400> 350
 Pro Trp Val Arg Trp Leu Gln
 1 5
 50
 <210> 351
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 55
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 351

ES 2 609 359 T3

Glu Leu Glu Gly Glu Glu Gln
1 5

5 <210> 352
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 352

Asn Arg Ser Arg Trp Gln Gln
1 5

15 <210> 353
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 353

Lys Lys Lys Lys Leu Lys Gln
1 5

25 <210> 354
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
35 <400> 354

Lys Lys Lys Gln Leu Lys Lys
1 5

40 <210> 355
<211> 9
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 355

Gln Gln Lys Lys Arg Lys Lys Lys Lys
1 5

50 <210> 356
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

55 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 356

5 Pro Pro Pro Leu Cys Ala Pro
1 5

<210> 357

<211> 7

<212> PRT

10 <213> artificial

<220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 357

Ser Leu Asn Arg Trp Lys Arg
1 5

<210> 358

20 <211> 7

<212> PRT

<213> artificial

<220>

25 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 358

Lys Asn Lys Lys Lys Arg Lys
1 5

30 <210> 359

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial

35 <220>

<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 359

40 <210> 360

Lys Lys Lys Lys Ile Lys Lys
1 5

<211> 7

45 <212> PRT

<213> artificial

<220>

50 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 360

Lys Lys Lys Lys Met Lys Lys
1 5

55 <210> 361

ES 2 609 359 T3

<211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 361

Lys Arg Lys Lys Leu Lys Lys
 1 5
 10
 <210> 362
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 20 <400> 362

Arg Glu Arg Glu Trp Arg Lys
 1 5
 25
 <210> 363
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 363

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 1 5
 35
 <210> 364
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 364
 45

Pro Leu Arg Leu Pro Pro Met
 1 5
 50
 <210> 365
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 55 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 365

ES 2 609 359 T3

Pro Arg Ser Asn Trp Tyr Gly Asn Arg Trp Arg Arg
 1 5 10

5 <210> 366
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 366

Thr Pro Gly Asn Leu Ala Leu
 1 5

15 <210> 367
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 367

Ser Arg Glu Asp Phe Arg Ala
 1 5

25 <210> 368
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 35 <400> 368

Leu Val Ser Ile Ser Val Gly
 1 5

40 <210> 369
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 369

Pro Ser Arg Arg Trp Arg Glu
 1 5

50 <210> 370
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

5 <400> 370

Asp Arg Arg Arg Trp Thr Ala
1 5

<210> 371
<211> 7
10 <212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15 <400> 371

Asp Leu Gln Asp Lys Lys Tyr
1 5

20 <210> 372
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

25 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 372

Ile Ser Val Pro Pro Asp Glu
1 5

30 <210> 373
<211> 7
<212> PRT
35 <213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

40 <400> 373

Thr Gly Pro Asp Ile Thr Val
1 5

45 <210> 374
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

50 <400> 374

Ile Val Leu Ser Gly Phe Arg
1 5

55

ES 2 609 359 T3

<210> 375
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial
5
<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
10
<400> 375
Met Gly Ile His Asn Ile Asn
1 5

<210> 376
<211> 7
15
<212> PRT
<213> artificial
20
<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
20
<400> 376
Met Lys Gln Asp Glu Met Ala
1 5

<210> 377
<211> 7
25
<212> PRT
<213> artificial
30
<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
30
<400> 377
Pro Gln Trp Arg Leu Gln Trp
1 5

<210> 378
<211> 7
40
<212> PRT
<213> artificial
45
<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
45
<400> 378
His Arg Arg Leu Val Ala Arg
1 5

<210> 379
<211> 7
50
<212> PRT
<213> artificial
55
<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
55
<400> 379

ES 2 609 359 T3

Lys Gln Asn Leu Arg Arg Lys
1 5

5 <210> 380
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 380

Ser Arg Ser Arg Leu His Gly Asn Arg Trp Arg Arg
1 5 10

15 <210> 381
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 381

Asn Arg Glu Arg Trp Arg Arg
1 5

30 <210> 382
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

35 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 382

Thr Trp Val Arg Trp Met Gln
1 5

40 <210> 383
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 383

Pro His Trp Gln Trp Lys Trp
1 5

50 <210> 384
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

5 <400> 384

Ser Lys Lys Lys Leu Arg Lys
1 5

10 <210> 385
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

15 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 385

Pro Trp Lys Arg Leu Arg Lys
1 5

20 <210> 386
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

25 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 386

30 **Thr Gln Lys Arg Trp Arg Ser**
1 5

35 <210> 387
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

40 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 387

Asn Arg Lys His Leu Arg Ala
1 5

45 <210> 388
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 388

ES 2 609 359 T3

Thr Arg Arg Arg Trp Thr Arg
1 5

5 <210> 389
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 389

Asp His Arg Arg Ile Asn Arg
1 5

15 <210> 390
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 390

Lys Lys Lys Lys Tyr His Lys
1 5

25 <210> 391
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

30 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 391

Gln Lys Lys Lys Leu Lys Lys
1 5

40 <210> 392
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 <400> 392

Pro Gln Lys Lys Leu Arg Lys
1 5

50 <210> 393
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 393

5

Asp Lys Arg Gly Ile Arg Lys
1 5

<210> 394
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

10

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

15

<400> 394

Glu Lys Lys Arg Trp Lys Glu
1 5

<210> 395
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

20

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

25

<400> 395

Thr Ser Arg Arg Trp Arg Glu
1 5

30

<210> 396
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

35

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

40

<400> 396

Lys Lys Glu Lys Leu Arg Lys
1 5

<210> 397
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

45

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

50

<400> 397

Lys Lys Lys Lys Leu Lys Lys
1 5

ES 2 609 359 T3

<400> 402

Pro Trp Trp Gln Phe Arg Gln
1 5

5 <210> 403
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> artificial

10 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 403

Asp Gln Ser Lys Leu Ser Ser Leu Arg Trp Lys Lys
1 5 10

15 <210> 404
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

20 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

25 <400> 404

Pro Asn Glu Lys Leu Lys Lys
1 5

30 <210> 405
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

35 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 405

Pro Leu Ser Arg Trp Lys Arg
1 5

40 <210> 406
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

45 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 406

50 **Thr Gln Asn Gln Ile Lys Lys**
1 5

55 <210> 407
 <211> 7
 <212> PRT

ES 2 609 359 T3

<213> artificial

<220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

5 <400> 407

Asp Arg Glu Arg Trp Arg Arg
1 5

10 <210> 408
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

15 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 408

Ala Arg Ser Arg Trp Arg Lys
1 5

20 <210> 409
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

25 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

30 <400> 409

Pro Lys Lys Arg Leu Arg Arg
1 5

35 <210> 410
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

40 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 410

Lys Asn Lys Lys Arg Lys Lys
1 5

45 <210> 411
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

50 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 411

55

ES 2 609 359 T3

Asn Thr Lys Lys Leu Lys Lys
1 5

5 <210> 412
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 412

Asn Arg Lys Arg Ile Arg Lys
1 5

15 <210> 413
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 413

Ser Arg Lys Arg Phe Arg Ser
1 5

25 <210> 414
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

30 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 414

Pro Phe Arg Arg Trp Val Lys
1 5

40 <210> 415
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

45 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 415

Asn Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5

50 <210> 416
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial

55

ES 2 609 359 T3

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 416
 5

 Asn Gly Lys Arg Leu His Ser
 1 5

 <210> 417
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 15
 <400> 417

 Pro Lys Trp Leu Trp His Gln
 1 5

 20 <210> 418
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

 <400> 418

 Pro Trp Trp Lys His His Val
 1 5
 30

 <210> 419
 <211> 7
 <212> PRT
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 40
 <400> 419

 Pro Asn Trp Lys Tyr Gln Trp
 1 5

 <210> 420
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 45

 <220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff
 50
 <400> 420

 Pro Gln Arg Lys Val Ala Pro
 1 5
 55
 <210> 421

ES 2 609 359 T3

<211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 421

Pro Trp Tyr Lys Val Leu Met
 1 5

10

<210> 422
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

15

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

20

<400> 422

Asp Arg Lys Trp Trp Thr Phe
 1 5

25

<210> 423
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

30

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 423

Pro Arg His Glu Trp Val Met
 1 5

35

<210> 424
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

40

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 424

45

Pro Trp Ser Arg Trp Met Gln
 1 5

50

<210> 425
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial

55

<220>
 <223> Secuencia bucle EF AA198ff

<400> 425

ES 2 609 359 T3

Ser Arg Ala Arg Trp Leu His
1 5

5 <210> 426
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

10 <220>
<223> Secuencia bucle EF AA198ff
<400> 426

Asn Arg Ser Arg Leu His Gly Asn Arg Trp Arg Arg
1 5 10

15 <210> 427
<211> 5473
<212> ADN
<213> artificial

20 <220>
<223> plásmido pYD1dX_dCH1dCH3_Fcab_wt
<400> 427

acggattaga agccgccgag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctccgcgccg actgctccga 120
acaataaaga ttctacaata ctagcttita tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
ttagtTTTTT agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420

25

ES 2 609 359 T3

ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
tacttcgctg tttttcaata ttttctgta ttgcttcagt ttagcacag gaactgacaa 600
ctatatgcca gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
ctactatfff ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aaatcagtaa 720
cgtttgtcag taattgcggt tctcaccctt caacaactag caaaggcagc cccataaaca 780
cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggtt 840
ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
acgatgacga taaggtacca ggatccgagc ccaagagcag cgacaagaca cacacgtgtc 960
ccccatgtcc cgcccctgag ctgctggggc gcccttccgt gttcctgttc cctcccaagc 1020
caaaggacac cctgatgatc tcccggacc ctagggtgac ctgtgtggtg gtggacgtga 1080
gccacgagga cccagaggtg aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaacg 1140
ccaagaccaa gcctagagag gagcagtaca acagcaccta ccgctggtg agcgtgctga 1200
ccgtgctgca ccaggattgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaagggt agcaacaagg 1260
ccctgcctgc ccccatcgag aagaccatct ccaaggccaa gggccagcct cgagaaggta 1320
agcctatccc taaccctctc ctcggtctcg attctacgag taccggtcat catcaccatc 1380
accattgagt ttaaaccgcg tgatctgata acaacagtgt agcggccgct cgatcgagtc 1440
tagagggccc ttcgaaggta agcctatccc taaccctctc ctcggtctcg attctacgag 1500
taccggtcat catcaccatc accattgagt ttaaaccgcg tgatctgata acaacagtgt 1560
agatgtaaca aaatcgactt tgttcccact gtacttttag ctctgtaaaa atacaatata 1620
cttttcattt ctccgtaaac aacatgtttt cccatgtaat atccttttct atttttcgtt 1680
ccgttaccaa ctttacacat actttatata gctattcact tctatacact aaaaaactaa 1740
gacaatttta attttgctgc ctgccatatt tcaatttggt ataaattcct ataatttatc 1800
ctattagtag ctaaaaaaag atgaatgtga atcgaatcct aagagaattg ggcaagtgca 1860
caaacaatac ttaaataaat actactcagt aataaocctat ttcttagcat ttttgacgaa 1920
atgtgctatt ttgttagagt cttttacacc atttgtctcc acacctccgc ttacatcaac 1980
accaataacg ccatttaatc taagcgcac accaacatft tctggcgtca gtccaccagc 2040
taacataaaa tgtaagctct cggggctctc ttgccttcca acccagtcag aaatcgagtt 2100
ccaatccaaa agttcacctg tcccacctgc ttctgaatca aacaaggaa taaacgaatg 2160
aggtttctgt gaagctgcac tgagtatgat gttgcagtct ttggaaata cgagctcttt 2220
aataactggc aaaccgagga actcttggtt ttcttgccac gactcatctc cgtgcagttg 2280
gacgatatca atgccgtaat cattgaccag agccaaaaca tctccttag gttgattacg 2340

ES 2 609 359 T3

aaacacgcc aaccaagtatt tcggagtgcc tgaactatth ttatatgctt ttacaagact 2400
 tgaaatthtc cttgcaataa ccgggtcaat tgttctcttt ctattgggca cacatataat 2460
 acccagcaag tcagcatcgg aatctagagc acattctcgc gcctctgtgc tctgcaagcc 2520
 gcaaactthc accaatggac cagaactacc tgtgaaatta ataacagaca tactccaagc 2580
 tgccthtgtg tgcttaatca cgtatactca cgtgctcaat agtcaccaat gccctccctc 2640
 ttggccctct cctthtcttt thctgaccga atthcttgaa gacgaaaggc cctcgtgata 2700
 cgcctattht tataggthaa tgtcatgata ataatgtht cttaggacgc atcgttgcc 2760
 tgtaacttac acgcgcctcg tatctthtaa tgatggaata atthgggaat ttactctgtg 2820
 thtatttatt thtatgtht gtatthgat thtagaaagt aaataaagaa ggtagaagag 2880
 ttacggaatg aagaaaaaaa aataaaciaa gththtaaaa atthcaacia aaagcgtact 2940
 ttacatata atthattaga caagaaaagc agattaaata gatatacatt cgattaacga 3000
 taagtaaaat gtaaaatcac aggaththcgc tgtgtggtct tctacacaga caagatgaaa 3060
 caathcggca thataacctg agagcaggaa gagcaagata aaaggtagta thtghtggcg 3120
 atccccctag agtctthtac atctcggaa aacaaaaact atththtctt taathtctth 3180
 ththactthc thththtaat thtatattht atathaaaa atthaaatta taaththth 3240
 tatagcacgt gatgaaaagg acccaggtgg cactthtctg ggaaatgtgc gcggaacccc 3300
 ththtghtta thththctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaacctg 3360
 ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc 3420
 ccttattccc thththtggg cattthtgcct tctgtththt gctcaccag aaacgctggt 3480
 gaaagtaaaa gatgctgaag atcagthggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct 3540
 caacagcggg aagatcctg agagththcgc cccggaagaa cgtththcaa tgatgagcac 3600
 ththaaagth ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtgtt gacgccgggc aagagcaact 3660
 cggctgcgcc atacactatt ctcaaatga cthgthttag tactcaccag tcacagaaaa 3720
 gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga 3780
 taacactgcg gccaaacttac thctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgctth 3840
 thtgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga 3900
 agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgthtgcg 3960
 caaactatta actggogaac tacttactct agcttcccg caacaattaa tagactggat 4020
 ggaggcggat aaagthtgcg gaccacttct gcgctcggcc cthcggctg gctgththt 4080
 tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc 4140
 agatggtaag cctcccgta tcgtagtht ctacacgacg ggcagtcagg caactatgga 4200

ES 2 609 359 T3

tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc 4260
 agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaaag 4320
 gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atccctaac gtgagttttc 4380
 gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt 4440
 tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt 4500
 gccgatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtact ggcttcagca gagcgcagat 4560
 accaaatact gtccttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc 4620
 accgcctaca tacctcgctc tgctaactct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa 4680
 gtcgtgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg 4740
 ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag 4800
 atacctacag cgtgagcatt gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa aggcggacag 4860
 gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc caggggggaa 4920
 cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt 4980
 gtgatgctcg tcaggggggc cgagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg ccttttttacg 5040
 gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc 5100
 tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgcgcga gccgaacgac 5160
 cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgc aaccgcctct 5220
 ccccgcgcgt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc 5280
 gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttacctcact cattaggcac ccaggcttt 5340
 acactttatg cttccggctc ctatgttggtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac 5400
 aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa gctcgggaatt aaccctcact aaaggaaca 5460
 aaagctggct agt 5473

<210> 428
 <211> 5677
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> PYD1dX_dCH1_Fcab_wt

10

<400> 428

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctgcgcgccg actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcagatgatt tttgatctat 300

ES 2 609 359 T3

taacagatat ataatgcaa aaactgcata accactttaa ctaatacttt caacattttc 360
 ggtttgtatt acttcttatt caaatgtaat aaaagtatca acaaaaaatt gttaatatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcactat agggaatatt aagctaattc tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg tttttcaata ttttctgtta ttgcttcagt ttttagcacag gaactgacaa 600
 ctatatgoga gcaaatcccc tcaccaactt tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
 ctactatfff ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aaatcagtaa 720
 cgtttgtcag taattgcggt tctcaccctt caacaactag caaaggcagc cccataaaca 780
 cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggtt 840
 ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
 acgatgacga taaggtacca ggatccgagc ccaagagcag cgacaagaca cacacgtgtc 960
 ccccatgtcc cgcccctgag ctgctggggc gcccttcogt gttcctgttc cctcccaagc 1020
 caaaggacac cctgatgatc tcccggacct ctgaggtgac ctgtgtggtg gtggacgtga 1080
 gccacgagga cccagaggtg aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaacg 1140
 ccaagaccaa gcctagagag gagcagtaca acagcaccta ccgcgtggtg agcgtgctga 1200
 ccgtgctgca ccaggattgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtg agcaacaagg 1260
 ccctgcctgc ccccatcgag aagaccatct ccaaggccaa gggccagcct cgagaaccac 1320
 aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct 1380
 gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc 1440
 cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttctct 1500
 acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggacgcaggg gaacgtcttc tcatgctccg 1560
 tgatgcatga ggctctgcac aacctacta cacagaagag cctctccctg tctccgggta 1620
 aatgagcggc cgctcgatcg agtctagagg gcccttcgaa ggtaagccta tccctaacc 1680
 tctcctcggc ctcgattcta cgcgtaccgg tcatcatcac catcaccatt gagtttaaac 1740
 ccgtgatct gataacaaca gtgtagatgt aacaaaatcg actttgttcc cactgtactt 1800
 ttagctcgta caaaatacaa tatacttttc atttctcogt aaacaacatg ttttcccatg 1860
 taatatcctt ttctatffff cgttccgta ccaactttac acatacttta tatagctatt 1920
 cacttctata cactaaaaa ctaagacaat ttttaatttg ctgcctgcca tatttcaatt 1980
 tgttataaat tcctataatt tctctatta gtagctaaaa aaagatgaat gtgaatcgaa 2040
 tcctaagaga attgggcaag tgcacaaaca atacttaaat aaatactact cagtaataac 2100
 ctatftctta gcatttttga cgaaatttgc tattttgtta gagtctttta caccatttgt 2160

ES 2 609 359 T3

ctccacacct ccgcttacat caacaccaat aacgccatth aatctaagcg catcaccaac 2220
atthttctggc gtcagttccac cagctaacat aaaatgtaag ctctcggggc tctcttgctt 2280
tccaaccagc tcagaaatcg agttccaatc caaaagtcca cctgtcccac ctgcttctga 2340
atcaaacaag ggaataaacg aatgaggtht ctgtgaagct gcaactgagta gtatgttgca 2400
gtctthttgga aatacagatc thtttaataac tggcaaaccg aggaactctt ggtattcttg 2460
ccacgactca tctccgtgca gttggacgat atcaatgccg taatcattga ccagagccaa 2520
aacatcctcc ttaggttgat tacgaaacac gccaaccaag tathctggag tgcctgaact 2580
atthtttatat gctthttcaa gacttgaaat thtcttgca ataaccgggt caattgttct 2640
ctthctattg ggcacacata taataaccag caagtcajca tcggaatcta gagcacattc 2700
tgccggctct gtgctctgca agccgcaaac thtccaat ggaccagaac tacctgtgaa 2760
attaataaca gacatactcc aagctgcctt tgtgtgctta atcaagtata ctcaagtgtt 2820
caatagtcac caatgccctc cctcttgccc ctctccttht cthttttcga ccgaatttct 2880
tgaagacgaa agggcctcgt gatacgccta thtttatagg ttaatgtcat gataataatg 2940
gtthcttagg accgatcgtt tgctgtaac ttacacgggc ctctgatctt ttaatgatgg 3000
aataatttgj gaatttactc tgtgtthatt thttthtatg thttgtattt ggattthtaga 3060
aagtaataa agaaggtaga agagttaccg aatgaagaaa aaaaaataa caaaggttha 3120
aaaaatttca acaaaaagcg tactthacat ataththtat tagacaagaa aagcagatta 3180
aatagatata cattcgatta acgataagta aatgtaaaa tcacaggatt thctgtgtgtg 3240
gtctthctaca cagacaagat gaaacaattc ggcattaata cctgagagca ggaagagcaa 3300
gataaaaggt agtatttgth ggcgatcccc cttagagtctt thacatcttc ggaaaacaaa 3360
aactaththt ththtaattt cthththttac thtctathth taaththtat aththtatta 3420
aaaaatttaa attataatta thththtatgc acgtgatgaa aaggaccag gtggcactth 3480
tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg ththththth taaatacatt caaatatgta 3540
tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa thttgaaaa ggaagagtat 3600
gagtattcaa catttccgtg tcgcccttat thcctththth gcggcattth gcttctctgt 3660
thttgctcac ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg 3720
agtggtttac atcgaactgg atctcaacag ccgtaaagatc cttagagatt thcgcctcca 3780
agaacgthth ccaatgatga gcactththaa agthctgcta tgtggcggg ththtctccg 3840
tgttgacgcc gggcaagagc aactcggthc ccgcatacac ththctcaga atgacttggt 3900
tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg 3960
cagtgtctcc athaacatga gtgataacac tgcggccaac ththctctga caacgatcgg 4020
aggaccgaag gagctaacg cththththth caacatgggg gatcatgtaa ctgccttga 4080

ES 2 609 359 T3

tcgttgggaa cgggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc 4140
 tgtagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta ctctagcttc 4200
 ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc 4260
 ggcccttccg gctggtcgtt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg 4320
 cggtatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac 4380
 gacgggcagt caggcaacta tggatgaacg aaatagacag atcgctgaga taggtgcctc 4440
 actgattaag cattggtaac tgtcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt 4500
 aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac 4560
 caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa 4620
 aggatcttct tgagatcctt tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc 4680
 accgctacca gcggtggttt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt 4740
 aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgtcctt ctagtgtagc cgtagttagg 4800
 ccaccacttc aagaactctg tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa tctgttacc 4860
 agtggctgct gccagtggcg ataagtctgt tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt 4920
 accggataag gcgcagcggc cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc ccagcttggg 4980
 gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag cattgagaaa gcgccacgct 5040
 tcccgaaggg agaaaggcgg acaggatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg 5100
 cacgagggag cttccagggg ggaacgectg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca 5160
 cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgctcaggg gggccgagcc tatggaaaaa 5220
 cgccagcaac gcggcctttt tacggttcct ggcccttttg tggccttttg ctcacatggt 5280
 ctttctgcg ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga 5340
 taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg cagcagatca gtgagcagag aagcgggaaga 5400
 gcgcccataa cgaaaaccgc ctctccccgc gcgttggecg attcattaat gcagctggca 5460
 cgacaggttt cccgactgga aagcgggcag tgagcgcgaa gcaattaatg tgagttacct 5520
 cactcattag gcaccccagg ctttacactt tatgcttccg gctcctatgt tgtgtggaat 5580
 tgtgagcggg taacaatttc acacaggaaa cagctatgac catgattacg ccaagctcgg 5640
 aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggctagt 5677

<210> 429
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

5

<220>
 <223> Cebador CH3seqs/2

10

<400> 429

ES 2 609 359 T3

aaggagtaca agtgcaagg 19

5 <210> 430
<211> 16
<212> ADN
<213> artificial

10 <220>
<223> Cebador CDmut_back

<400> 430
gctctccac tccacg 16

15 <210> 431
<211> 21
<212> ADN
<213> artificial

20 <220>
<223> Cebador EFmut_back

<400> 431
cacggtgagc ttgctgtaga g 21

25 <210> 432
<211> 16
<212> ADN
<213> artificial

30 <220>
<223> Cebador ABMUT5/2_back

35 <400> 432
ctcatcccgg gatggg 16

40 <210> 433
<211> 48
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador CDmut5cod_for

45 <220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(30)
<223> n es a, c, g o t

50 <400> 433
gtggagtggg agagcnnnnn nnnnnnnnnn aacaactaca agaccacg 48

55 <210> 434
<211> 54
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> Cebador EFMUT7cod_for

60 <220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(36)
<223> n es a, c, g o t

65 <400> 434
agcaagctca ccgtnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnggga acgtcttctc atgc 54

ES 2 609 359 T3

<210> 435
 <211> 54
 <212> ADN
 5 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador EFMUT3+2_for

 10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(24)
 <223> n es a, c, g o t

 15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(36)
 <223> n es a, c, g o t

 20 <400> 435
 agcaagctca ccgtgnnnnn nnnnagggtgg nnnnnnggga acgtctctc atgc 54

 <210> 436
 <211> 49
 25 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador ABMUT5 (wt)_for

 30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(30)
 <223> n es a, c, g o t

 35 <400> 436
 ccatcccggg atgagnnnnn nnnnnnnnnn gtcagcctga cctgcctgg 49

 <210> 437
 <211> 17
 40 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador CH3seqAS

 45 <400> 437
 tagaatcgag accgagg 17

 50 <210> 438
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

 55 <220>
 <223> Cebador YCH3.25rec.opt.for

 <400> 438
 60 accatctcca aggccaagg 19

 <210> 439
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> artificial

 65 <220>

ES 2 609 359 T3

<223> Cebador Ych3.25rec.back

<400> 439
aagggcctc tagactcg

18

5

1

REIVINDICACIONES

1. Anticuerpo modular citotóxico con un peso molecular de hasta 60 kD, que se une específicamente a Her2 humano con una afinidad de unión de $K_d < 10^{-8}$ M, donde el anticuerpo comprende un fragmento de cadena pesada de IgG1 humana que comprende un dominio CH2 y un dominio CH3 y donde el anticuerpo contiene un sitio de unión que se une específicamente a Her2 creado por ingeniería genética en una región bucle estructural del dominio CH3 y que contiene las secuencias de aminoácidos de SEQ ID No.: 191, 241 y 370, donde la SEQ ID No.: 191 está contenida dentro del bucle AB, la SEQ ID No.: 241 está contenida dentro del bucle CD y la SEQ ID No.: 370 está contenida dentro del bucle EF de la región bucle estructural.
2. Anticuerpo modular de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene al menos una de citotoxicidad mediada por célula y dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) o actividad apoptótica.
3. Anticuerpo modular de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene actividad apoptótica.
4. Anticuerpo modular de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho anticuerpo es un Fc de unión a antígeno.
5. Anticuerpo modular de la reivindicación 4, donde dicho anticuerpo es un Fc de unión a antígeno de IgG1.
6. Anticuerpo modular de combinación que comprende un anticuerpo modular de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que además está combinado con uno o más anticuerpos modulares modificados o con anticuerpos modulares no modificados o partes de los mismos.
7. Anticuerpo modular de combinación de acuerdo con la reivindicación 6, que es una molécula de anticuerpo completo.
8. Un anticuerpo modular de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el anticuerpo modular es una proteína de fusión en la que un dominio del anticuerpo modular está fusionado a una o más proteínas distintas.
9. Un anticuerpo modular de acuerdo con la reivindicación 8, donde la proteína fusionada al anticuerpo modular se selecciona del grupo que consiste en otros anticuerpos modulares, inmunoglobulinas, ligandos, proteínas almacén, enzimas y toxinas.
10. Anticuerpo modular de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en terapia.
11. Anticuerpo modular de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para uso en el tratamiento de un paciente que padece un tumor sólido, tumor que expresa un receptor de la clase erbB, donde el receptor es Her2.
12. Anticuerpo modular para uso de acuerdo con las reivindicaciones 10 u 11, donde el anticuerpo modular se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos.
13. Anticuerpo modular para uso de acuerdo con las reivindicaciones 10 u 11, donde el anticuerpo modular se administra concomitantemente con uno o más regímenes terapéuticos distintos.
14. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo modular de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
15. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14, que comprende un anticuerpo modular de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales.
16. Una composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 14 o 15, donde la composición farmacéutica comprende además un vehículo, un excipiente o un estabilizante farmacéuticamente aceptables.
17. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, donde la composición farmacéutica es una formulación liofilizada o una solución acuosa.
18. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, donde la composición farmacéutica es para administración oral, subcutánea, intravenosa, intranasal, intraóptica, transdérmica, mucosal, tópica, intraperitoneal, intramuscular, intrapulmonar, vaginal, parenteral, rectal o intraocular.
19. Una molécula de ácido nucleico que contiene una secuencia que codifica un anticuerpo modular de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y secuencias de control en unión operativa, donde los hospedadores transformados o transfectados con dichas secuencias son capaces de producir el anticuerpo modular codificado.

20. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 19.

Figura 1:

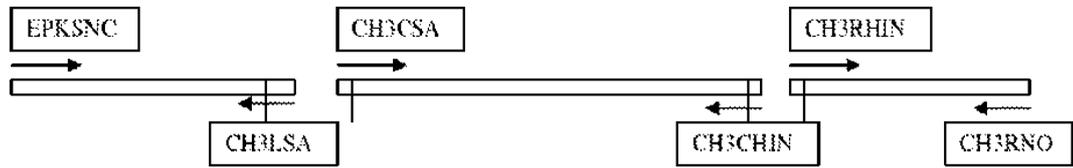
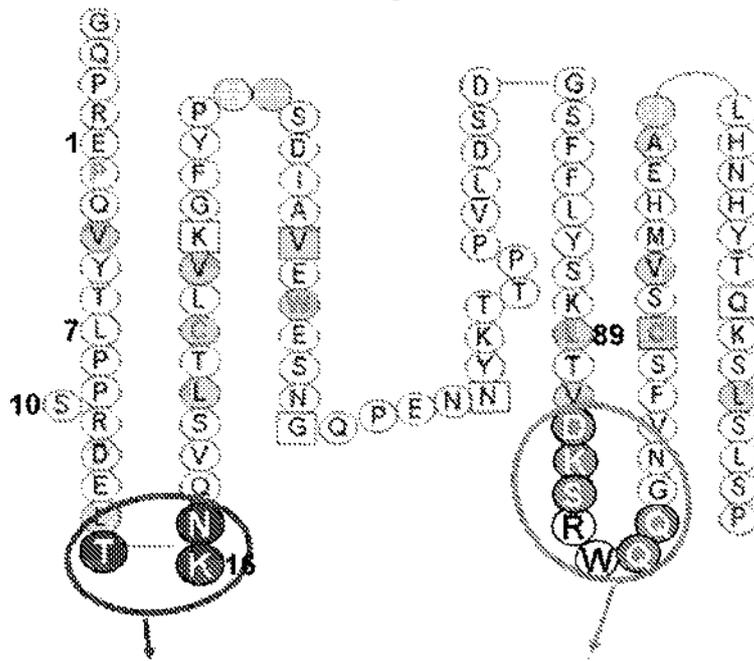


Figura 2:



Wt.	T K N		D K S	R W	Q Q
Fcab01	x x x		x x x x x x x x x	R W	x x
Fcab02	z z z		z z z z z z z z z	R W	z z
Fcab03	x x x	G S	x x x x x x x x x S G	R W	x x
Fcab04	z z z	G S	z z z z z z z z z S G	R W	z z
Fcab05	z x x x z		x x x x x x x x x	R W	x x
Fcab06	z z z z z		z z z z z z z z z	R W	z z

Figura 3 (SEQ ID No.1): Estructura cristalina de un fragmento Fc de IgG1

EPKSCDKTHT	CPPCPAPELL	GGPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN	KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE	PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QPENNYKTFP	180
PVLDSGDSFF	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFS	SVMHEALHNN	YTQKSLSLSP	GK	232

Figura 4 (SEQ ID No.2): IgG humana que incluye modificaciones de aminoácidos aleatorizadas

EPKSCDKTHT	CPPCPAPELL	GGPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN	KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE	PQVYTLPPSR	DELXXXQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QPENNYKTFP	180
PVLDSGDSFF	LYSKLTVXXX	XXXXXRWXXG	NVFSCSVME	ALHNHYTQKS	LSSLSPGK	237

Figura 5 (SEQ ID No.11): Secuencia de aminoácidos de FcabRGD4L

EPKSCDKTHT	CPPCPAPELL	GGPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVE	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN	KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE	PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QPENNYKTFP	180
PVLDSGDSFF	LYSKLTVGCR	GDCLSRWQQG	NVFSCSVME	ALHNHYTQKS	LSSLSPGKEGG	240
GSAAAEQKLI	SEEDLNGAAT	VESCLAKPHT	ENSFTNVWKD	DKTLDRYANY	EGCLWNATGV	300
VVCTODETQC	YGTWVPICLA	IPENEGGSE	GGSEGGGSE	GGCTKPPEYG	DTPIPCYTYI	360
NPLDGYTPPG	TEQNPNPNP	SLEESQPIINT	FMFQNNRFRN	RQGALTYVTG	TVTQGTDFVK	420
TYYYQYTPVSS	KAMYDAYWNG	KFRDCAFHSG	FNEDEFVCEY	QGQSSDLPQP	FVNAGGSGG	480
SGGGSEGGG	SEGGGSEGGG	SEGGGSGGG	SGGDFDYEKM	ANANKGAMTE	NADENALQSD	540
AKGKLDVSAT	DYGAAIDGFI	GDVSGLANGN	GATGDFAGSN	SQMAQVGDGD	NSPLMNNFRQ	600
YLPSLPQSVE	CRPYVFGAGK	PYEFSDCDK	INLFRGVFAF	LLYVATFMYV	FSTFANILHK	660
ES						662

Figura 6 (SEQ ID No.12): Vector pHENFcabRGD4

gacgaagg	ccctgtgata	cgcctatatt	tataggttaa	tgctcatgata	ataatggttt	60
cttagacgtc	aggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	aaccctatt	tgttatattt	120
tctaaataca	ttcaaatatg	tatccgctca	tgagacaata	accctgataa	atgcttcaat	180
aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtattc	aacatttccg	tgctgccctt	attccctttt	240
ttgcggcatt	ttgccttcct	gtttttgctc	accagaaac	gctggtgaaa	gtaaagatg	300
ctgaagatca	gttgggtgca	cgagtgggtt	acatcgaact	ggatctcaac	agcggtaaga	360
tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacgtt	ttccaatgat	gagcactttt	aaagtctctg	420
tatgtggcgc	ggtattatcc	cgtattgacg	ccgggcaaga	gcaactcggg	cgccgcatag	480
actattctca	gaatgacttg	gttgagtact	caccagtcac	agaaaagcat	cttacggatg	540
gcatgacagt	aagagaatta	tgcagtctcg	ccataaccat	gagtgataac	actgcggcca	600
acttacttct	gacaacgata	ggaggaccga	aggagctaac	cgcttttttg	cacaacatgg	660
gggatcatgt	aactgcctt	gatacgttgg	aaccggagct	gaatgaagcc	ataccaaacg	720
acgagcgtga	caccacgatg	cctgtagcaa	tggcaacaac	gctgcccata	ctattaactg	780
gcgaactact	tactctagct	tcccggcaac	aattaataga	ctggatggag	gcccataaag	840
ttgcaggacc	actctgcgc	tggcccttc	cgctggtctg	gtttattgct	gataaatctg	900
gagccggtga	gcgtgggtct	cgcggtatca	ttgcagcact	ggggccagat	ggtaagccct	960
cccgatcgt	agttatctac	acgacgggga	gtcaggcaac	tatggatgaa	cgaaatagac	1020
agatcgctga	gatagggtcc	tcactgatta	agcattggtg	actgtcagac	caagtctact	1080
catatatact	ttagattgat	ttaaaacttc	atttttaatt	taaaaggatc	taggtgaaga	1140
tcctttttga	taatctcatg	accaaaatcc	cttaacgtga	gttttcgctc	cactgagcgt	1200
cagaccocgt	agaaaagatc	aaaggatctt	cttgagatcc	ttttttctg	cgctaatct	1260
gctgcttgca	aacaaaaaaa	ccaccgctac	cagcgggtgt	ttggtttccg	gatcaagagc	1320
taccaactct	tttccgaag	gtaactggct	tcagcagagc	gcagatacca	aatactgtcc	1380
ttctagtgtg	gcccagctga	ggccaccact	tcagaactc	tgtagcaccg	ctacataacc	1440
tcgctctgct	aatcctgtta	ccagtggctg	ctgccagtgg	cgataagtcg	tgtcttaccg	1500
ggtttgactc	aagacgatag	ttaccggata	aggcgcagcg	gtcgggctga	acggggggtt	1560
cgtgcacaca	gccagccttg	gagcgaacga	cctacaccga	actgagatac	ctacagcgtg	1620
agcattgaga	aagcgcaccg	cttcccgaag	ggagaaaagg	ggacaggtat	ccgtaagcg	1680
gcagggctcg	aacaggagag	cgcacgaggg	agcttccagg	gggaaacgcc	tggtatcttt	1740

ES 2 609 359 T3

atagtcctgt	cgggtttcgc	cacctctgac	ttgagcgtcg	atTTTTgtga	tgctcgtcag	1800
gggggcggag	cctatggaaa	aacgccagca	acgcggcctt	tttacggttc	ctggcctttt	1860
gctggccttt	tgctcacatg	ttctttcctg	cgttatcccc	tgattctgtg	gataaccgta	1920
ttaccgcctt	tgagtgagct	gataccgctc	gccgcagccg	aacgaccgag	cgcagcgagt	1980
cagtgagcga	ggaagcggaa	gagcgcctaa	tacgcaaacc	gcctctcccc	gcgcgttggc	2040
cgattcatta	atgcagctgg	cacgcacagg	ttccccactg	gaaagcgggc	agtgagcgca	2100
acgcaattaa	tgtgagttag	ctcactcat	aggcaccccc	ggctttacac	tttatgcttc	2160
ccgctcgtat	gttgtgtgga	attgtgagcg	gataacaatt	tcacacagga	aacagctatg	2220
accatgatta	cgccaagcct	aagcttgca	gcaaattcta	tttcaaggag	acagtcataa	2280
tgaaataacct	attgcctacg	gcagccgctg	gattgttatt	actcgcggcc	cagccggcca	2340
tgggcggagcc	caaatcttgt	gacaaaactc	acacatgccc	acogtgcccc	gcacctgaac	2400
tcctggggggg	accgtcagtc	ttctctctcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	2460
cccgaccccc	tgaggtcaca	tgogtggtag	tgagcgtgag	ccacgaagac	cctgaggtoa	2520
agttcaactg	gtacgtggac	ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcgggagg	2580
agcagtacaa	cagcaocgtac	cgtgtggtea	gcgtcctcac	cgtcctgcac	caggactggc	2640
tgaaatggcaa	ggagtacaag	tgcaaggtc	ccaacaaagc	cctcccagcc	cccatcgaga	2700
aaaccatctc	caaagccaaa	gggcagcccc	gagaaccaca	gggtgtacacc	ctgccccat	2760
cccgggatga	gctgaccaag	aaccaggtca	gcctgacctg	cctgggtcaaa	ggcttctatc	2820
ccagcgacat	cgccgtggag	tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	2880
cgccctcccg	gctggactcc	gacggctcc	tcttctctca	cagcaagctt	accgtggggt	2940
gccgcgggtga	ttgtctgagc	aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tcogtgatgc	3000
atgaggctct	gcacaaccac	tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtaaagcgg	3060
ccgcagaaca	aaaactcctc	tcagaagagg	atctgaatgg	ggccgcatag	actgttgaaa	3120
gttgttttagc	aaaacctcat	acagaaaat	catttactaa	cgtctggaaa	gacgacaaaa	3180
ctttagatcg	ttacgctaac	tatgagggc	gtctgtggaa	tgctacaggc	gttgtggttt	3240
gtactgggtga	cgaaaactcag	tgttacggta	catgggttcc	tattgggctt	gctatccctg	3300
aaaatgaggg	tggtggctct	gagggtagcg	gttctgaggg	tgggcgttct	gagggtagcg	3360
gtactaaacc	tcctgagtag	ggtgatacac	ctattccggg	ctatacttat	atcaaccctc	3420
tcgacggcac	ttatccgcct	ggtactgagc	aaaaccccgc	taatccta	ccttctcttg	3480
aggagtctca	gcctctta	acttctcatg	ttcagaataa	taggttccga	aatagggcag	3540
gtgcattaac	tgtttatacg	ggcactgta	ctcaaggcac	tgaccccg	aaaacttatt	3600
accagtacac	tcctgtatca	tcaaaagcca	tgtatgacgc	ttactggaac	ggtaaattca	3660
gagactgccc	tttccattct	ggctttaatg	aggatccatt	cgtttgtgaa	tatcaaggcc	3720
aatcgtctga	cctgcctcaa	ctcctgtca	atgctggcgg	cggtctggtt	ggtggtctg	3780
gtggcggctc	tgagggtggc	ggctctgagg	gtggcggttc	tgagggtggc	ggctctgagg	3840
gtggcgggtc	cggtggcggc	tcoggttccg	gtgattttga	ttatgaaaaa	atggcaaacg	3900
ctaataaggg	ggctatgacc	gaaaatgccc	atgaaaacgc	gctacagtct	gacgctaaag	3960
gcaaacctga	ttctgtcgtc	actgattacg	gtgctgctat	cgatgggttc	attgggtgacg	4020
tttccggcct	tgcta	aatggtgcta	ctggtgattt	tgctggctct	aattcccaaa	4080
tggtctcaagt	cggtgacggg	gataattcac	ctttaatgaa	taatttccgt	caatatttac	4140
cttctttgccc	tcagtcgggt	gaatgtcgc	cttatgtctt	tggcgtgggt	aaaccatag	4200
aattttctat	tgattgtgac	aaaataaac	tattcctg	tgtttttg	tttcttttat	4260
atgttgccac	ctttatgtat	gtattttcga	cgtttgctaa	catactgcat	aaggagtctt	4320
aataagaatt	cactggccgt	cgttttaca	cgtcgtgact	gggaaaacc	tgccgttacc	4380
caacttaac	gccttgcagc	acatcccc	ttcgcagct	ggcgtaatag	cgaagaggcc	4440
cgcaccgatc	gccttcccca	acagttgcgc	agcctgaatg	gcgaatggcg	cctgatgcgg	4500
tattttctcc	ttacgcatct	gtgcggat	tcacaccgca	cgtcaaagca	accatagtag	4560
gogccctgta	gcggcgcatt	aagcgcggcg	ggtgtggtgg	ttacgcgcag	cgtgaccgct	4620
acacttgcca	gcgccttagc	gcccgctcc	ttcgtttct	tccttctct	tctcgcacg	4680
ttcgcggcct	ttccccgtca	agctctaaa	cgggggctcc	ctttagggtt	ccgattttagt	4740
gctttacggc	acctogacco	caaaaaact	gatttgggtg	atggttcacg	tagtgggcca	4800
togccctgat	agacggtttt	tcgccctttg	acgttggagt	ccacgttctt	taatagtggga	4860
ctcttgttcc	aaactggaac	aacactcaac	cctatctcgg	gctattcttt	tgatttataa	4920
gggatttttgc	cgatttccggc	ctattggtta	aaaaatgagc	tgatttaaca	aaaatttaac	4980
gcgaatttta	acaaaatatt	aacgtttaca	attttatggt	gcactctcag	tacaatctgc	5040
totgatgcgc	catagttaag	ccagccccga	cacccgccaa	cacccgctga	cgcgcctga	5100
cgggcttgtc	tgctcccggc	atccgcttac	agacaagctg	tgaccgtctc	cgggagctgc	5160
atgtgtcaga	ggttttcacc	gtcatcaccg	aaacgcgcga			5200

Figura 7 (SEQ ID No.14): vector pHENFcabRGD4L

ES 2 609 359 T3

gacgaaaggg	cctcgtgata	cgccatattt	tataggttaa	tgtcatgata	ataatggttt	60
cttagacgctc	agggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	aaccocctatt	tgtttatttt	120
tctaaataca	ttcaaataatg	tatccgctca	tgagacaata	accctgataa	atgcttcaat	180
aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtattc	aacatttccg	tgtcgcocct	attccctttt	240
ttgcggcatt	ttgccttccct	gtttttgctc	accagaaaac	gctggtgaaa	gtaaaagatg	300
ctgaagatca	gttgggtgca	cgagtgggt	acatcgaact	ggatctcaac	agcggtaaga	360
tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacgt	ttccaatgat	gagcactttt	aaagttctgc	420
tatgtggcgc	ggtattatcc	cgtattgacg	ccgggcaaga	gcaactcggg	cgccgcatac	480
actattctca	gaatgacttg	gltgagtac	caccagtcac	agaaaagcat	cttacggatg	540
gcatgacagt	aagagaatta	tgcagtgctg	ccataaccat	gagtgataac	actgcgccca	600
acttacttct	gacaacgatac	ggaggaccga	aggagctaac	cgcttttttg	cacaacatgg	660
gggatcatgt	aactcgcctt	gatcgttggg	aaccggagct	gaatgaagcc	ataccaaacg	720
acgagcgtga	caccaacgatg	cctgtagcaa	tggcaacaac	gttgcgcaaa	ctattaactg	780
tgcaactact	tactctagct	tcccggcaac	aattaataga	ctggatggag	gcggataaag	840
ttgcagctgc	acttctgcgc	tggcccttc	cggttgctg	gtttattgct	gataaactctg	900
gagccgggtga	gcgtgggtct	cgccgtatca	ttgcagcact	ggggccagat	ggtaagccct	960
cccgtatcgt	agttatctac	acgacgggga	gtcaggcaac	tatggatgaa	cgaaatagac	1020
agatcgcgtga	gataggtgcc	tcactgatta	agcattggta	actgtcagac	caagtttact	1080
catatatact	ttagattgat	ttaaaacttc	atttttaatt	taaaaggatc	taggtgaaga	1140
tccttttttga	taatctcatg	accaaaatcc	cttaacgtga	gttttcgttc	cactgagcgt	1200
cagaccccgt	agaaaagatc	aaaggatct	cttgagatcc	ttttttctg	cgcgtaatct	1260
gctgcttgca	aacaaaaaaa	ccaccgctac	cagcgggtg	ttgtttgcg	gatcaagagc	1320
taccaactct	ttttccgaag	gtaactggc	tcagcagagc	gcagatacca	aatactgtcc	1380
ttctagtgtga	gccgtagtta	ggccaccac	tcagaacte	tgtagcaccg	cctacatacc	1440
tcgctctgct	aatcctgtta	ccagtggctg	ctgccagtgg	cgataagtcg	tgtcttaccg	1500
ggtttggactc	aagacgatac	ttaccggata	aggcgcagcg	gtcgggctga	acggggggtt	1560
cggtgcacaca	gcccagcttg	gagcgaacga	cctacaccga	actgagatac	ctacagcgtg	1620
agcattgaga	aagcgcaccg	cttcccgaag	ggagaaaaggc	ggacaggtat	coggtaaagc	1680
gcagggctgg	aacaggagag	cgacagaggg	agcttccagg	gggaaacgcc	tggatctttt	1740
atagctcctat	cgggtttcgc	cacctctgac	ttgagcgtcg	atttttgtga	tgactcgtcag	1800
gggggcccgg	cctatggaaa	aacgccagca	acgcggcctt	tttacggttc	ctggcctttt	1860
gctggcctttt	tgtccacatg	ttctttcctg	cgttatcccc	tgattctgtg	gataaccgta	1920
ttaccgcctt	tgagtgagct	gataccgctc	gccgcagccg	aacgaccgag	cgcagcaggt	1980
cagtgagcga	ggaagcggaa	gagcgcccaa	tacgcaaaacc	gcctctcccc	gcgcgttggc	2040
cgattcatta	atgcagctgg	cacgacaggg	ttcccgactg	gaaagcgggc	agtgagcgcga	2100
acgcaattaa	tgtgagttag	ctcactcat	aggcaaccca	ggctttacac	tttatgcttc	2160
cggtcctgat	gttgtgtgga	atgtgtgagc	gtaacaatt	tcacacagga	aacatcgtatg	2220
accatgatta	cgccaagcctt	aaactttgca	gcaaatctta	tttcaaggag	acagtcataa	2280
tgaaataacct	attgcctacg	gcagccgctg	gattgttatt	actcgcggcc	cagccggcca	2340
tggccgagcc	caaatcttgt	gacaaaactc	acacatgcc	accgtgccc	gcacctgaac	2400
tcctgggggg	accgtcagtc	ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	2460
cccggacccc	tgaggtcaca	tgcgtgggtg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgaggtoa	2520
agttcaactg	gtacgtggac	ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	cgcggggagg	2580
agcagtacaa	cagcacgtac	cgtgtggtca	gcgtcctcac	cgtcctgcac	caggactggc	2640
tgaatggcaa	ggagtacaag	tgcaaggctc	ccaacaaagc	cctcccagcc	cccatcgaga	2700
aaaccatctc	caaagccaaa	gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgcccccat	2760
cccgggatga	gctgaccaag	aaccaggtea	gcctgacctg	cctggtcaaa	ggcttctatc	2820
ccagcgacat	cgccgtggag	tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	2880
cgccctcccgt	gctggactcc	gacggctccc	tcttctctca	cagcaagcct	accgtgggtt	2940
gccgcgggtga	ttgtctgagc	aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tcctgtatgc	3000
atgaggctct	gcacaaccac	tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtaaaggag	3060
gtgggtggctc	tgcggccgca	gaacaaaaac	tcactctcaga	agaggatctg	aatggggccg	3120
catagactgt	tgaaagttgt	ttagcaaaaac	ctcatacaga	aaattcattt	actaacgtct	3180
ggaaagacga	caaaacttta	gatcgttacg	ctaactatga	gggctgtctg	tggaatgcta	3240
caggcgtttg	ggtttgtact	ggtgacgaaa	ctcagtgtta	cggtaacatgg	gttccctattg	3300
ggcttgctat	ccctgaaaat	gaggggtggg	gctctgaggg	tggcggttct	gaggggtggc	3360
gttctgaggg	tggcgggtact	aaacctctctg	agtacggtga	tacacctatt	cogggctata	3420
cttatatcaa	ccctctcgac	ggcacttatac	cgcttggta	tgagcaaaac	cccgtaatc	3480
cctaactcttc	ctctgaggag	tctcagcctc	ttataacttt	catgtttoag	aataatagg	3540
tccgaaatag	gcaggggtgca	ttaactgttc	atacgggca	tgttactcaa	ggcactgacc	3600
ccgttaaaac	ttattaccag	tacactctctg	tatcatcaaa	agccatgtat	gacgcttact	3660

ES 2 609 359 T3

ggaacggtaa	attcagagac	tgcggtttcc	attctggctt	taatgaggat	ccattcgttt	3720
gtgaatatca	aggccaatcg	tctgacctgc	ctcaacctcc	tgtcaatgct	ggcggcggct	3780
ctgggtggtg	ttctgggtggc	ggctctgagg	gtggcggctc	tgagggtggc	ggttctgagg	3840
gtggcgctc	tgagggtggc	ggttccgggtg	gcgctccgg	ttccggtgat	tttgattatg	3900
aaaaatggc	aaacgctaata	aagggggcta	tgaccgaaaa	tgccgatgaa	aacgcgctac	3960
agtctgacgc	taaaggcaaa	cttgattctg	tcgctactga	ttacggtgct	gctatcgatg	4020
gtttcattgg	tgacgtttcc	ggccttgcta	atggtaatgg	tgctactggt	gattttgctg	4080
gctctaattc	ccaaatggct	caagtcgggtg	acggtgataa	ttcaccttta	atgaataatt	4140
tcogtcaata	tttaccttct	ttgcctcagc	cggttgaatg	tcgcccttat	gtctttggcg	4200
ctggtaaacc	atatgaatct	tctattgatc	gtgacaaaa	aaacttattc	cgtgggtgct	4260
ttgctgttct	tttataatgt	gccaccttta	tgtatgtatt	ttcgacgttt	gctaacatac	4320
tgcataagga	gtottaataa	gaattcactg	gocgtcgttt	tacaacgtcg	tgactgggaa	4380
aacctgggcg	ttacccaact	taatcgcttc	gcagcacatc	cccctttcgc	cagctggcgt	4440
aatagcgaag	aggcccgcac	cgatcgcttc	tcccaacagt	tgcgacgctc	gaatggcgaa	4500
tgggcctga	tgcggtattt	tctccttacg	catctgtgcg	gtatttcaca	ccgcacgtca	4560
aagcaaccat	agtacgcgcc	ctgtagcggc	gcattaaagc	cggcgggtgt	ggtggttacg	4620
cgcagcgtga	ccgctacact	tgccagcgcc	ctagcgcccg	ctcctttcgc	tttcttccct	4680
tcctttctcg	ccacgttcgc	cggttttccc	cgtaagctc	taaactcggg	gctcccttta	4740
gggttccgat	ttagtgtctt	acggcacctc	gacccaaaa	aacttgattt	gggtgatggt	4800
tcacgtagtg	ggccatcgcc	ctgatagacg	gtttttcgc	ctttgacgtt	ggagtccacg	4860
ttctttaata	gtggactcct	gttccaaact	ggaacaacac	tcaacctat	ctcgggctat	4920
tcttttgatt	tataagggat	tttgccgatc	tcggcctatt	ggttaaaaa	tgagctgatt	4980
taacaaaaat	ttaacgcgaa	ttttaacaaa	atattaacgt	ttacaatttt	atggtgcact	5040
ctcagtacaa	tctgctctga	tgccgcatag	ttaagccagc	cccacacccc	gccaacaccc	5100
gctgacgcgc	cctgacgggc	ttgtctgctc	ccggcatccg	cttacagaca	agctgtgacc	5160
gtctccggga	gctgcatgtg	tcagagggtc	tcaccgtcat	caccgaaacg	cgcgaa	5215

Figura 8 (SEQ ID No.15): Vector pYD1dX

acggattaga	agccgcgcag	cggtgacag	cctccgaag	gaagactctc	ctccgtgctg	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgccgc	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggcccac	aaaccttcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgca	240
ttagttttt	agccttattt	ctggggtaa	taatcagcga	agcgatgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgtaa	aaaagtatca	acaaaaaatt	gtaaatatac	420
ctctatactt	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgcttcagt	tttagcacag	gaactgacaa	600
ctatatgoga	gcaaatcccc	tcaccaactc	tagaatcgac	gocgtactct	ttgtcaacga	660
ctactatttt	ggccaacggg	aaggcaatgc	aaggagttht	tgaatattac	aaatcagtaa	720
cgtttgcag	taattgcggt	tctcaccctc	caacaactag	caaaggcagc	cccataaaca	780
cacagtatgt	ttttaagcct	ctgcaggcta	gtgggtggtg	tggttctggt	gggtggtggt	840
ctgggtggtg	tggttctgct	agcatgactg	gtggacagca	aatgggtcgg	gatctgtacg	900
acgatgacga	taaggtacca	ggatccagtg	tggtggaatt	ctgcagatat	ccagcacagt	960
ggcggccgct	cgatcgagtc	tagagggcc	ttcgaaggta	agcctatccc	taacctctc	1020
ctcggctctg	attctacgcg	taccggtea	catcaccate	accattgagt	ttaaacctgc	1080
tgatctgata	acaacagtg	agatgtaaca	aatcgactt	tgttcccact	gtacttttag	1140
ctcgtacaaa	atacaatata	cttttcattc	ctccgtaaac	aacatgtht	ccatgtaat	1200
atccttttct	atthttcggt	cogttaccaa	ctttacacat	actthtatata	gctattcaact	1260
tctatacaact	aaaaaactaa	gacaattttta	atthttgctg	ctgccataat	tcaatttggt	1320
ataaattcct	ataatttctc	ctattagtag	ctaaaaaaag	atgaatgtga	atcgaatcct	1380
aagagaattg	ggcaagtgca	caaacaatac	ttaaataaat	actactcagt	aataacctat	1440
ttcttagcat	ttttgacgaa	atthttgctat	ttgttagagt	ctthttacacc	atthttgctcc	1500
acacctccgc	ttacatcaac	accaataacg	ccatttaate	taagcgcac	accaacattt	1560
tctggcgctca	gtccaccagc	taacataaaa	tgtaaagctc	cggggctctc	ttgccttcca	1620
accagtcag	aaatcgagtt	ccaatccaaa	agthtccctg	tcccactcgc	ttctgaaatca	1680
aacaagggaa	taaacgaatg	aggthtctg	gaagctgcac	tgagtagtat	gthtgcagct	1740
tttggaata	cgagtccttt	aaataactgg	aaaccgagga	actcttggtta	ttcttgccac	1800
gactcatctc	cgtgcagttc	gacgatatca	atgccgtaat	cattgaccag	agccaaaaca	1860

ES 2 609 359 T3

tctccttag	gttgattacg	aaacacgcca	accaagtatt	tcgagtgcc	tgaactat	1920
ttatatgctt	ttacaagact	tgaattttc	cttgaataa	ccgggtcaat	tgttctctt	1980
ctattgggca	cacatataat	accagcaag	tcagcatcg	aatctagagc	acattctgcg	2040
gcctctgtgc	tctgcaagcc	gcaactttc	accaatggac	cagaactacc	tgtgaaatta	2100
ataacagaca	tactccaagc	tgcctttgtg	tgcttaatca	cgtatactca	cgtgctcaat	2160
agtcaccaat	gcctccctc	ttggccctc	ccttttctt	tttcgacoga	atttcttgaa	2220
gacgaaaggg	cctcgtgata	cgcctat	tataggttaa	tgcatgata	ataatggttt	2280
cttaggacgg	atcgcttgcc	atccccctag	agtcctttac	atcttcggaa	tgatgggaata	2340
atttgggaat	ttactctgtc	tttatttat	tttatgtttt	gtatttggat	tttagaaagt	2400
aaataaagaa	ggtagaagag	ttacggaatg	aagaaaaaa	aataaacaaa	ggttataaaa	2460
atttcaacaa	aaagcgtact	ttacatata	at	caagaaaagc	agattaaata	2520
gatatacatt	cgattaacga	taagtaaaa	gtaaaatcac	aggattttcg	tgtgtgggtc	2580
tctacacaga	caagatgaaa	caattcggca	ttaataacctg	agagcaggaa	gagcaagata	2640
aaaggtagta	tttgttgccg	atccccctag	agtcctttac	atcttcggaa	aacaaaaact	2700
at	taatttcttt	ttttactttc	tatttttaat	ttatatattt	atattaaaaa	2760
at	taattat	tatagcacg	gatgaaaagg	accaggtgg	cacttttcgg	2820
ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttgttta	ttttctaaa	tacattcaaa	tatgtatccg	2880
ctcatgagac	aataaccctc	ataaatgct	caataatatt	gaaaaaggaa	gagtatgagt	2940
attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	ttttttcgg	cattttgct	tctgttttt	3000
gctcaccag	aaacgctggt	gaaagtaaaa	gatgctgaag	atcagtggg	tgacagagt	3060
ggttacatcg	aactggatct	caacagcgg	aagatccttg	agagttttcg	cccogaagaa	3120
cg	tttccaa	tgatgagcac	ttttaaagt	ctgctatgtg	gcgcggtatt	3180
gacgcccggc	aagagcaact	cggctgcgc	atacactatt	ctcagaatga	cttggttgag	3240
tactaccag	tcacagaaaa	gcctcttacg	gatggcatga	cagtaagaga	attatgcagt	3300
gctgccataa	ccatgagtga	taaacctgcg	gccaacttac	ttctgacaac	gatcggagga	3360
ccgaaggagc	taaccgcttt	tttgcaaac	atgggggatc	atgtaactcg	ccttgatcgt	3420
tgggaaccgg	agctgaatga	agccatacca	aacgacgagc	gtgacaccac	gatgctgta	3480
gcaatggcaa	caacgttgcc	caactatta	actggcgaa	tacttactct	agcttccgg	3540
caacaattaa	tagactggat	ggaggcggat	aaagtgcag	gaccacttct	gcgctcggcc	3600
cttccggctg	gctggttat	tgctgataaa	tctggagccg	gtgagcgtgg	gtctcgggt	3660
atcattgcag	cactggggcc	agatggtaa	ccctcccgta	tctgagttat	ctacacgacg	3720
ggcagtcagg	caactatgga	tgaacgaaa	agacagatcg	ctgagatagg	tgctcactg	3780
attaagcatt	ggttaactgtc	agaccaagt	tactcatata	tactttagat	tgatttaaaa	3840
cttcattttt	aatttaaaag	gatctaggtg	aagatccttt	ttgataatct	catgaccaaa	3900
atccctaac	gtgagttttc	gttccactga	gctcagacc	ccgtagaaaa	gatcaaggga	3960
tottcttgag	atcctttttt	tctgocgta	atctgctgct	tgcaaacaaa	aaaaccaccg	4020
ctaccagcgg	tggtttgttt	gcccgatcaa	gagctaccaa	ctctttttcc	gaaggtaact	4080
ggcttcagca	gagcgcagat	accaaatac	gtccttctag	tgtagccgta	gtagggccac	4140
cacttcaaga	actctgtagc	accgctaca	tacctgctc	tgctaatct	gttaccagt	4200
gctgctgcca	gtggcgataa	gtcgtgtct	accgggttg	actcaagacg	atagttaccg	4260
gataaggcgc	agcggtcggc	ctgaaacggg	ggttcgtgca	cacagcccag	cttggagcga	4320
acgacctaca	ccgaactgag	atacctacag	cgtgagcatt	gagaaagcgc	cacgcttccc	4380
gaagggagaa	aggcggacag	gtatccggta	agcggcagg	tcggaacagg	agagcgcacg	4440
agggagcttc	caggggggaa	cgcctcgta	ctttatagtc	ctgtcgggtt	tcgccacctc	4500
tgacttgagc	gtcgat	gtgatgctgc	tcaggggggc	cgagcctatg	gaaaaacgcc	4560
agcaacccgg	cctttttacg	gttccctggc	ttttgctggc	cctttgctca	catgttcttt	4620
cctcgtttat	cccctgattc	tgtggataac	cgtattaccg	cctttgagtg	agctgatacc	4680
gctcgcgcga	gccgaacgac	cgagcgcagc	gagtcagtga	gcgaggaagc	ggaagagcgc	4740
ccaatacgca	aaccgcctct	ccccgcgcg	tggccgattc	attaatgcag	ctggcacgac	4800
aggtttcccg	actggaaagc	gggcagtgag	cgcaacgcaa	ttaatgtgag	ttacctcact	4860
cattagggcac	cccaggcttt	acactttatg	cttccggctc	ctatgttgtg	tggaaattgtg	4920
agcggataac	aatttcacac	aggaacagc	tatgaccatg	attacgcaa	gctcggaa	4980
aaccctcact	aaagggaaaca	aaagctggc	agt			5013

Figura 9 (SEQ ID No.16): vector pYD1dXFc

acggattaga	agccgcgcag	cgggtgacag	cctccgaag	gaagactctc	ctccgtgcgt	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgccgc	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaa	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgcga	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggttaa	taatcagcga	agcagatgatt	tttgatctat	300

ES 2 609 359 T3

taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttta	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgatt	acttcttatt	caaatgtaat	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaataatac	420
ctctatactt	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgcttcagt	tttagcacag	gaactgacaa	600
ctatatgcga	gcaaatcccc	tcaccaactt	tagaatcgac	gccgtactct	ttgtcaacga	660
ctactattht	ggccaacggg	aaggcaatgc	aaggagthtt	tgaatattac	aatcagtaa	720
cgthttgtag	taattgggg	tctcaccctt	caacaactag	caaaggcagc	cccataaaca	780
cacagtatgt	tttttaagctt	ctgcaggcta	gtggtgggtg	tggthctggg	ggtggtgggt	840
ctggtgggtg	tggthctgct	agcatgactg	gtggacagca	aatgggtcgg	gatctgtacg	900
acgatgacga	taaggtacca	ggatccgcta	gcaccaaggg	ccccagcgtg	ttccctctgg	960
ccccagctc	caagagpacc	tccggcggca	ccgcgcctct	gggctgcctg	gtgaaggatt	1020
acttcccaga	gccccgtacc	gtgagctgga	acagcggcgc	cctgaccagc	ggcgtgcaca	1080
cctthcccgc	cgtgctgcag	tccagcggcc	tgtactccct	gagcagcgtg	gtgaccgtgc	1140
ccagcagcag	caatggpacc	cagacctaca	cttgcactgt	gaaccacaag	cccataaaca	1200
ccaaggtgga	taagaaggtg	gagcccaaga	gcaggaacaa	gacacacacg	tgtcccccat	1260
gtcccgcgcc	tgagctgctg	ggcggccctt	ccgtgttctt	gttccctccc	aagccaaagg	1320
acaccctgat	gatctcccgg	acccctgagg	tgacctgtgt	ggtggtggac	gtgagccacg	1380
aggaccacga	ggtgaagttc	aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcac	aacgccaaaga	1440
ccaagcctag	agaggagcag	tacaacagca	cctaccgcgt	ggtgagcgtg	ctgaccgtgc	1500
tgcaccagga	ttggctgaat	ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtgagcaac	aaggccctgc	1560
ctgcccccat	cgagaagacc	atctccaagg	ccaagggcca	gcctcgagaa	ccacaggtgt	1620
acaccctgcc	cccatcccgg	gatgagctga	ccaagaacca	ggtcagcctg	acctgacctg	1680
tcaaaggctt	ctatcccagc	gacatcgccg	tggagtggga	gagcaatggg	cagccggaga	1740
acaactacaa	gaccaagcct	cccgtgctgg	actccgacgg	ctccttcttc	ctctacagca	1800
agctcaccgt	ggacaagagc	aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tccgtgatgc	1860
atgaggctct	gcacaaccac	tacacacaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtaaatgag	1920
cggccgctcg	ctcaggtcta	gagggccctt	cgaaggtaag	cctatcccta	acctctcctt	1980
cggctctcgt	tctacgggta	ccggctatca	tcaccatcac	cattgagtht	aaaccocgtg	2040
atctgataac	aacagtgtag	atgtaacaaa	atcgactttg	ttcccactgt	actthtagct	2100
cgtacaaaaat	acaatatact	tttcatttct	ccgtaaacaa	catgthttcc	catgtaatat	2160
cctthttctat	ttttcgttcc	gttaccactt	ttacacatac	tttatatagc	tattcacttc	2220
tatacactaa	aaaactaaga	caattthtaat	tttgcctcct	gccatatttc	aatttgthtat	2280
aaattcctat	aattthtctt	attagtagct	aaaaaaagat	gaatgtgaat	cgaatcctaa	2340
gagaattggg	caagtgcaca	aacaataactt	aaataaatac	tactcagtaa	taacctatth	2400
cttagcattt	ttgacgaaat	ttgctattht	gttagagtht	tttacaccat	ttgtctccac	2460
acctccgctt	acatcaaacac	caataacgcc	atthtaacta	agcgcacacac	caacatttht	2520
tggcgtcagt	ccaccagcta	acataaaaatg	taagctctcg	gggctctctt	gccttccaac	2580
ccagtcagaa	atcaggttcc	aatccaaaag	ttcacctgtc	ccacctgctt	ctgaatcaaa	2640
caaggaata	aacgaatgag	gtthctgtga	agctgcaactg	agtagtatgt	tgcagthctt	2700
tggaaatac	agtctthtaa	taactggcaa	accgaggaac	tcttggtatt	cttgccacga	2760
ctcactctccg	tgcagthtga	cgatatcaat	gccgtaatac	ttgaccagag	ccaaaacatc	2820
ctccttaggt	tgattacgaa	acacggccaac	caagthtttc	ggagthcctg	aactatthtt	2880
atagthcttt	acaagacttg	aaattthctt	tgcataaac	gggtcaattg	ttctctthct	2940
attgggcaca	catataatac	ccagcaagtc	agcatcggaa	tctagagcac	attctgcggc	3000
ctctgtgctc	tgcaagccgc	aaactthcac	caatggacca	gaactacctg	tgaatthaat	3060
aacagacata	ctccaagctg	cctthgtgtg	cttaatcacg	tatactcacg	tgctcaatag	3120
tcaccaatgc	cctccctctt	ggccctctcc	ttthctthtt	tgcaccgaat	ttcttgaaaga	3180
cgaaggggcc	ctgtgatagc	cctatthtta	taggtthaatg	tcatgataat	aatgthttct	3240
taggacggat	cgcttgctg	taacttacac	gcgctctgta	tctthtaatg	atggaataat	3300
ttgggaattt	actctgtgth	tattthattt	tatgthttgt	atthggattt	tagaaagtaa	3360
ataaagaagg	tagaagagth	acggaatgaa	gaaaaaaa	taaacaagg	tttaaaaaat	3420
ttcaacaaaa	agcgtactth	acataatata	ttattagaca	agaaaagcag	atthaaataga	3480
tatacattcg	atthaacgata	agtaaaatgt	aaaatcacag	gattthctgtg	tgtgthcttc	3540
tacacagaca	agatgaaaca	attcggcatt	aatacctgag	agcaggaaga	gcaagataaa	3600
aggtagthatt	tgttggggat	ccccctagag	tctthttacat	cttccgaaaa	caaaaactat	3660
ttthctthtt	atthctthtt	ttactthcta	ttthtaattt	atatathttat	atthaaaaat	3720
ttaaattata	attatthttt	tagcactgta	tgaaaaggac	ccaggtggca	ctthctgggg	3780
aaatgtgctc	ggaaccctta	tttgtthatt	tttctaaata	cattcaata	tgtatccgct	3840
catgagacaa	taaccctgat	aaatgcttca	ataatattga	aaaaggaaaga	gtatgagtht	3900
tcaacatttc	cgtgtcgcct	ttattccctt	ttthgcggca	ttthgccttc	ctgthtttgc	3960

ES 2 609 359 T3

tcaccagaa	acgctggtga	aagtaaaaga	tgctgaagat	cagttgggtg	cacgagtggg	4020
ttacatcga	ctggatctca	acagcggtaa	gatccttgag	agttttcggc	ccgaagaacg	4080
ttttccaatg	atgagcactt	ttaaagttc	gctatgtggc	gcggtattat	cccggttga	4140
cgccgggcaa	gagcaactcg	gtcgcgcac	acactattct	cagaatgact	tggttgagta	4200
ctcaccagtc	acagaaaagc	atcttacgga	tggcatgaca	gtaagagaat	tatgcagtgc	4260
tgccataacc	atgagtgata	acactgcggc	caacttactt	ctgacaacga	tcggaggacc	4320
gaaggagcta	accgcttttt	tgcacaacac	gggggatcat	gtaactcgcc	ttgatcggtg	4380
ggaaccggag	ctgaatgaac	ccataccaaa	cgacgagcgt	gacaccacga	tgctgtgagc	4440
aatggcaaca	acgttgcgca	aactattaac	tggcgaacta	cttactctag	cttcccggca	4500
acaattaata	gactggatgg	aggcggataa	agtgcagga	ccacttctgc	gctcggccct	4560
tccggctggc	tggtttattg	ctgataaatc	tggagccggg	gagcgtgggt	ctcgcggtat	4620
cattgcagca	ctggggccag	atggtaagcc	ctcccgatc	gtagttatct	acacgacggg	4680
cagtcaggca	actatggatg	aacgaaatag	acagatcgct	gagataggtg	cctcactgat	4740
taagcattgg	taactgtcac	accaagttta	ctcatatata	cttttagattg	atttaaaact	4800
tcatttttaa	tttaaaagga	tctaggtgaa	gatccttttt	gataatctca	tgaccaaaat	4860
cccttaacgt	gagttttcgt	tccactgagc	gtcagacccc	gtagaaaaga	tcaaaggatc	4920
ttcttgagat	ccttttttcc	tgcgcgtaa	ctgctgcttg	caaacaacaa	aaccaccgct	4980
accagcggtg	gtttgtttgc	cggatcaaga	gctaccaact	ctttttccga	aggtaactgg	5040
cttcagcaga	gcgcagatac	caaatactgc	cctctagtg	tagccgtagt	taggcacca	5100
cttcaagAAC	tctgtagcac	cgccacata	cctcgctctg	ctaactcctg	taccagtggc	5160
tgtgcccagt	ggcgataagt	cggtgcttac	cggtgtggac	tcaagacgat	agttaccgga	5220
taaggcgcag	cggcgggct	gaacgggggg	ttcgtgcaca	cagcccagct	tggagcgaac	5280
gacctacacc	gaactgagat	acctacagcg	tgagcattga	gaaagcgcca	cgcttcccga	5340
agggagaaa	gcgacaggt	atccggtaag	cggcagggtc	ggaacaggag	agcgcacgag	5400
ggagcttcca	ggggggaacc	cctgggtatc	ttatagtcct	gtcgggtttc	gccacctctg	5460
acttgagcgt	cgatttttgt	gatgctcgtc	agggggggcc	agcctatgga	aaaacgccag	5520
caacgcggcc	tttttacggg	tctctggcct	ttgctggcct	tttgctcaca	tgttctttcc	5580
tgcggttacc	cctgattctc	tggataaccg	tattaccgcc	tttgagttag	ctgataccgc	5640
tcgcccagc	cgaacgaccg	agcgcagcga	gtcagtgagc	gaggaagcgg	aagagcggcc	5700
aatacgcaaa	ccgcctctcc	ccgcgcgttg	gccgattcat	taatgcagct	ggcacgacag	5760
gtttcccagc	tggaaagcgg	gcagtgagcg	caacgcaatt	aatgtgagtt	acctcactca	5820
ttaggcaccc	cagcctttac	actttatgct	tccggtcctc	atggtgtgtg	gaattgtgag	5880
cggataacaa	tttacacacg	gaaacagcta	tgaccatgat	tacgccaagc	tcggaattaa	5940
ccctcactaa	agggaaacaaa	agctggctag	t			5971

Figura 10 (SEQ ID No.17): pYD1CH12

acggattaga	agccgcggag	cgggtgacag	cctccggaag	gaagactctc	ctccgtgctg	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgccgc	actgctccga	120
acaatacaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaat	tggcagtaac	180
ctgqccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgcca	240
llagllllll	agccttalll	ctgggglaa	laalcagcga	agcgalgall	lllgallat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgttaa	aaaagratca	acaaaaaat	gttaatat	420
ctctatactt	taacgtcaac	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	qctgtaatac	480
gactcactat	agggaatatt	aagctaattc	tacttcatac	actttcaact	aagaagcagt	540
tacttcctctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgctccagt	tttagcacag	qaacctgacaa	600
ctatatgcca	gcaaatcccc	tcaccaactt	tagaatcgac	gccgtaactc	ttgtcaacga	660
ctactatttt	ggccaacggg	aaggcaatgc	aaggagtttt	tgaatatrac	aaatcagtaa	720
cgtttgtcag	taattgcggg	tctcaccctc	caacaactag	caaaggcagc	cccataaaca	780
cacagtatgt	ttttaagcct	ctgcaggcta	gtggtggtgg	tggttctggt	ggtggtggtt	840
ctggtggtgg	tggctctgct	agcatgactg	gtggacagca	aatgggtcgg	gactcgtacg	900
acgatgacga	taaggtaacca	ggatecgcta	gcaccaaggg	ccccagcggg	ttccctctgg	960
ccccagctc	caagagcacc	tccggcgcca	cgcgcgccct	gggctgcccg	gtgaaggatt	1020
acttcccaga	gcccgtgacc	gtgagctgga	acagcggcgc	cctgaccagc	ggcgtgcaca	1080
cctttcccgc	cgtgctgcag	tccagcggcc	tgtaccctcc	gagcagcggg	gtgaccgtgc	1140
ccagcagcag	cctgggcacc	cagacctaca	tctgcaatgt	gaaccacaag	cccagcaata	1200
ccaaggtgga	taagaaggtg	gagcccaga	gcagcgacaa	gacacacacg	tgtccccat	1260
gtcccggccc	tgaqctqctc	qgcggccctc	cctgtctcct	gtccctccc	aaqccaaaag	1320
acacctgat	gatctcccgg	acctctgagg	tgaacctgtg	ggtggtggac	gtgagccacg	1380
aggaccacaga	ggtgaagttc	aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcac	aacgccaaga	1440

ES 2 609 359 T3

ccaagcctag	agaggagcag	tacaacagca	cctaccgcgt	ggtgagcgtg	ctgaccgtgc	1500
tgcaccagga	ttggctgaat	ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtgagcaac	aaggccctgc	1560
ctgcccccat	cgagaagacc	atctccaagg	ccaagggcca	gcctcgagggc	cgctcgatcg	1620
agtctagagg	gcccttcgaa	ggtaagccta	tccctaacc	tctcctcggt	ctcgattcta	1680
cgcgtaccgg	tcacatcac	catcaccatt	gagtttaaac	ccgctgatct	gataacaaca	1740
gtgtagatgt	aacaaaaatcg	actttgttcc	cactgtaact	ttagctcgta	caaaatacaa	1800
tatacttttc	atctctcogt	aaacaacatg	ttttcccatg	taatacctt	ttctattttt	1860
cgttccgtta	ccaactttac	acatacttta	tatagctatt	cactttctata	cactaaaaaa	1920
ctaagacaat	tttaattttg	ctgcctgcca	tatttcaatt	tgttataaat	tcctataatt	1980
tatcctatta	gtagctaaaa	aaagatgaat	gtgaaacgaa	tcctaagaga	attgggcaag	2040
tgcacaaaca	atacttaaat	aaatactact	cagtaataac	ctattttcta	gcatttttga	2100
cgaattttgc	tattttgtta	gagtctttta	caccaattgt	ctccacacct	ccgcttacat	2160
caacaccaat	aacgccattt	aatctaagcg	catcaccaac	atctctggc	gtcagtcac	2220
cagctaacat	aaaatgtaag	ctctcggggc	tctctcgct	tccaaccag	tcagaaatcg	2280
agttccaatc	caaaagtcca	cctgtcccac	ctgctctgga	atcaaaacaag	ggaataaacg	2340
aatgagggtt	ctgtgaagct	gcactgagta	gtatgtgca	gtcttttggg	aatacagatc	2400
ttttaataac	tggcaaacccg	aggaactctt	gctatcttg	ccacgactca	tctccgtgca	2460
gttggacgat	atcaatgccg	taatcattga	ccagagccaa	aacatcctcc	ttaggttgat	2520
tacgaaacac	gccaaccaag	tatttcggag	tgctgtaact	atctttatat	gcttttacaa	2580
gacttgaaat	tttccttgca	ataaccgggt	caattgttct	ctttctattg	ggcacacata	2640
taataccag	caagtcagca	tcggaatcta	gagcacatc	tgcgccctct	gtgctctgca	2700
agcgcgcaac	tttcaccaat	ggaccagaac	tacctgtgaa	attaataaca	gacatactcc	2760
aagetgcctt	tgtgtgctta	atcacgtata	ctcacgtgct	caatagtcac	caatgccttc	2820
cctcttgcc	ctctcctttt	cttttttoga	ccgaaattct	tgaagacgaa	agggcctcgt	2880
gatacgccta	tttttatag	ttaatgtcat	gataaataatg	gtttcttagg	acggatcgct	2940
tgcctgtaac	ttacacgcgc	ctcgtatctt	ttaatgatgg	aataatttgg	gaatttactc	3000
tgtgtttatt	tatttttatg	ttttgtattt	gcattttaga	aagtaataaa	agaaggtaga	3060
agagttacgg	aatgaagaaa	aaaaaataaa	caaaggttta	aaaaatttca	acaaaaagcg	3120
tactttacat	atatatttat	tagacaagaa	aagcagatta	aatagatata	cattcgatta	3180
acgataagta	aaatgtaaaa	tcacaggatt	ttcgtgtgtg	gtctttctaca	cagacaagat	3240
gaaacaatc	ggcattaata	cctgagagca	ggaagagcaa	gataaaaagg	agtattttgt	3300
ggcgatcccc	ctagagtctt	ttacatcttc	gcaaaacaaa	aactattttt	tttttaattt	3360
ctttttttac	tttctatttt	taatttatat	atttatatta	aaaaatttaa	attataatta	3420
tttttatagc	acgtgatgaa	aaggaccag	gtggcacttt	tcggggaaat	gtgcgcggaa	3480
cccctatttg	tttatttttc	taaatacatt	caaatatgta	tccgctcatg	agacaataac	3540
cctgataaat	gcttcaataa	tattgaaaaa	gcaagagtat	gagtattcaa	catttccgtg	3600
tgcgccattat	tcctttttt	gcggcatttt	gccttctcgt	ttttgctcac	ccagaaacgc	3660
tggtgaaagt	aaaagatgct	gaagatcagt	tgggtgcacg	agtgggttac	atcgaactgg	3720
atctcaacag	cggtaagatc	cttgagagtt	ttcgccccga	agaacgtttt	ccaatgatga	3780
gcacttttaa	agttctgcta	tgtggcgcgg	tattatcccc	tgttgacgcc	gggcaagagc	3840
aactcggctg	ccgcatacac	tattctcaga	atgactgggt	tgagtactca	ccagtcacag	3900
aaaagcatct	tacggatggc	atgacagtaa	gagaattatg	cagtgetgcc	ataaccatga	3960
gtgataacac	tgcggccaac	ttacttctga	caacgatcgg	aggaccgaag	gagctaaccg	4020
cttttttgca	caacatgggg	gatcatgtaa	ctgccttga	tcgttgggaa	ccggagctga	4080
atgaagccat	accaaacgac	gagcgtgaca	ccacgatgcc	tgtagcaatg	gcaacaacgt	4140
tgcgcaaaact	attaactggc	gaactactta	ctctagettc	ccggcaacaa	ttaatagact	4200
ggatggaggc	ggataaagtt	gcaggaccac	ttctgcgctc	ggcccttcog	gctggctggg	4260
ttattgctga	taaatctgga	gccggtgagc	gtgggtctcg	cggtatcatt	gcagcactgg	4320
ggccagatgg	taagccctcc	cgtatcgtag	ttatctaac	gacgggcagt	caggcaacta	4380
tggatgaacg	aaatagacag	atcgtcgaga	tagggtcctc	actgattaag	cattggtaac	4440
tgtcagacca	agtttactca	tatatacttt	agatgtattt	aaaacttcat	ttttaattta	4500
aaaggatcta	ggtgaagatc	ctttttgata	atctcatgac	caaaatccct	taacgtgagt	4560
tttcggtcca	ctgagcgtca	gacccogtag	aaaagatcaa	aggatcttct	tgagatcctt	4620
ttttctcgcg	cgtaatctgc	tgcttgcaaa	caaaaaaac	accgctacca	gcggtggttt	4680
gtttgccgga	tcaagagcta	ccaactcttt	ttccgaaggt	aactggcttc	agcagagcgc	4740
agataccaaa	tactgtcctt	ctagtgtagc	cgtagttagg	ccaccacttc	aagaactctg	4800
tagcacccgc	tacatacctc	gctctgctaa	tctctgtacc	agtggctgct	gccagtgccg	4860
ataagtcgtg	tcttaccggg	tgggactcaa	ccgcaagtt	accggataag	gcgcagcgg	4920
cgggctgaac	ggggggtctg	tgcacacagc	ccagcttggg	gcgaaacgacc	tacaccgaac	4980
tgagatacct	acagcgtgag	cattgagaaa	gcgccacgct	tccogaagg	agaaagcgg	5040
acaggtatcc	ggtaagcggc	agggctcgaa	caggagagcg	cacgagggag	cttccagggg	5100

ES 2 609 359 T3

ggaaagcctg	gtatctttat	agtcctgtcg	ggtttcgcca	cctctgactt	gagcgtogat	5160
ttttgtgatg	ctcgtcaggg	gggcccagcc	tatggaaaaa	cgccagcaac	gcgccctttt	5220
taaggttcct	ggccttttgc	tggccttttg	ctcacatggt	ctttcctgcg	ttatcccctg	5280
attctgtgga	taaccgtatt	accgcctttg	agtgagctga	taccgctcgc	cgacgcccga	5340
cgaccgagcg	cagcagtgca	gtgagcaggg	aagcgggaaga	gcgcccataa	cgcaaacccg	5400
ctctccccgc	gcgttgcccg	attcattaa-	gcagctggca	cgacaggttt	cccgactgga	5460
aagcgggag	tgagcgcac	gcaattaatg	tgattacct	cactcattag	gcaccccagg	5520
ctttacactt	tatgcttccc	gctcctatgt	tgtgtggaat	tgtgagccga	taacaatttc	5580
acacaggaaa	cagctatgac	catgattacg	ccaagctcgg	aattaacct	cactaaaggg	5640
aacaaaaact	qactagt.					5657

Figura 11 (SEQ ID No.18): Fcab01

ggcccagccg	gccatggccg	agcccaaatc	ttgtgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	60
cccagcaact	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttctc	ttcccccaa	aacccaagga	120
caccctcatg	atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	gtggtggacg	tgagccacga	180
agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	240
aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	300
gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	gtctccaaca	aagccctccc	360
agcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	cctcgagaac	cacaggtgta	420
caccctgccc	ccatcccggg	atgaactgnn	bnnbnnbcag	gtcagcctga	cctgctcgtg	480
caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	540
caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	600
gctcaccgtg	nbnbnbnbn	nbnbnbnbn	bnnbagtggtg	nbnbnbggga	acgtcttctc	660
atgctccgtg	atgcatgagg	ctctgcacaa	ccactacacg	cagaagagcc	tctccctgtc	720
tccgggtaaa	gcggccgc					738

Figura 12 (SEQ ID No.19): Fcab02

ggcccagccg	gccatggccg	agcccaaatc	ttgtgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	60
cccagcaact	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttctc	ttcccccaa	aacccaagga	120
caccctcatg	atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	gtggtggacg	tgagccacga	180
agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	240
aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	300
gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	gtctccaaca	aagccctccc	360
agcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	cctcgagaac	cacaggtgta	420
caccctgccc	ccatcccggg	atgagctgkm	tkmtkmtcag	gtgagcctga	cctgctcgtg	480
caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	540
caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	600
gctcaccgtg	kmtkmtkmtk	mtkmtkmtkm	tkmtagtggtg	kmtkmtggga	acgtcttctc	660
atgctccgtg	atgcatgagg	ctctgcacaa	ccactacacg	cagaagagcc	tctccctgtc	720
tccgggtaaa	gcggccgc					738

Figura 13 (SEQ ID No.20): Fcab03

ggcccagccg	gccatggccg	agcccaaatc	ttgtgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	60
cccagcaact	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttctc	ttcccccaa	aacccaagga	120
caccctcatg	atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	gtggtggacg	tgagccacga	180
agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	240
aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	300
gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	gtctccaaca	aagccctccc	360
agcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	cctcgagaac	cacaggtgta	420
caccctgccc	ccatcccggg	atgagctgnn	bnnbnnbcag	gtcagcctga	cctgctcgtg	480
caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	540
caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	600
gctcaccgtg	gggtctnbn	nbnbnbnbn	bnnbnbnbn	agcggcaggt	ggnnbnbnbgg	660
gaaagctctc	tcatgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccaactaca	cgcagaagag	720
cctctccctg	tctccgggta	aagcggccgc				750

Figura 14 (SEQ ID No.21): Fcab04

ggcccagccg	gccatggccc	agcccaaate	ttgtgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	60
cccagcacct	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttctc	ttcccccaa	aacccaagga	120
caccctcatg	atctcccgga	cccctgagg	cacatgctg	gtggtggacg	tgagccacga	180
agaccctgag	gtcaagttca	actggtacg	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	240
aaagccgcg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	300
gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	gtctccaaca	aagccctccc	360
agccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	cctcgagaac	cacaggtgta	420
caccctgccc	ccatctcggg	atgagctgkm	tkmtkmtcag	gtcagcctga	cctgcctggt	480
caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccg	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	540
caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	600
gctcaccgtg	ggttctkmtk	mtkmtkmtkm	tktmtkmtkmt	agcggcaggt	ggtkmtkmtgg	660
gaacgtcttc	tcattgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	720
cctctccctg	tctccgggta	aagcgccgc				750

Figura 15 (SEQ ID No.22): Fcab05

ggcccagccg	gccatggccc	agcccaaate	ttgtgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	60
cccagcacct	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttctc	ttcccccaa	aacccaagga	120
caccctcatg	atctcccgga	cccctgagg	cacatgctg	gtggtggacg	tgagccacga	180
agaccctgag	gtcaagttca	actggtacg	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	240
aaagccgcg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	300
gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	gtctccaaca	aagccctccc	360
agccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	cctcgagaac	cacaggtgta	420
caccctgccc	ccatcccgtg	atgagkmtnn	bnnbnnbkmt	gtcagcctga	cctgcctggt	480
caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccg	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	540
caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	600
gctcaccgtg	nbnbnbnbr	nbnbnbnbn	bnnbaggtgg	nbnbnbggga	acgtcttctc	660
atgctccgtg	atgcatgagc	ctctgcacaa	ccactacacg	cagaagagcc	tctccctgtc	720
tccgggtaaa	gcgccgc					738

Figura 16 (SEQ ID No.23): Fcab06

ggcccagccg	gccatggccc	agcccaaate	ttgtgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	60
cccagcacct	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttctc	ttcccccaa	aacccaagga	120
caccctcatg	atctcccgga	cccctgagg	cacatgctg	gtggtggacg	tgagccacga	180
agaccctgag	gtcaagttca	actggtacg	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	240
aaagccgcg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	300
gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	gtctccaaca	aagccctccc	360
agccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	cctcgagaac	cacaggtgta	420
caccctgccc	ccatcccggg	acgagkmtkm	tkmtkmtkmt	gtcagcctga	cctgcctggt	480
caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccg	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	540
caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	600
gctcaccgtg	kmtkmtkmtk	mtkmtkmtkm	tktmtaggtgg	kmtkmtggga	acgtcttctc	660
atgctccgtg	atgcatgagc	ctctgcacaa	ccactacacg	cagaagagcc	tctccctgtc	720
tccgggtaaa	gcgccgc					738

Figura 17 (SEQ ID No.72): Vector pYD1

acggattaga	agccgcccag	cgggtgacag	ccctccgaag	gaagactctc	ctccgtgctg	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgccgc	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgcga	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggtaa	taatcagcga	agcgatgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgtaa	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaataatac	420
ctctatactt	taacgtcaac	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	aggggaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgta	ttgcttcagt	tttagcacag	gaactgacaa	600

ES 2 609 359 T3

ctatatgcga	gcaaatcccc	tcaccaactt	tagaatcgac	gccgtactct	ttgtcaacga	660
ctactatttt	ggccaacggg	aaggcaatgc	aaggagtttt	tgaatattac	aaatcagtaa	720
cgtttgcag	taattgcggg	tctcaccctt	caacaactag	caaaggcagc	cccataaaca	780
cacagtatgt	ttttaagctt	ctgcaggcta	gtgggtgggg	tggttctggt	gggtggtggt	840
ctgggtgggtg	tggttctgct	agcatgactg	gtggacagca	aatgggtcgg	gatctgtacg	900
acgatgacga	taaggtacca	ggatcccagt	tgggtgaatt	ctgcagatat	ccagcacagt	960
ggcggccgct	cgagtctaga	gggcccttcg	aaggtaaagc	tatcccctaac	cctctcctcg	1020
gtctcgattc	tacgcgtacc	ggtcacatc	accatcacca	ttgagtttaa	acccgctgat	1080
ctgataacaa	cagtgtagat	gtaacaaaat	cgactttggt	cccactgtac	ttttagctcg	1140
tacaaaatac	aataatactt	tcattttctcc	gtaaacaca	tgttttccca	tgtaatatcc	1200
ttttctat	ttcgttcogt	taccaacttt	acacatactt	tatatageta	ttcactteta	1260
tacactaaaa	aactaagaca	atttttaatt	tgctgcctgc	catatttcaa	tttgttataa	1320
attcctataa	tttctctat	tagtagctaa	aaaaagatga	atgtgaaatc	aatcctaaga	1380
gaattgggca	agtgacacaa	caatacttaa	ataaatacta	ctcagtaata	acctatctct	1440
tagcattttt	gacgaaat	gctattttgt	tagagtcttt	tacaccattt	gtctccacac	1500
ctccgcttac	atcaacacca	ataacgccat	ttaatctaag	cgcatcacca	acattttctg	1560
cgctcagtc	accagctaac	ataaaatgta	agctctcggg	gctctcttgc	cttccaaacc	1620
agtcagaaat	cgagttccaa	tccaaaagtt	cacctgtccc	acctgcttct	gaatcaacaa	1680
agggataaaa	cgaaatgaggt	ttctgtgaag	ctgcaactgag	tagtatgttg	cagtcttttg	1740
gaaatacgag	tcttttaata	actggcaaac	cgaggaactc	ttgggtattc	tgccacgact	1800
catctcogtg	cagttggacg	atatcaatgc	cgtaatcatt	gaccagagcc	aaaacatcct	1860
ccttaggttg	attacgaaac	acgccaacca	agtatctcgg	agtgcctgaa	ctatttttat	1920
atgcttttac	aagacttgaa	attttccttg	caataacogg	gtcaattggt	ctctttctat	1980
tgggcacaca	tataataacc	agcaagtccg	catcggaaatc	tagagcacat	tctgcggcct	2040
ctgtgctctg	caagccgcaa	actttcacca	atggaccaga	actacctgtg	aaattaataa	2100
cagacatact	ccaagctgcc	tttgtgtgct	taatcacgta	tactcacgtg	ctcaatagtc	2160
accaatgccc	tccctcttgg	ccctctcctt	ttcttttttc	gaccgaattt	cttgaagacg	2220
aaagggcctc	gtgatacgcc	tatttttata	ggttaatgtc	atgataataa	tggtttctta	2280
ggacggatcg	cttgcctgta	acttacacgc	gcctcgtatc	ttttaatgat	ggaataat	2340
gggaatttac	tctgtgttta	tttattttta	tgttttgtat	ttggatttta	gaaagtaaat	2400
aaagaaggta	gaagagttac	ggaatgaaga	aaaaaaaaata	aacaaaggtt	taaaaat	2460
caacaaaaag	cgtactttac	atatatat	attagacaag	aaaagcagat	taaatagata	2520
tacattcgat	taacgataag	taaaatgtaa	aatcacagga	ttttcgtgtg	tggcttctta	2580
cacagacaag	atgaaacaat	tcggcattaa	tacctgagag	caggaagagc	aagataaaaag	2640
gtagtatttg	ttggcgatcc	ccctagagtc	ttttacatct	tcggaaaaca	aaaactat	2700
tttctttaat	ttcttttttt	actttctatt	tttaatttat	atatttata	taaaaat	2760
aaattataat	tatttttata	gcacgtgatg	aaaaggacc	aggtggcact	tttcggggaa	2820
atgtgcgcgg	aaccctatt	tgtttat	tctaaataca	ttcaaatatg	tatccgctca	2880
tgagacaata	accctgataa	atgcttcaat	aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtat	2940
aacatttccg	tgtcgcctt	attccctttt	ttgcggcatt	ttgccttcc	gtttttgctc	3000
accagaaac	gctggtgaaa	gtaaaagatg	ctgaagatca	gttgggtgca	cgagtgggtt	3060
acatcgaact	ggatctcaac	agcggtaaga	tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacggt	3120
ttccaatgat	gagcactttt	aaagtctctg	tatgtggcgc	ggtattatcc	cgtgttgacg	3180
ccgggcaaga	gcaactcggg	cgccgcatac	actatctca	gaatgacttg	ggtgagtact	3240
caccagtcac	agaaaagcat	cttacggatg	gcatgacagt	aagagaatta	tgcagtctg	3300
ccataaccat	gagtgataac	actgcggcca	acttacttct	gacaacgac	ggaggacoga	3360
aggagctaac	cgcttttttg	cacaacatgg	gggatcatgt	aactcgcctt	gatcgtggg	3420
aaccggagct	gaatgaagcc	ataccaaacg	acgagcgtga	caccacgatg	cctgtagcaa	3480
tggcaacaac	gttgcgcaaa	ctattaactg	gcgaactact	tactctagct	tcccggcaac	3540
aattaataga	ctggatggag	gcggataaag	ttgcaggacc	acttctgcgc	tcggcccttc	3600
cggtggctg	gtttattgct	gataaatctg	gagccgtgga	gcgtgggtct	cgcggtatca	3660
ttgcagcact	ggggccagat	ggtaaagcct	cccgtatcgt	agttatctac	acgacgggca	3720
gtcaggcaac	tatggatgaa	cgaaatagac	agatcgtgga	gataggtgcc	tcactgatta	3780
agcattggta	actgtcagac	caagtttact	catatatact	ttagattgat	ttaaaacttc	3840
atttttaatt	taaaaggatc	taggtgaaga	tccttttga	taactctatg	accaaaatcc	3900
cttaacgtga	gttttcgttc	cactgagcgt	cagaccctgt	agaaaagatc	aaaggatctt	3960
cttgagatcc	ttttttctg	cgcgtaatct	gctgcttgca	aacaaaaaaa	ccaccgctac	4020
cagcgggtgg	ttgtttgccc	gatcaagagc	taccaactct	ttttccgaag	gtaactggct	4080
tcagcagagc	gcagatacca	aatactgtcc	ttctagtgtg	gccgtagtta	ggccaccact	4140
tcaagaactc	tgtagcaccg	cctacatacc	tcgctctgct	aatcctgtta	ccagtggctg	4200
ctgccagtgg	cgataagtcg	tgtcttaccg	ggttggactc	aagacgatag	ttaccggata	4260

ES 2 609 359 T3

aggcgcagcg	gtcggggtga	acgggggggt:	cgtgcacaca	gcccagcttg	gagcgaacga	4320
cctacacoga	actgagatac	ctacagcgtg	agcattgaga	aagcgcacag	cttcccgaag	4380
ggagaaagcg	ggacaggtat	cggtaagcgg	gcagggtcgg	aacaggagag	cgcacgaggg	4440
agcttccagc	ggggaacgcc	tggatcttt:	atagtcctgt	cgggtttcgc	cacctctgac	4500
ttgagcgtcg	atTTTTgtga	tgcctcctcag	ggggcccgag	cctatggaaa	aacgccagca	4560
acggggcctt	tttacggttc	ctggccttt:	gctggccttt	tgtccacatg	ttcttctctg	4620
cgttatcccc	tgattctgtg	gataaccgta	ttacgcctt	tgagtgagct	gataccgctc	4680
gccgcagccg	aacgaccgag	cgcagcagc	caqtgagcga	ggaagccgaa	gaqcgcccaa	4740
tacgcaaac	gcctctcccc	gcgcgttggc	cgatcatta	atgcagctgg	cacgacaggt	4800
l.tcccgaclg	gaaagcgggc	aglgagcgc	acgcaattaa	l.glgagllac	ct.cact.catt	4860
aggcaaccca	ggctttacac	tttatgcttc	cggctctat	gttgtgtgga	attgtgagcg	4920
gataacaatt	tcacacagga	aacagctatg	accatgatta	cgccaagcnc	ggaa:taacc	4980
ctcactaaag	ggaacaaaag	ctggctagt				5009

Figura 18 (SEQ ID No.73): Vector modificado pYD1Nhe

acggattaga	agcgcgcagc	cgggtgacag	ccctccgaag	gaagactctc	ctccgtgcgt	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgcgcg	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa:	caaat:taaca	accataggat	gataatgcga	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggtaa:	taatcagcga	agcagtgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggttttgtatt	acttcttatt	caaatgtaa:	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaatatatac	420
ctctataact	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	attttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgcttcagt	gctagcacag	gaactgacaa	600
ctatatgcga	gcaaatcccc	tcaccaact:	tagaatcgac	gcgtaactct	ttgtcaacga	660
ctactatttt	ggccaacggg	aaggcaatgc	aaggagtttt	tgaatattac	aaatcagtaa	720
cgttttgtcag	taattgcggg	tctcaccct:	caacaactag	caaaggcagc	cccataaaca	780
cacagtatgt	ttttaagctt	ctgcaggcta	gtggtgggtg	tggttctggt	ggtggtggtt	840
ctggtggtgg	tggttctgct	agcatgactg	gtggacagca	aatgggtcgg	gatctgtacg	900
acgatgacga	taaggtacca	ggatccagtg	tgggtgaatt	ctgcagatat	ccagcagct	960
ggcggccgct	cgagctctaga	ggccctctcg	aaggtaaagc	tatccctaac	cctctcctcg	1020
gtctcgattc	taocgcgtacc	ggtcctcctc	accatcacca	ttgagtttaa	accgcgtgat	1080
ctgataacaa	cagtgtagat	gtaacaaaa:	cgactttggt	cccactgtac	tttttagctcg	1140
tacaaaaatac	aatatacttt	tcatttctcc	gtaaacacaa	tgttttccca	tgtaatatcc	1200
ttttctatatt	ttcgttccgt	taccaactt:	acacatactt	tatatagcta	ttcactttcta	1260
tacactaaaa	aactaagaca	attttaatt:	tgtcgcctgc	catattttcaa	ttgtttataa	1320
attcctataa	tttatcctat	tagtagctaa	aaaaagatga	atgtgaatcg	aatcctaaga	1380
gaattgggca	agtgcacaaa	caatacttaa	ataaatacta	ctcagtaata	acctatttct	1440
tagcattttt	gacgaaattt	gctattttgc	tagagctttt	tacaccattt	gtctccacac	1500
ctccgcttac	atcaacacca	ataacgccat	ttaatctaa	cgcataacca	accttttctg	1560
gcgtcagtc	accagctaac	ataaaatgta	agctctcggg	gctctcttgc	cttccaaccc	1620
agtcagaaat	cgagttccaa	tccaaaagt:	cacctgtccc	acctgcttct	gaatcaaaaca	1680
agggaaataa	cgaatgaggt	ttctgtgaag	ctgcactgag	tagtatggtg	cagctttttg	1740
gaaatacagc	tcttttaata	actggcaaac	cgaggaactc	ttggtattct	tgccacgact	1800
catctccgtg	cagttggacg	atatcaatgc	cgtaatcatt	gaccagagcc	aaaacatcct	1860
ccttaggttg	attacgaaac	acgccaacca	agtatttcgg	agtgcctgaa	ctatttttat	1920
atgctttttac	aagacttgaa	attttccctg	caataaccgg	gtcaattggt	ctctttctat	1980
tgggcacaca	tataataccc	agcaagtcag	catcggaaatc	tagagccat	tctgcccct	2040
ctgtgctctg	caagccgcaa	actttcacca	atggaccaga	actacctgtg	aaattaataa	2100
cagacataact	ccaagctgcc	tttgtgtgc:	taactacgta	tactcaogtg	ctcaatagtc	2160
accaatgcc	tccctcttgc	ccctctcct:	ttcttttttc	gaccgaattt	cttgaagacg	2220
aaagggcctc	gtgatacgcc	tatttttata	ggttaatgtc	atgataataa	tggtttctta	2280
ggacggatcg	cttgccctgta	acttacacgc	gcctcgtatc	ttttaatgat	ggaataattt	2340
gggaattttac	tctgtgttta	tttattttta	tgttttgtat	ttggatttta	gaaagtaaat	2400
aaagaaggtta	gaaaggttac	ggaatgaaga	aaaaaaaaata	aacaaagggt	taaaaaattt	2460
caacaaaaag	cgtactttac	atatatatt:	attagacaag	aaaagcagat	taaatagata	2520
tacattcgat	taacgataac	taaaatgtaa	aatcacagga	ttttcgtgtg	tggtcttcta	2580
cacagacaag	atgaaacaat	tgggcattaa	tacctgagag	caggaagagc	aagataaaag	2640
gtagtatattg	ttggcgatcc	ccctagagtc	ttttacatct	toggaaaaca	aaaactattt	2700

ES 2 609 359 T3

ttcttttaat	ttcttttttt	acttttctat	tttaatttat	atattttatat	taaaaaat	2760
aaattataat	tatttttata	gcacgtgatg	aaaaggaccc	aggtggcact	tttcggggaa	2820
atgtgocggg	aacccttatt	tgtttatttt	tctaaataca	ttcaaataatg	tatccgctca	2880
tgagacaata	accctgataa	atgcttcaa	aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtattc	2940
aacattttccg	tgtcgccttt	attcccttt	ttgcggcatt	ttgccttctc	gtttttgctc	3000
accagaaaac	gctggtgaaa	gtaaaagatg	ctgaagatca	gttgggtgca	cgagtggggt	3060
acatogaact	ggatctcaac	agcggtaaga	tccttgagag	tttcgcccc	gaagaacggt	3120
ttccaatgat	gagcactttt	aaagttctgc	tatgtggcgc	ggtattatcc	cgtgttgacg	3180
cogggcaaga	gcaactcgg	cgcgcatac	actattctca	gaatgacttg	gttgagtact	3240
caccagtcac	agaaaagcat	cttacggatg	gcattgacagt	aagagaatta	tgcatgctg	3300
ccataaccat	gagtgataac	actgcggcca	acttacttct	gacaacgac	ggaggaccga	3360
aggagctaac	cgcttttttg	cacaacatgg	gggatcatgt	aactcgcctt	gatcgttggg	3420
aaccggagct	gaatgaagcc	ataccaaacg	acgagcgtga	caccacgatg	cctgtagcaa	3480
tggcaacaac	gttgcgcaaa	ctattaactg	gcgaactact	tactctagct	tcccggaac	3540
aattaataga	ctggatggag	gcggataaag	ttgcaggacc	acttctgcgc	tcggcccttc	3600
cggctggctg	gtttattgct	gataaatctg	gagccggtga	gcgtgggtct	cgcggtatca	3660
ttgcagcact	ggggccagat	ggtaagccc	cccgtatcgt	agttatctac	acgacgggca	3720
gtcaggcaac	tatggatgaa	cgaaatagac	agatcgtgga	gatagggtgc	tcactgatta	3780
agcattggta	actgtcagac	caagtttac	catatatact	ttagattgat	ttaaaacttc	3840
atttttaatt	taaaaggatc	taggtgaaga	tcctttttga	taatctcatg	acccaaatcc	3900
cttaacgtga	gttttcgctc	cactgagcgc	cagaccctgc	agaaaagatc	aaaggatctt	3960
cttgagatcc	ttttttctg	cgcgtaact	gctgcttgc	aacaaaaaaa	ccaccgctac	4020
cagcgggtgg	ttgtttgccg	gatcaagagc	taccaactct	ttttccgaag	gtaactggct	4080
tcagcagagc	gcagatacca	aatactgtcc	ttctagtgtg	gcctgagtta	ggccaccact	4140
tcaagaactc	tgtagcaccg	cctacatacc	tcgctctgct	aatcctgtta	ccagtggctg	4200
ctgccagtgg	cgataagtcg	tgtcttaccg	ggttggactc	aagacgatag	ttaccggata	4260
aggcgcagcg	gtcgggctga	acgggggggt	cgtgcacaca	gccagcttg	gagcgaacga	4320
cctacaccga	actgagatac	ctacagcgtg	agcattgaga	aagcgcacg	cttcccgag	4380
ggagaaaagg	ggacaggtat	cgggtaagcg	gcagggtcgg	aacaggagag	cgcacgagg	4440
agcttccagg	ggggaacgcc	tggtatctt	atagtctctg	cgggtttcgc	cacctctgac	4500
ttgagcgtcg	atttttgtga	tgctctcag	ggggccogag	cctatggaaa	aacgccagca	4560
acgcggcctt	tttacggttc	ctggccttt	gctggccttt	tgctcacatg	ttctttcctg	4620
cgttatcccc	tgattctgtg	gataaccgta	ttaccgcctt	tgagtgagct	gataaccgctc	4680
gcccagaccg	aacgaccgag	cgcagcagcg	cagtgagcga	ggaagcggaa	gagcgcacaa	4740
tacgcaaac	gcctctcccc	gcgcgttggc	cgattcatta	atgcagctgg	cacgacaggt	4800
ttcccgactg	gaaagcgggc	agtgagcga	acgcaattaa	tgtgagttac	ctcactcatt	4860
aggcacccca	ggctttacac	tttatgcttc	cggctcctat	gttgtgtgga	attgtgagcg	4920
gataacaatt	tcacacagga	aacagctatg	accatgatta	cgccaagctc	ggaattaacc	4980
ctcactaaag	ggaacaaaag	ctggctagt				5009

Figura 19 (SEQ ID No.74): Vector pYD1Ink

acggattaga	agccgccgag	cgggtgacag	cctccgaag	gaagactctc	ctccgtgcgt	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgcgcg	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaacctcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgcga	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggttaa	taatcagcga	agcgtgatt	ttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttta	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgtaa	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaatatac	420
ctctatactt	taacgtcaag	gagaaaaaac	ccgggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaatatt	aagctaattc	tacttcatac	attttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgettcagt	getagccgct	ggggccatgg	600
ttactgattg	gcgcgccgga	tccttcagac	tctgcagaat	tcggcccgct	acttaattaa	660
gtttaaacc	gctgatctga	taacaacag	gtagatgtaa	caaaatcgac	ttgttccca	720
ctgtactttt	agctcgtaca	aaatacaata	tacttttcat	ttctccgtaa	acaacatggt	780
ttccatgta	atataccttt	ctattttttg	ttccggttacc	aactttacac	atactttata	840
tagctattca	cttctataca	ctaaaaaac	aagacaattt	taattttgct	gcctgccata	900
tttcaatttg	ttataaatc	ctataattta	tcctattagt	agctaaaaaa	agatgaatgt	960
gaatcgaatc	ctaagagaat	tgggcaagtg	cacaaacaat	acttaataaa	atactactca	1020
gtaataacct	atctcttagc	atttttgacg	aaatgtgcta	ttttgttaga	gtcttttaca	1080
ccatttgtct	ccacacctcc	gcttacatca	acaccaataa	cgccatttaa	tctaagcga	1140

ES 2 609 359 T3

tcaccaacat	tttctggcgt	cagtcocacca	gctaacaataa	aatgtaagct	ctcggggctc	1200
tcttgcccttc	caaccagtc	agaaatcgag	ttccaatcca	aaagttcacc	tgtcccacct	1260
gcttctgaat	caaacaaggg	aataaacgaa	tgagggtttct	gtgaagctgc	actgagtagt	1320
atgttgacgt	cttttgaaa	tacgagtct-	ttaataactg	gcaaaccgag	gaactcttgg	1380
tattcttgcc	acgactcacc	tccgtgcag-	tggacgatat	caatgcogta	atcattgacc	1440
agagccaaaa	catcctcctt	aggttgatta	cgaaacacgc	caaccaagta	tttcggagtg	1500
cctgaactat	ttttatatgc	ttttacaaga	cttgaaatth	tccttgcaat	aaccgggtca	1560
attgtttctct	ttctattggg	cacacatata	ataccagca	agtcagcacc	ggaatctaga	1620
gcacatttag	cggcctctgt	gctctgcaag	cgcgaaactt	tcaccaatgg	accagaacta	1680
cctgtgaaat	taataacaga	catactccaa	gctgcctttg	tgtgcttaat	cacgtatact	1740
cacgtgctca	atagtcacca	atgcctctcc	tcttggccct	ctccttttct	ttttctgacc	1800
gaatttcttg	aagacgaaag	ggcctcgtga	tacgcctatt	tttatagggt	aatgtcatga	1860
taataatggt	ttcttagggc	ggatcgttg	cctgtaactt	acacgcgct	cgtatctttt	1920
aatgatggaa	taatttggga	atctactctg	tgtttattht	tttttatggt	ttgtatttgg	1980
atthtagaaa	gtaataaaag	aaggtagaag	agttacggaa	tgaagaaaa	aaaataaaca	2040
aaggtthaac	aaatthcaac	aaaagcgtta	ctttacatat	atatttatta	gacaagaaaa	2100
gcagattaaa	tagatataca	ttcgattaac	gataagtaaa	atgtaaaatc	acagatthtt	2160
cgtgtgtggt	cttctacaca	gacaagatga	aacaattcgg	cattaatacc	tgagagcagg	2220
aagagcaaga	taaaaggtag	tatttgttgg	cgatccccct	agagtctttt	acatctctgg	2280
aaaacaaaa	ctatthtttc	thtaattth-	thttthactt	tctatthttt	atthtatata	2340
ttatathaaa	aaatthaaat	tataattat-	thttatagcac	gtgatgaaaa	ggaccaggt	2400
ggcactthttc	ggggaaatgt	gcgcggaaacc	cctatthtgt	tattthttct	aatacattca	2460
aatatgtatc	cgctcatgag	acaataacc	tgataaatgc	thcaataata	thgaaaaagg	2520
aagagtatga	gtattcaaca	thtccgtgtc	gcctthattc	cctthtttgc	ggcattthtgc	2580
cttccgttht	ttgtctaccc	agaaaacgctg	gtgaaagtaa	aagatgctga	agatcagttg	2640
ggtgcacgag	tgggttacat	cgaactgga-	ctcaacagcg	gtaagatcct	tgagagthtt	2700
cgccccgaag	aacgtthttcc	aatgatgagc	actththaaag	thctgtctatg	tggcgcggta	2760
ttatcccgtg	ttgacgcggc	gcaagagcaa	ctcggctgc	gcatacacta	thctcagaat	2820
gacttggttg	agtactcacc	agtcacagaa	aagcatctta	cggatggcat	gacagtaaga	2880
gaattttagc	gtgtgccc	aaccatgag-	gataacactg	cggccaactt	actthtgaca	2940
acgatcggga	gaccgaagg	gctaaccgc-	thtttgacaca	acatggggga	ctatgtaact	3000
cgccctgac	gttgggaacc	ggagctgaa-	gaagccatac	caaacgacga	gcgtgacacc	3060
acgatgcctg	tagcaatggc	aacaacgttg	cgcaaaactat	taactggcga	actacttact	3120
ctagcttccc	ggcaacaatt	aatagactgg	atggaggcgg	ataaagttgc	aggaccactt	3180
ctgcgctcgg	cccttccggc	tggctggtt-	atgtctgata	aatctggagc	cggtagcgt	3240
gggtctcgg	gtatcattgc	agcaactggg	ccagatggta	agccctcccg	tatcgtagtt	3300
atctacacga	cgggcagtc	ggcaactatg	gatgaacgaa	atagacagat	cgctgagata	3360
ggtgcctcac	tgatthagca	thggttaactg	tcagaccaag	thtactcata	tatactthtag	3420
attgattthaa	aaactcattt	thtaattthaa	aggatctagg	tgaagatcct	thttgataat	3480
ctcatgacca	aaatccctta	acgtgagtt-	tcgttccact	gagcgtcaga	ccccgtagaa	3540
aagatcaaa	gatcttcttg	agatcctth-	thtctgcggc	taatctgctg	cttgcaaca	3600
aaaaaaccac	cgctaccagc	ggtggtttg-	thgcccgatc	aagagctacc	aactctthtt	3660
ccgaaggtaa	ctggcttccag	cagagcgcag	ataccaaata	ctgtccttct	agtgtagccg	3720
tagttaggcc	accacttcaa	gaactctgta	gcaccgccta	catacctcgc	tctgctaact	3780
ctggtaccag	tggctgctgc	cagtggcga-	aagtctgtgc	thaccgggtt	ggactcaaga	3840
cgatagttac	cggataaggc	gcagcggctc	gctgaaacgg	gggttctgtg	cacacagccc	3900
agcttgagc	gaacgacct	caccgaactg	agatacctac	agcgtgagca	thgagaaagc	3960
gccacgcttc	ccgaagggag	aaaggcggac	aggtatccgg	taagcggcag	ggtcggaaaca	4020
ggagagcgca	cgagggagct	tccagggggg	aacgcctggt	atctthtatag	tcctgtcggg	4080
thtccgccacc	tctgacttga	gcgtcgatt-	thtgtatgct	cgtcaggggg	gccagacct	4140
tgaaaaaacg	ccagcaacgc	ggcctthttt	cgttctctgg	cctthttgctg	gcctthttgct	4200
cacatgthct	thcctgctgt	atccccgta-	tctgtggata	accgtattac	cgctthtgag	4260
tgagctgata	ccgctcggc	cagcggaaac	accgagcga	gcgagtcagt	gagcggagaa	4320
gcggaagagc	gcccaatac	caaaccgc-	ctccccgcgc	gthggccgat	tcattaatgc	4380
agctggcagc	acaggtthtc	cgactggaaa	gcgggcagtg	agcgaacgc	aattaatgtg	4440
agttacctca	ctcattaggc	accccaggc-	thtactthtt	tgcttccggc	tcctatgttg	4500
tgtggaattg	tgagcggata	acaatttcac	acaggaacaa	gctatgacca	tgattacgcc	4560
aagctcggaa	thtaacctca	ctaaagggaa	caaaagctgg	ctagt		4605

Figura 20 (SEQ ID No.75): vector pYD1mata

ES 2 609 359 T3

acggattaga	agccgcccag	cgggtgacag	ccctccgaag	gaagactctc	ctccgtgcgt	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgccgc	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaat	caaattaaca	accataggat	gataatgcga	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggtaat	taatcagcga	agcgatgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttta	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgtaat	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaatatac	420
ctctataact	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccgatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgta	ttgcttcagt	gctagccgct	ggggccatgg	600
ttactgattg	gcgcgccgga	tccgatgtaa	caaaatcgac	tttgttcca	ctgtactttt	660
agctcgtaca	aaatacaata	tacttttcat	ttctccgtaa	acaacatggt	ttcccatgta	720
atataccttt	ctatthttcg	ttccgttacc	aactttacac	atactttata	tagctattca	780
cttctataca	ctaaaaaact	aagacaattt	taattttgct	gcctgccata	tttcaatttg	840
ttataaattc	ctataattta	tcctattagt	agctaaaaaa	agatgaatgt	gaatcgaatc	900
ctaagagaat	tgcgtcgaaa	ttcggccgcg	tacttaatta	agthttaaacc	cgctgatctg	960
ataacaacag	tgtagatgta	acaaaatcga	ctttgttccc	actgtacttt	tagctcgtac	1020
aaaatacaat	atacttttca	ttttccgta	aacaacatgt	tttcccatgt	aatataccttt	1080
tctatthttc	gttccgttac	caactttaca	catactttat	atagctattc	acttctatac	1140
actaaaaaac	taagacaatt	ttaattttgc	tgccctccat	atthtcaattt	gttataaatt	1200
cctataatth	atcctattag	tagctaaaaa	aagatgaatg	tgaatcgaat	cctaagagaa	1260
ttgggcaagt	gcacaaacaa	tacttaataa	aataactctc	agtaataacc	tatttcttag	1320
cattthttgac	gaaatthgct	atthtttag	agthttttac	accatttgte	tcacacctc	1380
cgcttacatc	aacaccaata	acgccattta	atctaaagcgc	atcaccaaca	ttttctggcg	1440
tcagtccacc	agctaacata	aaatgtaagc	tctcggggct	ctcttgccct	ccaaccctcgt	1500
cagaaatcga	gttccaatcc	aaaagttcac	ctgtcccacc	tgcttctgaa	tcaaacaagg	1560
gaataaacga	atgaggtttc	tgtgaagctg	cactgagtag	tatgttgca	tctthttggaa	1620
atacagagtct	tttaataact	ggcaaaccca	ggaactcttg	gtattcttgc	cacgactcat	1680
ctccgtgcag	ttggacgata	tcaatgccgt	aatcattgac	cagagccaaa	acatctctct	1740
taggtttgatt	acgaaacacg	ccaaccaagt	atthcggagt	gcctgaacta	ttthttatag	1800
ctthttacaag	acttgaaatt	ttccttgcaa	taaccgggtc	aattgttctc	tttctattgg	1860
gcacacatat	aatacccagc	aagtcagcat	cggaatctag	agcacattct	gcgccctctg	1920
tgctctgcaa	gccgcaaact	ttcaccaatg	gaccagaact	acctgtgaaa	ttataaacag	1980
acatactcca	agctgccctt	gtgtgcttaa	tcacgtatac	tcacgtgctc	aatagtcacc	2040
aatgccctcc	ctcttgcccc	tctcctthtc	ttthttccgac	cgaatttctt	gaagacgaaa	2100
gggcctcgtg	atacgcctat	ttthttataggt	taatgtcatg	ataataatgg	tttcttagga	2160
cggatcgctt	gcctgtaact	tacacgcgcc	tcgtatctth	taatgatgga	ataathttggg	2220
aatttactct	gagthttattt	ttgtttatgt	ttgtattht	gattthtagaa	agtaaatata	2280
gaaggtagaa	gagttacgga	atgaagaaaa	aaaaataaac	aaagthttaa	aaaathttcaa	2340
caaaaagcgt	actttacata	tatathttatt	agacaagaaa	agcagattaa	atagatatac	2400
atthcagattaa	cgataagtaa	aatgtaaaat	cacaggattt	tcgtgtgtgg	tcttctacac	2460
agacaagatg	aaacaattcg	gcattaatac	ctgagagcag	gaagagcaag	ataaaaaggtta	2520
gtatthttgtg	gcgatcccc	tagagtctth	tacatcttcc	gaaaacaaaa	actatthttt	2580
ctthtaathttc	ttthtttact	ttctatthttt	aathttatata	tttatattaa	aaaathttaaa	2640
ttataattht	ttthttatagca	cgtgatgaaa	aggaccag	tggcacttht	cggggaaatg	2700
tgccgcggaac	ccctatthttg	ttatthttct	aaatacattc	aaatattgtat	ccgctcatga	2760
gacaataaac	ctgataaatg	cttcaataat	atthgaaaaag	gaagagtatg	agtattcaac	2820
atthtccgtgt	gcctcttatt	ccctthttttg	cggcatttht	cccttctgtt	tttgcctacc	2880
cagaaacgct	ggtgaaagta	aaagatgctg	aagatcagtt	gggtgcacga	gtgggttaca	2940
tcgaactgga	tctcaacagc	ggtaaagatcc	ttgagagtht	tcgccccgaa	gaacgthttc	3000
caatgatgag	cactthttaaa	gttctgctat	gtggccgctg	attatccctg	gttgacgccc	3060
ggcaagagca	actcggctgc	cgcatacact	atthtccagaa	tgactthgtt	gagtactcac	3120
cagtcacaga	aaagcatctt	acggatggca	tgacagttaag	agaattatgc	agtgtccca	3180
taaccatgag	tgataaacact	gcggccaact	tacttctgac	aacgatcggg	ggaccgaagg	3240
agctaaccgc	ttthttgac	aacatggggg	atcatgtaac	tcgccttgat	cgttgggaac	3300
cggagctgaa	tgaagccata	ccaaaacgacg	agcgtgacac	cacgatgcct	gtagcaatgg	3360
caacaacgth	gcgcaaacata	ttaactggcg	aactacttac	tctagcttcc	cggcaacaat	3420
taatagactg	gatggaggcg	gataaagtht	caggaccact	tctgcgctcg	gcccttcccg	3480
ctggctgtht	tattgctgat	aaatctggag	ccggtgagcg	tgggtctcgc	ggtatcattg	3540
cagcaactggg	gcoagatggt	aagccctccc	gtatcgtagt	tatctacaag	acgggagctc	3600
aggcaactat	ggtgaaacga	aatagacaga	tcgctgagat	aggtgcctca	ctgattaagc	3660

ES 2 609 359 T3

attggttaact	gtcagaccaa	gtttactca-	atatacttta	gattgattta	aaacttcatt	3720
tttaatttaa	aaggatctag	gtgaagatcc	tttttgataa	tctcatgacc	aaaatccctt	3780
aacgtgagtt	ttcgttccac	tgagcgtcag	accccgtaga	aaagatcaaa	ggatcttctt	3840
gagatccttt	ttttctgccc	gtaatctgct	gcttgcaaac	aaaaaaacca	ccgctaccag	3900
cgggtggtttg	tttgccggat	caagagctac	caactctttt	tccgaaggta	actggcttca	3960
gcagagcgca	gataccaaat	actgtccttc	tagtgtagcc	gtagttaggc	caccacttca	4020
agaactctgt	agcaccgcct	acatacctcg	ctctgctaata	cctgttacca	gtggctgctg	4080
ccagtggcga	taagtcgtgt	cttaccgggt	tggactcaag	acgatagtta	ccggataagg	4140
cgcagcggtc	gggctgaacg	gggggttcgt	gcacacagcc	cagcttggag	cgaaacgacct	4200
acaccgaact	gagataccta	cagcgtgagc	attgagaaag	cgccacgctt	cccgaagggg	4260
gaaaggcgga	caggtatccg	gtaagcggca	gggtcggaac	aggagagcgc	acgaggggagc	4320
ttccaggggg	gaacgcctgg	tatctttata	gtcctgtcgg	gtttcgccac	ctctgacttg	4380
agcgtcgatt	tttgtgatgc	tcgtcagggg	ggccgagcct	atggaaaaac	gccagcaacg	4440
cggccttttt	acggttcctg	gccttttgc-	ggccttttgc	tcacatgttc	tttctgctg	4500
tatcccctga	ttctgtggat	aaccgtatta	ccgcctttga	gtgagctgat	accgctcgcc	4560
gcagccgaac	gaccgagcgc	agcagtcag	tgagcggagga	agcggaaagag	cgcccaatac	4620
gcaaaccgcc	tctccccgcg	cgttggccga	ttcattaatg	cagctggcac	gacaggtttc	4680
ccgactggaa	agcgggcagt	gagcgcgaacg	caattaatgt	gagttacctc	actcattagg	4740
cacccaggc	tttacacttt	atgcttccgg	ctcctatggt	gtgtggaatt	gtgagcggat	4800
acaattttca	cacaggaaac	agctatgacc	atgattacgc	caagctcgga	attaaccctc	4860
actaaaggga	acaaaagctg	gctagt				4886

Figura 21 (SEQ ID No.76): vector pYD1qal

acggattaga	agccgcgcgag	cgggtgacag	cctccgaag	gaagactctc	ctccgtgctg	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgcgcg	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa-	caaattaaca	accataggat	gataatgcca	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggtaa-	taatcagcca	agcagtgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttta	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgtaa-	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaataatac	420
ctctatactt	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgcttcagt	getagccgct	ggggccatgg	600
ttactgtatt	gcgcgcggga	tcogatgtaa	caaaatcgac	ttgtttccca	ctgacttttt	660
agctcgtaca	aaatacaata	tacttttcat	ttctccgtaa	acaacatggt	ttcccatgta	720
atatacctttt	ctatthtttccg	ttcogttacc	aacttttacac	atactttata	tagctattca	780
cttctataca	ctaaaaaact	aagacaattc	taatthttgct	gectgccata	tttcaatttg	840
ttataaattc	ctataattta	tcctattagc	agctaaaaaa	agatgaatgt	gaatcgaatc	900
ctaagagaat	tgetgcagaa	ttcaccggatc	agaagccgcc	gagcgggtga	cagccctccg	960
aaggaaagact	ctcctccgtg	cgctcctcgtc	ttcaccggtc	gcgttctctga	aacgcagatg	1020
tgctcgcgcg	cgcactgctc	cgaacaataa	agattctaca	atactagctt	ttatggttat	1080
gaagaggaaa	aattggcagt	aacctggccc	cacaaacctt	caaatgaacg	aatcaaatla	1140
acaaccatag	gatgataatg	cgattagttc	tttagcctta	tttctgggggt	aattaatcag	1200
cgaagcagatg	atthtttgatc	tatlaacaga	tataataatg	caaaaactgc	ataaccactt	1260
taactaatac	tttcaacatt	ttcggtttgc	attacttctt	attcaaatgt	aataaaagta	1320
tcaacaaaaa	attgthtaata	tacctctata	ctthaacgtc	aaggagaaa	aaccccgat	1380
cggactacta	gcagctgtaa	taogactcac	tatagggat	attaagctaa	ttctacttca	1440
tacattttca	atthaagatgc	agthacttccg	ctgtthtttca	atathttctg	ttattgcttc	1500
agthtttagca	caggaactga	caactatatg	cgagcaaatc	cctcaccoc	ctthtagaatc	1560
gacgcctgat	tctthgtcaa	cgactacta-	tttgcccaac	gggaaggcaa	tgcaaggagt	1620
ttthgaatat	tacaaatcag	taacgtttgc	cagtaattgc	ggttctcacc	cctcaacaac	1680
tagcaaaggc	agccccataa	acacacagta	tgthtttaag	cttctgcagg	ctagtgggtg	1740
tggtggttct	ggtggtggtg	gttctggtg	tggtggttct	gctagcatga	ctggtggcca	1800
gcaaggccta	attctgatgc	ggccgcaca-	catcaccatc	accattgatt	aattaagttt	1860
aaaccgcctg	atctgataac	aacagtgtag	atgtaacaaa	atcgactttg	ttcccactgt	1920
actthttagct	cgtacaaaat	acaatatac-	tttcatthct	ccgtaaacoc	catgthttcc	1980
catgtaatat	cctthttctat	ttthcgttcc	gtthaccaact	ttacacatac	tttatatagc	2040
tattcacttc	tatacactaa	aaaactaaga	caatthtaat	ttgctgctc	gccatthttc	2100
aattgttat	aaattcctat	aaattatcc-	attagtagct	aaaaaagat	gaatgtgaat	2160
cgatcctaa	gagaattggg	caagtgcaca	aaacaatactt	aaataaatac	tactcagtaa	2220

ES 2 609 359 T3

taacctat	cttagcatt	ttgacgaa	ttgctat	gttagagt	tttacacc	2280
ttgtctcc	acctccgct	acatcaac	caataacgc	atntaatct	agcgcac	2340
caacatttc	tggcgtcag	ccaccagct	acataaaat	taagctctc	gggctctct	2400
gccttcca	ccagtcagaa	atcgagttc	aatccaaa	ttcacctgt	ccacctgct	2460
ctgaatcaa	caagggaa	aacgaatg	gtttctgtg	agctgcact	agtagtatg	2520
tgcagtc	tggaaatac	agtcctttaa	taactggca	accgagga	tcttggatt	2580
cttgccacg	ctcatctcc	tgcagttgga	cgatatca	gccgtaatc	ttgaccag	2640
ccaaaacat	ctccttagg	tgattacgaa	acacgccac	caagtattc	ggagtcctg	2700
aactat	atatgct	acaagactg	aaat	tgcaataac	gggtcaatt	2760
ttctct	attgggcac	catataata	ccagcaagt	agcatcgg	tctagagca	2820
attctgcgg	ctctgtgct	tgcaagccg	aaactttc	caatggacc	gaactacct	2880
tgaaatta	aacagacata	ctccaagctg	cctttgtgtg	cttaatcac	tatactcac	2940
tgctcaatag	tcaccaatg	cctccctct	ggccctctcc	ttttct	tcgaccga	3000
ttcttgaag	cgaaagggc	tcgtgatac	cctat	taggttaatg	tcatgata	3060
aatggttct	taggacggat	cgcttgctg	taacttac	gcgcctcgt	tctttaa	3120
atggaata	ttgggaat	actctgtgt	tatt	tatg	at	3180
tagaaagta	ataaagaag	tagaagagt	acggaatg	gaaaaaaa	taaaag	3240
tttaaaaa	ttcaacaaa	agcgtact	acataata	ttattagac	agaaagc	3300
attaataga	tatacattc	attaacgata	agtaaatgt	aaaatcac	gatttctg	3360
tgtggctct	tacacagac	agatgaaaca	attcggcatt	aatacctg	agcaggaag	3420
gcaagataa	aggtagtatt	tgttggcgat	ccccctag	tctttacat	cttcgaaaa	3480
caaaaactat	ttttct	at	ttact	ttttta	atatatt	3540
attaaaaa	ttaaattata	attat	tagcacgtg	tgaaaagg	ccaggtgg	3600
cttttcggg	aaatgtgcg	ggaacccta	ttgtttatt	ttctaaata	cattcaata	3660
tgtatccgct	catgagacaa	taaccctgat	aaatgctca	ataatattg	aaaaggaag	3720
gtatgagat	tcaacattc	cgtgtcgc	ttattccct	ttttgcgga	ttttgcctc	3780
ctgtttttg	tcaccagaa	acgctggtg	aagtaaaag	tgctgaagat	cagttgggtg	3840
cacgagtgg	ttacatcgaa	ctggatctca	acagcggta	gatccttgag	agtttctgc	3900
ccgaagaacg	ttttccaatg	atgagcact	taaagttct	gctatgtgg	gcggtattat	3960
cccgtgttga	cgccgggcaa	gagcaactc	gtgcgcgat	acactattc	cagaatgact	4020
tggttgagta	ctcaccagtc	acagaaaagc	atcttacgga	tgcatgaca	gtaagaga	4080
tatgcagtg	tgccataacc	atgagtgata	acactgcgc	caacttact	ctgacaacg	4140
tcggaggacc	gaaggagcta	accgctttt	tgcaaacat	gggggatcat	gtaactcgc	4200
ttgatcgttg	ggaaccggag	ctgaatgaag	ccataccaaa	cgacgagcgt	gacaccacg	4260
tgctgtagc	aatggcaaca	acgttgcgca	aaactatta	tgccgaaact	cttactctag	4320
cttcccggca	acaattaata	gactggatgg	aggcggata	agttgcagga	ccactctgc	4380
gctcggccct	tcggctggc	tggtttatg	ctgataaatc	tgagccgggt	gagcgtgggt	4440
ctcgcgggat	cattgcagca	ctggggccag	atggtaagcc	ctcccgatc	gtagtattct	4500
acacgacggg	cagtcaggca	actatggatg	aacgaaatag	acagatcgct	gagatagggt	4560
cctcactgat	taagcattgg	taactgtcag	accaagttta	ctcatatata	cttagattg	4620
at	ct	tt	ct	gat	gata	4680
tgacc	cc	gag	tc	gtc	gtag	4740
tcaa	tt	c	tg	ctg	caa	4800
aacc	acc	g	cg	gt	ct	4860
agg	ct	g	caa	ct	tag	4920
tagg	ct	t	cg	ct	ct	4980
tacc	tg	g	cg	g	t	5040
ag	ta	cg	ga	ac	g	5100
tg	ga	ac	ct	g	g	5160
cg	ag	g	at	cg	g	5220
ag	gg	g	ct	g	g	5280
g	ac	g	g	g	g	5340
aaa	ca	g	g	g	g	5400
tg	g	g	g	g	g	5460
ct	g	g	g	g	g	5520
aag	aa	g	g	g	g	5580
gg	g	g	g	g	g	5640
ac	g	g	g	g	g	5700
ga	g	g	g	g	g	5760
tc	g	g	g	g	g	5801

Figura 22 (SEQ ID No.77): 4D5H

ggccagcaag	gccaagaggt	tcaactagt	gagtctggcg	gtggcctggt	gcagccaggg	60
ggctcactcc	gtttgtcctg	tgcagcttc	ggcttcaaca	ttaaagacac	ctatatacac	120
tgggtgcgtc	aggccccggg	taaggcctg	gaatgggttg	caaggattta	tcctacgaat	180
ggttatacta	gatatgccga	tagcgtcaag	ggcctttca	ctataagcgc	agacacatcc	240
aaaaacacag	cctacctgca	gatgaacagc	ctgcgtgctg	aggacactgc	cgtctattat	300
tgttctagat	ggggagggga	cggcttcta	gctatggact	actgggggtca	aggaaccctg	360
gtcaccgtct	cctcggctag	caccaagggc	cccagcgtgt	tccctctggc	ccccagctcc	420
aagagcacct	ccggcggcac	cgccgcctg	ggctgcctgg	tgaaggatta	cttcccagag	480
ccogtgaccg	tgagctggaa	cagcggcgcc	ctgaccagcg	gcgtgcacac	ctttcccggc	540
gtgctgcagt	ccagcggcct	gtactccctg	agcagcgtgg	tgaccgtgcc	cagcagcagc	600
ctgggcaccc	agacctacat	ctgcaatgtg	aaccacaagc	ccagcaatac	caaggtggat	660
aagaaggtgg	agcccaagag	ctgcgcggcc	gc			692

Figura 23 SEQ ID No.78 : 4D5L

ccatggcggga	tatccagatg	accagtcgcc	cgagctccct	gtccgcctct	gtgggcgata	60
gggtcaccat	cacctgcctg	gccagtcagg	atgtgaatac	tgctgtagcc	tggtatcaac	120
agaacaccag	aaaagctccg	aaactactga	tttactcggc	atccttcctc	tactctggag	180
tccttctcgg	cttctctgga	tccagatctg	ggcggattt	cactctgacc	atcagcagtc	240
tgcagccgga	agacttcgca	acttattac	gtcagcaaca	ttatactact	cctcccagct	300
tgggacaggg	taccaaggtg	gagatcaaac	gtacgggtggc	ggcgccatct	gtcttcatct	360
tcccgccatc	tgatgagcag	cttaagtctg	gaactgcctc	tgttgtgtgc	ctgctgaata	420
acttctatcc	cagagaggcc	aaagtacag	ggaaggtgga	taacgccctc	caatcgggta	480
actcccagga	gagtgtcaca	gagcaggaca	gcaaggacag	cacctacagc	ctcagcagca	540
ccctgacgct	gagcaaagca	gactacgaga	aacacaaagt	ctacgcctgc	gaagtcaccc	600
atcagggcct	gagctcgccc	gtcacaaaaga	gcttcaacag	gggagagtgt	tgaggcgcgc	660
c						661

Figura 24 (SEQ ID No.79): Vector pYD4D5hc

acggattaga	agccgcggag	cgggtgacag	cctccgaag	gaagactctc	ctccgtgcgt	60
cctcgtcttc	accggtcggc	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgcgcg	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tyggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgcga	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggtaaa	taatcagcga	agcgalgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaagttaa	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaataatac	420
ctctatactt	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	tgcttcagct	gctagccgct	ggggccatgg	600
ttactgattg	gcgcgcggga	tccgatgtaa	caaaatcgac	tttgttccca	ctgtactttt	660
agctcgtaca	aaatacaata	tactttttca	ttctccgtaa	acaacatggt	ttcccattgta	720
atatcctttt	ctatthtttcg	ttccggttacc	aaactttacac	atactttata	tagctattca	780
cttctatata	ctaaaaaact	aagacaattt	taatthttgct	gcctgccata	tttcaatttg	840
ttataaattc	ctataattta	tcctatttag	agctaaaaaa	agatgaatgt	gaatcgaatc	900
ctaagagaat	tgctgcagaa	ttcacgggat	agaagccggc	gagcgggtga	cagccctccg	960
aaggaagact	ctcctccgtg	ogtccctcgtc	ttcacccggtc	gcgttccctga	aacgcagatg	1020
tgccctcgcg	cgcactgcctc	cgaacaataa	agattctaca	atactagctt	ttatggttat	1080
gaagaggaaa	aattggcagt	aacctggccc	cacaaacctt	caaatgaacg	aatcaaatca	1140
acaaccatag	gatgataatg	cgattagttt	tttagcctta	tttctggggg	aattaatcag	1200
cgaagcgatg	atthtttgatc	tattaacaga	tatataaatg	caaaaactgc	ataaccactt	1260
taactaatac	tttcaacatt	ttcggthttg	attacttctt	attcaaatgt	aataaaaagta	1320
tcaacaaaaa	attgttaata	tacctctata	ctthaacgtc	aaggagaaaa	aacccccgat	1380
cggactacta	gcagctgtaa	tacgactcac	tatagggaat	attaagctaa	ttctacttca	1440
tacatthttca	attaagatgc	agthtacttcg	ctgthttttca	atathttctg	ttattgcttc	1500
agthtttagca	caggaactga	caactatatg	cgagcaaatc	ccctcaccaa	ctthtagaatc	1560
gacgcggtac	tctthttgcaa	cgactactat	tttgcccaac	gggaagycaa	tgcaaggagt	1620
thttgaaat	tacaaatcag	taacgthttg	cagthaattgc	gthttctcacc	cctcaacaac	1680

ES 2 609 359 T3

tagcaaaggc	agccccataa	acacacagta	tgtttttaag	cttctgcagg	ctagtgggtg	1740
tgggtggttct	ggtggtggtg	gttctggtgg	tgggtggttct	gctagcatga	ctgggtggcca	1800
gcaaggccaa	ggttctgagg	ttcaactagt	ggagtctggc	ggtggcctgg	tgcagccagg	1860
gggctcactc	cgtttgtcct	gtgcagcttc	tggcttcaac	attaaagaca	cctatataca	1920
ctgggtgcgt	caggccccgg	gtaagggcct	ggaatgggtt	gcaaggattt	atcctacgaa	1980
tggttatact	agatatgocg	atagcgtcaa	gggocgtttc	actataagcg	cagacacatc	2040
caaaaacaca	gcctacctgc	agatgaacag	cctgcgtgct	gaggacactg	ccgtctatta	2100
ttgttttaga	tggggagggg	acggcttcta	tgctatggac	tactggggtc	aaggaaccct	2160
ggtcaccgtc	tcctcggcta	gcaccaaggg	ccccagcgtg	ttccctctgg	ccccagctc	2220
caagagcacc	tccggcggca	ccgcccctc	gggctgcctg	gtgaaggatt	acttcccaga	2280
gcccgtgacc	gtgagctgga	acagcggcgc	cctgaccagc	ggcgtgcaca	cctttccgcg	2340
cgtgctgcag	tcacagcggc	tgtactccct	gagcagcgtg	gtgaccgtgc	ccagcagcag	2400
cctgggcacc	cagacctaca	tctgcaatgt	gaaccacaag	cccagcaata	ccaaggtgga	2460
taagaaggtg	gagcccaaga	gctgcgcggc	cgcacatcat	caccatcacc	attgattaat	2520
taagtttaac	cccgctgac	tgataacaac	agtgtagatg	taacaaaatc	gactttgttc	2580
ccactgtact	tttagctcgt	acaaaataca	atatactttt	cattttctcg	taacaacat	2640
gttttcccat	gtaatatcct	tttctatttt	togttccggt	accaacttta	cacatacttt	2700
atatagctat	tcacttctat	acactaaaaa	actaagacaa	ttttaatttt	gctgcctgcc	2760
atatttcaat	ttgttataaa	ttcctataat	ttatcctatt	agtagctaaa	aaaagatgaa	2820
tgtgaatcga	atcctaagag	aattgggcaa	gtgcacaaac	aatacttaaa	taaatactac	2880
tcagtaataa	cctattttctt	agcatttttg	acgaaatttg	ctattttggt	agagtctttt	2940
acaccatttg	tctccacacc	tcogttaca	tcaacaccaa	taacgccatt	taatctaagc	3000
gcatcaccaa	cattttctgg	cgtcagtcoc	ccagctaaca	taaaatgtaa	gctctcgggg	3060
ctctcttgcc	ttccaaccca	gtcagaaatc	gagttccaat	ccaaaagttc	acctgtocca	3120
cctgcttctg	aatcaaacaa	gggaataaac	gaatgaggtt	tctgtgaagc	tgcactgagt	3180
agtatgttgc	agtcttttgg	aaatcagagt	cttttaataa	ctggcaaacc	gaggaactct	3240
tggatttctt	gccacgactc	atctccgtgc	agttggacga	tatcaatgcc	gtaatcattg	3300
accagagcca	aaacatcctc	cttaggttga	ttacgaaaca	cgccaaccaa	gtatttcgga	3360
gtgcctgaac	tatttttata	tgcttttaca	agacttgaaa	ttttccttgc	aataaccggg	3420
tcaatttgct	tccttctatt	ggcacacat	ataatccca	gcaagtcaag	atcggaaact	3480
agagcaccat	ctgcggcctc	tgtgctctgc	aagccgcaaa	ctttcaccaa	tggaccagaa	3540
ctacctgtga	aattaataac	agacatactc	caagctgcct	ttgtgtgctt	aatcacgtat	3600
actcaactgc	tcaatagtea	ccaatgcct	ccctcttggc	cctctccttt	tctttttctg	3660
accgaatttc	ttgaagacga	aagggcctcg	tgatagcct	atttttatag	gttaatgtca	3720
tgataataat	ggtttcttag	gacggatcgc	ttgcctgtaa	cttacacgcg	cctcgtatct	3780
tttaatgatg	gaataatttg	ggaatttact	ctgtgtttat	ttatttttat	gttttgtatt	3840
tggattttag	aaagtaataa	aagaaggtag	aagacttacg	gaatgaagaa	aaaaaaataa	3900
acaaaaggtt	aaaaaatctc	acaaaaaagc	gtactttaca	tatatattta	ttagacaaga	3960
aaagcagatt	aaatagatat	acattcogatt	aacgataagt	aaaatgtaa	atcacaggat	4020
tttcgtgtgt	ggtcttctac	acagacaaga	tgaacaatt	cggcattaat	acctgagagc	4080
aggaagagca	agataaaaag	tagtatttgt	tggcgatccc	cctagagtct	tttacctctt	4140
cggaaaacaa	aaactatctt	ttcttttaatt	tcttttttta	ctttctatct	ttatattata	4200
tatttatatt	aaaaaatctt	aattataatt	atttttatag	cacgtgatga	aaaggaccca	4260
ggtggcactt	ttcggggaaa	tgtgcgcgga	accctatctt	gtttattttt	ctaaatacat	4320
tcaaatatgt	atccgctcat	gagacaataa	ccctgataaa	tgcttcaata	atattgaaaa	4380
aggaagagta	tgagtattca	acattttcgt	gtcgccttta	ttcccttttt	tgcggcattt	4440
tgcttctctg	tttttgctca	cccagaaacg	ctggtgaaag	taaaagatgc	tgaagatcag	4500
ttgggtgcac	gagtgggtta	catcgaactg	gatctcaaca	gcggttaagat	ccttgagagt	4560
tttcgccccg	aagaacggtt	tccaatgatg	agcactttta	aagttctgct	atgtggcgcg	4620
gtattatccc	gtgttgacgc	cgggcaagag	caactcggtc	gccgcataca	ctattctcag	4680
aatgacttgg	ttgagtactc	accagtcaca	gaaaagcacc	ttacggatgg	catgacagta	4740
agagaattat	gcagtgtctg	cataaccatg	agtgataaca	ctgcggccaa	cttacttctg	4800
acaacgatcg	gaggaccgaa	ggagctaacc	gcttttttgc	acaacatggg	ggatcatgta	4860
actcgccttg	atcgttggga	accggagctg	aatgaagcca	taccaaacga	cgagcgtgac	4920
accacgatgc	ctgtagcaat	ggcaacaacg	ttgcgcaaac	tattaactgg	cgaactactt	4980
actctagctt	cccggaacaa	atataatagac	tggatggagg	cggataaaag	tgcaggacca	5040
cttctgcgct	cggcccttcc	ggctggctgg	tttattgctg	ataaatctgg	agccgggtgag	5100
cgtgggtctc	gcggtatcat	tcagcactg	gggcagatg	gtaagccctc	ccgtatcgtg	5160
gttatctaca	cgcggggcag	tcaggcaact	atggtagaac	gaaatagaca	gatcgtgtgag	5220
ataggtgcct	cactgattaa	gcattggtaa	ctgtcagacc	aagtttactc	atataactct	5280
tagattgatt	taaaacttca	tttttaattt	aaaaggatct	aggtgaagat	cctttttgat	5340

ES 2 609 359 T3

aatctcatga	ccaaaatccc	ttaacgtgag	ttttcgttcc	actgagcgtc	agaccccgta	5400
gaaaaagatca	aaggatcttc	ttgagatccc	ttttttctgc	gcgtaatctg	ctgcttgcaa	5460
acaaaaaac	caccgctacc	agcgggtggt	tgtttgccgg	atcaagagct	accaactctt	5520
tttccgaagg	taactggctt	cagcagagcg	cagataccaa	atactgtcct	tctagtgtag	5580
ccgtagttag	gccaccactt	caagaactcc	gtagcaccgc	ctacatacct	cgctctgcta	5640
atcctgttac	cagtggctgc	tgccagtggc	gataagtcgt	gtcttaccgg	gttggaactca	5700
agacgatagt	taccggataa	ggcgcagcgg	tcgggctgaa	cggggggttc	gtgcacacag	5760
cccagcttgg	agcgaacgac	ctacaccgaa	ctgagatacc	tacagcgtga	gcattgagaa	5820
agcgccacgc	ttcccgaagg	gagaaaaggc	gacaggatcc	cggtaaagcg	cagggtcggg	5880
acaggagagc	gcacgagggg	gcttccaggg	gggaacgcct	ggtatcttta	tagtcctgtc	5940
gggtttcgcc	acctctgact	tgagcgtcga	tttttgtgat	gctcgtcagg	ggggccgagc	6000
ctatggaaaa	acgccagcaa	cgcggccttc	ttacggttcc	tggccttttg	ctggcctttt	6060
gctcacatgt	tctttcctgc	gttatcccc	gattctgtgg	ataaccgtat	taccgccttt	6120
gagtgagctg	ataccgctcg	ccgcagccga	acgaccgagc	gcagcagagc	agtgagcag	6180
gaagcggag	agcgcctaat	acgcaaaccg	cctctccccg	cggttggtcc	gattcattaa	6240
tgacgtggc	acgacaggtt	tcccgcactg	aaagcgggca	gtgagcgcaa	cgcaattaat	6300
gtgagttacc	tcactcatta	ggcaccocag	gctttacact	ttatgcttcc	ggctcctatg	6360
ttgtgtggaa	ttgtgagcgc	ataacaatt	cacacaggaa	acagctatga	ccatgattac	6420
gccaagctcg	gaattaacco	tcactaaagg	gaacaaaagc	tggctagt		6468

Figura 25 (SEQ ID No.80): 4D5hp

EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGFNIK	DTYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	IYPTNGYTRY	60
ADSVKGRFTI	SADTSKNTAY	LQMNLSRAED	TAVYYCSRWG	GDFYAMDYW	GQGTLVTVSS	120
ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSKV	HTFPAVLQSS	180
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKKEVP	KSC		223

Figura 26 (SEQ ID No.81): Vector pYD4D5hl

acggattaga	agcgcgcgag	cgggtgacag	ccctccgaag	gaagactctc	ctcctgtcgt	60
cctcgtcttc	acgggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgcgcg	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaaccttcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgca	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggttaa	taacagcga	agcagatgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgtatt	acttcttatt	caaatgtaa	aaaagtatca	acaaaaaatt	gtaaatatac	420
ctctataact	taacgtcaag	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atltttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	tggttcagt	gctagccgct	ggggccatgg	600
cggatatcca	gatgaccacg	tccccagac	ccctgtccgc	ctctgtgggc	gatagggtca	660
ccatcacctg	ccgtgccagt	caggatgtga	atactgctgt	agcctgggat	caacagaaac	720
caggaaaagc	tccgaaacta	ctgattttac	cggcatcctt	cctctactct	ggagtccctt	780
ctcgccttct	tggatccaga	tctgggacgg	atttcaactc	gaccatcagc	agtctgcagc	840
cggaaagact	cgcaacttat	tactgtcagc	aacattatac	tactcctccc	acgttcggac	900
agggatccaa	ggtggagatc	aaacgtacgg	tggcggcgcc	atctgtcttc	atcttcccgc	960
catctgatga	gcagcttaag	tctggaactg	cctctgttgt	gtgctgctg	aataacttet	1020
atcccagaga	ggccaaaagta	cagtggaaag	tggataacgc	cctccaatcg	ggtaactccc	1080
aggagagtgt	cacagagcag	gacagcaagg	acagcaccta	cagcctcagc	agcaccctga	1140
cgctgagcaa	agcagactac	gagaaacaca	aagtctacgc	ctgcgaagtc	acccatcagg	1200
gcctgagctc	gcccgtcaca	aagagcttca	acaggggaga	gtggttgaggc	gcgcgggatc	1260
cgatgtaaca	aaatcgactt	tgttcccac	gtacttttag	ctcgtacaaa	atacaatata	1320
cttttcattt	ctccgtaaac	aacatgttt	cccatgtaat	atcctttttct	atlttttogtt	1380
ccgttaccaa	ctttacacat	actttatata	gctattcact	tctatacaact	aaaaaactaa	1440
gacaatttta	atltttgctgc	ctgccatat	tcaatttgtt	ataaattcct	ataatttate	1500
ctatttagta	ctaaaaaaag	atgaaatgta	atcgaatcct	aagagaattg	ctgcagaaatt	1560
cacggattag	aagccgcccga	gcgggtgaca	gccctccgaa	ggaagactct	cctccgtgcg	1620
tctctgtctt	caccggctgc	gttctctgaaa	cgcagatgtg	cctcgcgcgc	cactgctccg	1680
aacaataaag	attctacaat	actagcttt	atggttatga	agaggaaaaa	ttggcagtaa	1740
cctggcccca	caaaccttca	aatgaacgaa	tcaaatatca	aacctatagga	tgataatgag	1800
attagttttt	tagccttatt	tctggggtaa	ttaatcagcg	aagcagatgat	ttttgatcta	1860

ES 2 609 359 T3

ttaacagata	tataaatgca	aaaactgcat	aaccacttta	actaataactt	tcaacatttt	1920
cggtttgat	tacttcttat	tcaaatgtaa	taaaagtatc	aacaaaaaat	tgtaataata	1980
cctctatact	ttaacgtcaa	ggagaaaaaa	ccccggatcg	gactactagc	agctgtaata	2040
cgactcacta	tagggaatat	taagctaatt	ctacttcata	cattttcaat	taagatgcag	2100
ttacttgcct	gtttttcaat	attttctggt	attgcttcag	ttttagcaca	ggaactgaca	2160
actatatgcg	agcaaatccc	ctcaccaact	ttagaatcga	cgccgtactc	tttgtcaacg	2220
actactattt	tgGCCAACGG	gaaggcaatg	caaggagttt	ttgaatatta	caaatcagta	2280
acgtttgca	gtaattgCGG	ttctcaccCC	tcaacaacta	gcaaaggcag	ccccataaac	2340
acacagtatg	tttttaagct	tctgcaggct	agtggTGGTg	gtggttctgg	tggtggTGGT	2400
tctggtggtg	gtggttctgc	tagcatgact	ggtggccagc	aaggccaaga	ggttcaacta	2460
gtggagtctg	gCGGTGGCct	ggtgcagcca	gggggctcac	tccgtttgtc	ctgtgcagct	2520
tctggcttca	acattaaaga	cacctatata	cactgggtgc	gtcaggcccc	gggtaagggc	2580
ctggaatggg	ttgcaaggat	ttatcctacg	aatggttata	ctagatatgc	cgatagcgctc	2640
aaggggcgtt	tcactataag	cgCAGACACA	tccaaaaaca	cagcctacct	gcagatgaac	2700
agcctgcgtg	ctgaggacac	tgcCGTctat	tattgttcta	gatggggagg	ggacggcttc	2760
tatgctatgg	actactgggg	tcaaggaacc	ctggtcaccg	tctcctcggc	tagcacaag	2820
ggccccagcg	tgttccctct	ggccccagc	tccaagagca	cctccggcgg	caccgcccgc	2880
ctgggctgcc	tggtgaagga	ttacttccca	gagcccgTga	ccgtgagctg	gaacagcggc	2940
gCctgacca	gCGGCGTgca	cacctttccc	gCGTgctgc	agtccagcgg	cctgtactcc	3000
ctgagcagcg	tggtgaccgt	gcccagcagc	agcctgggca	cccagaccta	catctgcaat	3060
gtgaaccaca	agcccagcaa	taccaaggTg	gataagaagg	tgGAGCCCA	gagctgcCGg	3120
gcCGCACatc	atcaccatca	ccattgatta	attaagttta	aaccCGctga	tctgataaca	3180
acagtgtaga	tgtaacaaaa	tCGactttgt	tccactgta	cttttagctc	gtacaaaata	3240
caatataactt	ttcattttctc	cgtaaaacaac	atgttttccc	atgtaataatc	cttttctatt	3300
tttCGTtccg	ttaccaactt	tacacatact	ttatatagct	attcacttct	atacactaaa	3360
aaactaagac	aatttttaatt	ttgctgcctg	ccatatttca	atTgttata	aattcctata	3420
atTtatccta	ttagtagcta	aaaaaagatg	aatgtgaatc	gaatcctaag	agaattgggg	3480
aagtgcacaa	acaatactta	aataaatact	actcagtaat	aacctatttc	ttagcatttt	3540
tgacgaaatt	tgtattttg	ttagagtctt	ttacaccatt	tgtctccaca	cctccgctta	3600
catcaacacc	aataacgcca	tttaacttaa	gcgcatacc	aacattttct	ggcgctcagtc	3660
caccagctaa	cataaaatgt	aagctctcgg	ggctctcttg	ccttccaacc	cagtcagaaa	3720
togagttcca	atccaaaagt	tcacctgtcc	caoctgcttc	tgaatcaaac	aagggaataa	3780
acgaatgagg	tttctgtgaa	gctgcactga	gtagtatgTt	gcagtctttt	ggaaatacga	3840
gtcttttaat	aactggcaaa	ccgaggaact	cttggtattc	ttgccacgac	tcatctccgt	3900
gcagttggac	gatatcaatg	ccgtaatcat	tgaccagagc	caaaacatcc	tccttaggtt	3960
gattacgaaa	cacgccaacc	aagtatttCG	gagTgcctga	actatTttta	tatgctttta	4020
caagactTga	aattttcctt	gcaataaccg	ggTcaattgt	tctctttcta	ttgggcacac	4080
atataatacc	cagcaagtca	gcatcggaaT	ctagagcaca	ttctgcggcc	tctgtgctct	4140
gcaagccgca	aactttcacc	aatggaccag	aactacctgt	gaaattaata	acagacatac	4200
tccaagctgc	ctttgtgtgc	ttaatcacgt	atactcacgt	gctcaatagt	caccaatgcc	4260
ctccctcttg	gCctctcct	tttctttttt	cgaccgaatt	tcttgaagac	gaaagggcct	4320
cgtgatacgc	ctatTtttat	aggTtaatgt	catgataata	atggTttctt	aggacggatc	4380
gcttgCctgt	aacttacacg	cgCctcgtat	cttttaatga	tggaaataat	tgggaaTttta	4440
ctctgtgttt	atTtatTttt	atgtTttgta	tttggaTttt	agaaagTaaa	taaagaaggt	4500
agaagagTta	cggaaTgaag	aaaaaaaaat	aaacaaaggt	ttaaaaaatt	tcaacaaaaa	4560
gcgtactTta	catatatatt	tattagacaa	gaaaagcaga	ttaaatagat	atacattcga	4620
ttaacgataa	gTaaaatgta	aaatcacagg	atTttcgtgt	gtggTcttct	acacagacaa	4680
gatgaaacaa	ttcggcatta	atacctgaga	gcaggaagag	caagataaaa	ggtagTattt	4740
gttggcgatc	cccctagagt	cttttacatc	ttcggaaaac	aaaaactatt	ttttctttta	4800
tttctTtttt	tactttctat	ttttaatTta	tataTttata	ttaaaaaatt	taaattataa	4860
ttatTtttat	agcacgtgat	gaaaaggacc	caggtggcac	ttttcgggga	aatgtgcgcg	4920
gaaccCctat	ttgtttatTt	ttctaaatac	attcaaataT	gtatccgctc	atgagacaat	4980
aaccctgata	aatgcttcaa	taatatTgaa	aaaggaagag	tatgagTatt	caacatttcc	5040
gtgtgcCctt	tattcccttt	tttgCggcat	tttgCcttcc	tgTttttgct	caccagaaa	5100
cgtggtgTaa	agTaaaagat	gctgaagatc	agTtgggtgc	acgagTgggt	tacatcgaac	5160
tggaTctcaa	cagcggTaaG	atccttgaga	gtTttcGccc	cgaagaacgt	tttccaatga	5220
tgagcacttt	taaagTtctg	ctatgtggcg	cggTattatc	ccgtgttgac	gCcgggcaag	5280
agcaactcgg	tcgCgcata	cactattctc	agaatgactt	ggTtgagTac	tcaccagTca	5340
cagaaaagca	tottacggat	ggcatgacag	taagagaatt	atgcagTgct	gccataacca	5400
tgagTgataa	cactgcggcc	aacttacttc	tgacaacgat	cggaggaccg	aaggagctaa	5460
cCGctTtttt	gcacaacatg	ggggatcatg	taactcgcct	tgatcgtTgg	gaaccggagc	5520

ES 2 609 359 T3

tgaatgaagc	cataccaaac	gacgagcgtg	acaccacgat	gcctgtagca	atggcaacaa	5580
cgttgcgcaa	actattaact	ggcgaactac	ttactctagc	ttcccggcaa	caattaatag	5640
actggatgga	ggcggataaa	gttgcaggac	cacttctgcg	ctcggccctt	ccggctggct	5700
ggtttattgc	tgataaatct	ggagccgggtg	agcgtgggtc	tcgcggtatc	attgcagcac	5760
tggggccaga	tggtaaagccc	tcccgtatcg	tagttatcta	cacgacgggc	agtcaggcaa	5820
ctatggatga	acgaaataga	cagatcgctg	agataggtgc	ctcactgatt	aagcattggg	5880
aactgtcaga	ccaagtttac	tcatatatac	tttagattga	tttaaaactt	catttttaat	5940
ttaaaaggat	ctaggtgaag	atcctttttg	ataatctcat	gaccaaatac	ccttaacgtg	6000
agttttcgtt	ccactgagcg	tcagaccccc	tagaaaagat	caaaggatct	tcttgagatc	6060
ctttttttct	gocgctaate	tgctgcttgc	aaacaaaaaa	accaccgcta	ccagcgggtg	6120
tttgtttgcc	ggatcaagag	ctaccaacte	tttttccgaa	ggtaactggc	ttcagcagag	6180
cgcagatacc	aaatactgtc	cttctagtgc	agccgtagtt	aggccaccac	ttcaagaact	6240
ctgtagcacc	gcctacatac	ctcgcctctg	taatcctggt	accagtggct	gctgccagtg	6300
gcgataagtc	gtgtcttacc	gggttgagc	caagacgata	gttaccggat	aaggcgcagc	6360
ggtcgggctg	aacggggggg	tcgtgcacac	agcccagctt	ggagcgaacg	acctacaccg	6420
aactgagata	cctacagcgt	gagcattgag	aaagcggcac	gcttcccga	gggagaaagg	6480
cggacaggta	tccggtaagc	ggcagggtcg	gaacaggaga	gocgacgagg	gagcttccag	6540
gggggaacgc	ctggtatctt	tatagtctctg	tcgggtttcg	ccacctctga	cttgagcgtc	6600
gatttttggtg	atgctcgtca	ggggggccga	gcctatggaa	aaacggccagc	aacgcggcct	6660
ttttacgggtt	cctggccttt	tgctggcct	ttgctcacat	gttctttcct	gcgttatccc	6720
ctgattctgt	ggataaccgt	attaccgccc	ttgagtgagc	tgataccgct	gcgccagacc	6780
gaacgaccga	gocgagcagc	tcagtgagcg	aggaagcggg	agagcgccca	atacgcaaac	6840
cgctctctcc	cgcgcgttgc	ccgattcat	aatgcagctg	gcacgacagg	tttcccgaact	6900
ggaaagcggg	cagtgagcgc	aacgcaatta	atgtgagtta	cctcactcat	taggcacccc	6960
aggctttaca	ctttatgctt	ccggctccta	tgttgtgtgg	aattgtgagc	ggataacaat	7020
ttcacacagg	aaacagctat	gaccatgat	acgccaagct	cggaaattaac	cctcactaaa	7080
gggaacaaaa	gctggctagt					7100

Figura 27 (SEQ ID No.82): 4D5lp

DIQMTQSPSS	LSASVGDVRT	ITCRASQDVN	TAVAWYQQKP	GKAPKLLIYS	ASFLYSGVPS	60
RFGSRSRGT	FTLTISLQF	EDFATYYCQQ	HYTTPPTFGQ	GTKVEIKRTV	AAPSVFIFPP	120
SDEQLKSGTA	SVVCLLNIFY	PREAKVQWKV	DNALQSGNSQ	ESVTEQDSKD	STYLSLSTLT	180
LSKADYEKHK	VYACEVTHQG	LSSPVTKSFN	RGEC			214

Figura 28 SEQ ID No.427 : plásmido pYD1dX dCH1dCH3 Fcab wt

acggattaga	agccgcccag	cgggtgacag	ccctccgaag	gaagactctc	ctccgtgctg	60
cctcgtcttc	accggtcgcg	ttcctgaaac	gcagatgtgc	ctcgcgccgc	actgctccga	120
acaataaaga	ttctacaata	ctagctttta	tggttatgaa	gaggaaaaat	tggcagtaac	180
ctggccccac	aaacettcaa	atgaacgaa	caaattaaca	accataggat	gataatgca	240
ttagtttttt	agccttattt	ctggggtaa	taatcagcga	agcgatgatt	tttgatctat	300
taacagatat	ataaatgcaa	aaactgcata	accactttaa	ctaatacttt	caacattttc	360
ggtttgattt	acttcttatt	caaatgtaa	aaaagtatca	acaaaaaatt	gttaatatat	420
ctctataact	taacgtcaac	gagaaaaaac	cccggatcgg	actactagca	gctgtaatac	480
gactcactat	agggaaatatt	aagctaattc	tacttcatac	atthttcaatt	aagatgcagt	540
tacttcgctg	tttttcaata	ttttctgtta	ttgcttcagt	tttagcacag	gaactgacaa	600
ctatatgcga	gcaaatcccc	tcaccaact	tagaatcgac	gccgtactct	ttgtcaacga	660
ctactattht	ggccaacggc	aaggcaatgc	aaggagttht	tgaatattac	aaatcagtaa	720
cgtttgtcag	taattgcccgt	tctcaccct	caacaactag	caaaggcagc	cccataaaca	780
cacagtatgt	ttttaagctt	ctgcaggcta	gtgggtgtgg	tggttctggt	ggtgggtggt	840
ctgggtggtg	tggttctgct	agcatgactg	gtggacagca	aatgggtcgg	gatctgtacg	900
acgatgacga	taaggtagca	ggatccgagc	ccaagagcag	cgacaagaca	cacacgtgtc	960
ccccatgtcc	cgccccgtgag	ctgctggggc	gcccttccgt	gttctctgtc	cctcccagc	1020
caaaggacac	cctgatgatc	tcccggaccc	ctgaggtgac	ctgtgtgggt	gtggacgtga	1080
gccacgagga	cccagagggtc	aagttcaac	ggtacgtgga	cggcgtggag	gtgcacaacg	1140
ccaagaccaa	gcctagagag	gagcagtaga	acagcaccta	ccgcgtgggt	agcgtgctga	1200
ccgtgctgca	ccaggattgc	ctgaatggca	aggagtacaa	gtgcaagggt	agcaacaagg	1260
ccctgcctgc	ccccatcgag	aagaccatc	ccaaggccaa	gggccagcct	cgagaaggta	1320
agcctatccc	taaccctctc	ctcggctctc	attctacgcg	taccggtcat	catcaccatc	1380

ES 2 609 359 T3

accattgagt ttaaaccgcg tgatctgata acaacagtgt agcggcgcgt cgatecagtc 1440
tagagggccc ttcgaaggta agcctatccc taaccctctc ctccgtctcg attctacgcy 1500
taccggctcat catcaccatc accattgagt ttaaaccgcg tgatctgata acaacagtgt 1560
agatgtaaca aaatcgactt tgttcccact gtaacttttag ctctgtacaaa atacaatata 1620
cttttcattt ctccgtaaac aacatgtttt cccatgtaat atccttttct atttttctgt 1680
ccgttaccaa ctttacacat actttatata gctattcact tctatacact aaaaaactaa 1740
gacaatttta attttgcctgc ctgccatatt tcaatttggt ataaattcct ataattttatc 1800
ctattagtag ctaaaaaaag atgaaatgta atcgaatcct aagagaattg ggcaagtgc 1860
caacaatcac ttaaataaat actactcagt aataacatct tcttagcat tttgacgaa 1920
atgtgctatt ttgttagagt cttttacacc atttgcctcc acacctccgc ttacatcaac 1980
accaataacg ccatttaate taagcgcate accaacattt tctggcgtca gtcaccagc 2040
taacataaaa tgtaagctct cggggctctc ttgccttcca acccagtcag aaatcgagtt 2100
ccaatccaaa agttcacctg tcccacctgc ttctgaaatca aacaagggaa taacgaatg 2160
aggtttctgt gaagctgcac tgagtagtat gttgcagctc tttggaaata cagctctttt 2220
aataactggc aaaccgagga actcttggtg ttcttgccac gactcatctc cgtgcagttg 2280
gacgataatc atgocgtaat ctgtgaccag agccaaaaca tccctcttag gttgattacg 2340
aaacacgcca accaagtatt tcggagtgcc tgaactattt ttatatgctt ttcaagact 2400
tgaatttttc ctgcaataa ccgggtcaat tgttctcttt ctattgggca cacatataat 2460
accagcaag tcagcatcgg aatctagagc acattctgcy gcctctgtgc tctgcaagcc 2520
gaaactttc accaatggac cagaactacc tgtgaaatta ataacagaca tactccaagc 2580
tgctttgtg tgcttaatca cgtatactca cgtgctcaat agtcaccaat gccctccctc 2640
ttggccctct ccttttcttt tttcgaccga atttcttgaa gacgaaaggg cctcgtgata 2700
cgctattttt tataggttaa tgctatgata ataattggtt cttaggacgg atcgtttgcc 2760
tgtaacttac acgocctcgt tatcttttaa tgatggaata atttgggaat ttactctgtg 2820
tttatttatt tttatgtttt gtatttggat tttagaaagt aaataaagaa ggtagaagag 2880
ttacggaatg aagaaaaaaa aataaaciaa ggtttaaaaa atttcaacia aaagcgtact 2940
ttacatataat atttattaga caagaaaagc agattaaata gatatacatt cgattaacga 3000
taagtaaaat gtaaaatcac aggattttcg tgtgtggtct tctacacaga caagatgaaa 3060
caattcggca ttaatacctg agagcaggaa gagcaagata aaaggtagta tttgttggcg 3120
atccccctag agctttttac atcttcggaa acaaaaaact atttttctt taatttcttt 3180
ttttactttc ttttttaat ttatatattt atattaaaaa atttaaatta taattatttt 3240
tatagcacgt gatgaaaagg acccaggtgg cacttttcgg ggaatgtgc gcggaacccc 3300
tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg 3360
ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc 3420
ccttattccc ttttttgcgg cattttgctt tctgttttt gctcaccag aaacgctggt 3480
gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct 3540
caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccagaaa cgttttcaa tgatgacac 3600
ttttaagttt ctgctatgtg gcgocgtatt atcccggtt gacgocgggc aagacaaact 3660
cggctgcgcg atacactatt ctcaaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa 3720
gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga 3780
taacactgcy gccaaactac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt 3840
tttgacacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga 3900
agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg 3960
caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat 4020
ggaggcggat aaagttagcag gaccacttct gcgctcgccc ctcccgctg gctggtttat 4080
tgctgataaa tctggagcgg gtgagcgtgg gtctcggcgt atcattgcag cactggggcc 4140
agatggtaag ccctcccgtg tcgtagttat ctacacgagc ggcagtcagg caactatgga 4200
tgaaagaaat agacagatcg ctgagatagg tgccctactg attaagcatt ggtaaactgtc 4260
agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa ctctattttt aatttaaaag 4320
gatctagggt aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac gtgagttttc 4380
gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaaagg tcttcttgag atcctttttt 4440
tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggttggtt 4500
gccgatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat 4560
accaaatact gtccttctag tgtagcgtg gttaggccac cacttcaaga actctgtagc 4620
accgcctaca tactcgcctc tgctaactct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa 4680
gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggctcggg 4740
ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag 4800
atacctacag cgtgagcatt gagaaagcgc caocgttccc gaaggagaa agcgggacag 4860
gtatcoggtg agocgaggg tcggaacagc agagcgcagc agggagcttc caggggggaa 4920
cgctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccaoctc tgacttgagc gtcgattttt 4980
gtgatgctcy tcaggggggc cgagcctatg gaaaaacgcc agcaacgagg ccttttttac 5040

ES 2 609 359 T3

gttcctggcc ttttgetggc cttttgetca catgtttcttt cctgcggttat ccctgattc 5100
 tgtggataac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgcgcga gccgaacgac 5160
 cgagcgcagc gactcagtg ggcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgcga aaccgcctct 5220
 cccgcgcgct tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc 5280
 gggcagtgag cgaacgcaa ttaatgtgag ttacctact cattaggcac ccaggtctt 5340
 acactttatg ctccggctc ctatgtgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac 5400
 aggaaacagc tatgaccatg attacgcaa gctcggatt aacctact aaagggaaca 5460
 aaagctggct agt 5473

Figura 29 (SEQ ID No.428): PYD1dX dCH1 Fcab wt

acggattaga agccgcgag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtgct 60
 cctcgtcttc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgcgcgc actgctccga 120
 acaataaaga ttctacaata ctgactttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180
 ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaa caaattaaca accataggat gataatgcga 240
 ttagtttttt agccttattt ctggggtaa taatcagcga agcagtgatt tttgatctat 300
 taacagatat ataaatgcaa aaactgcata accactttta ctaatacttt caacattttc 360
 ggttttgtatt acttcttatt caaatgtaa aaaagtatca acaaaaaatt gttaataatac 420
 ctctatactt taacgtcaag gagaaaaaac cccggatcgg actactagca gctgtaatac 480
 gactcactat agggaatatt aagctaatt tacttcatac attttcaatt aagatgcagt 540
 tacttcgctg tttttcaata tttctgtta ttgctcagt tttagcacag gaactgaca 600
 ctatatgcga gcaaatcccc tcaccaact tagaatcgac gccgtactct ttgtcaacga 660
 ctactatttt ggccaacggg aaggcaatgc aaggagtttt tgaatattac aaatcagtaa 720
 cgtttgcag taattgcggg tctcaccct caacaactag caaaggcagc ccataaaca 780
 cacagtatgt ttttaagctt ctgcaggcta gtggtggtgg tggttctggt ggtggtggt 840
 ctggtggtgg tggttctgct agcatgactg gtggacagca aatgggtcgg gatctgtacg 900
 acgatgaoga taagtaoca ggatccgagc ccaagagcag cgacaagaca cacacgtctc 960
 ccccatgtcc cgcctcctgag ctgctgggag gccctccgt gttoctgttc cctcccaagc 1020
 caaaggacac cctgatgato tcccggacc ctgaggtgac ctgtgtggtg gtggacgtga 1080
 gccacgagga cccagaggtg aagttcaac ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaacg 1140
 ccaagaccaa gcctagagag gagcagtaga acagcaccta ccgctggtg agcgtgctga 1200
 ccgtgctgca ccaggattgg ctgaaatggca aggagtaca gtgcaagggt agcaacaagg 1260
 cctgctcgc cccatcgag aagaccatc caaaggcaa gggccagcct cgagaaccac 1320
 aggtgtacac cctgcoccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct 1380
 gcctgttcaa aggttctat cccagcgaca tgcctggtga gtgggagagc aatgggcagc 1440
 cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgaaggctcc ttcttctct 1500
 acagcaagct caccgtggac aagagcagg gccagcagg gaacgtcttc tcatgctccg 1560
 tgatgcatga ggtctgcaac aacctacta cacagaagag cctctccctg tctccgggta 1620
 aatgagcggc cgtctgatcg agtctagagg gccctcgaa ggtaagccta tccctaacce 1680
 tctctcgtg ctgcattcta cgcgtaccgg tcatcatcac catcaccatt gactttaaac 1740
 ccgctgatct gataacaaca gtgtagatg acaaaaatcg actttgttcc cactgtactt 1800
 ttagctcgta caaaatacaa tatacttttc atttctcctg aaacaacatg ttttcccatg 1860
 taatatcctt ttctattttt cgttcggtta ccaactttac acatacttta tatagctatt 1920
 cacttctata cactaaaaaa ctaagacaa ttaattttg ctgcctgcca tatttcaatt 1980
 tgttataaat tctataaatt tatctatta gttagctaaaa aaagatgaat gtgaatcgaa 2040
 tctaagaga attgggcaag tgcacaaaca atacttaaat aaatactact cagtaataac 2100
 ctatttctta gcatttttga cgaatttgc tattttgtta gactctttta caccatttgt 2160
 ctccacacct ccgcttacct caacaccaa aacgcattt aatctaagcg catcaccac 2220
 attttctggc gtcagtcac cagctaacaa aaaatgtaag ctctcggggc tctcttgct 2280
 tccaaccag tcagaaatcg agttccaat caaaagttca cctgtcccac ctgcttctga 2340
 atcaacaag ggaataaacg aatgaggtt ctgtgaagct gcaactgagta gtatgttga 2400
 gtcttttga aatacaggtc ttttaataac tggcaaacgg aggaactctt ggtattcttg 2460
 ccacgactca tctcgtgca gttggacga atcaatgccc taatcattga ccagagccaa 2520
 aacatcctcc ttaggttgat tacgaaacac tccaaccaag tatttcggag tgccctgaact 2580
 atttttatat gcttttaca gacttgaaa tttccttga ataacgggt caattgttct 2640
 ctttctattg ggcacacata taataccag caagtcagca tcggaatcta gacacattc 2700
 tgccgctct gtgctctgca agccgcaaac tttcaccaat ggaccagaac tacctgtgaa 2760
 attaataaca gacatactcc aagctgctt tgtgtgctta atcacgtata ctacagtgct 2820
 caatagtcac caatgcctc cctcttggcc ctctctttt cttttttcga cogaattct 2880
 tgaagcagaa agggcctggt gatcgccta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg 2940
 gtttcttagg acggatcgt tgcctgtaac ttacacgcgc ctctgtatctt ttaatgatgg 3000

ES 2 609 359 T3

aataat	tttgg	gaat	tactc	tgtg	tttatt	tatt	tttatg	tttt	gtat	ttt	gatt	tttaga	3060
aagtaa	ataa	aga	aggtaga	agag	ttacgg	aatga	agaaa	aaaa	ataaa	caa	aggt	ttta	3120
aaaa	at	tca	acaaa	agcg	tact	ttt	acat	atata	tttat	taga	caagaa	aagcag	3180
aataga	tata	catt	cgatta	acgata	agta	aatg	tataa	tcac	aggatt	ttcg	tg	gtg	3240
gtct	tctaca	cagaca	agat	gaaaca	aattc	ggcatt	taata	cctg	agagca	ggaa	ag	caaa	3300
gata	aaaggt	agtatt	tg	ggcg	atcccc	ctag	agtctt	ttac	atcttc	ggaa	acaaa		3360
aact	at	tttt	ttt	cttt	tttt	ttt	ctatt	taatt	tata	att	tata	ttta	3420
aaaa	at	ttta	attata	tttt	atagc	acgt	gatgaa	aagg	accag	gtgg	ca	cttt	3480
tcgg	gaaat	gtgc	gcg	caa	gtg	ccc	ctatt	ttt	at	tttt	c	taata	3540
tccg	ctcatg	agaca	ataac	cctg	ataaat	gctt	caataa	tatt	gaaaa	gga	ag	at	3600
gag	tattcaa	catt	tc	cg	ccct	ttat	tcc	cttt	ttt	g	cc	ttc	3660
tttt	gctcac	ccaga	aacgc	tggt	gaaag	taa	agat	g	ct	ga	at	cg	3720
agt	gggttac	atcga	actgg	atct	caacag	cggt	aa	atc	ctt	gag	ag	tt	3780
aga	acg	ttt	ta	gc	act	ttta	agt	tt	ctg	ct	g	cg	3840
tg	ttgacg	ggc	aa	g	ag	gc	gc	ata	cac	tatt	ct	caga	3900
tg	ag	tact	ca	ccag	tca	caa	g	cat	ct	at	g	at	3960
cag	tgtg	ctg	cc	ata	ac	gtg	ata	ac	c	tg	cg	ca	4020
agg	accg	aa	g	gag	ctaa	cc	tt	tt	tt	tg	ca		4080
tcg	ttggg	aa	ccg	gag	ctg	atg	aa	g	cc	at	g	cc	4140
tg	tag	caat	g	ca	aca	ac	g	t	gc	g	aa	act	4200
ccg	g	ca	aa	ca	aa	g	g	g	g	g	g	g	4260
gg	cc	ct	tc	g	ct	g	g	g	g	g	g	g	4320
cg	g	at	ca	tt	ca	ct	g	g	g	g	g	g	4380
gac	ggg	ca	g	tt	g	at	g	aa	ta	g	ag	ca	4440
act	g	at	ta	ag	ca	tt	g	ta	ta	ct	tt	ag	4500
aaa	act	tc	at	tt	ta	at	tt	aa	gg	at	ct	ta	4560
caa	aa	tc	ct	ta	ac	gt	g	tt	tc	g	tt	cc	4620
agg	at	ct	tt	ct	g	cg	ta	at	ct	g	cg	ta	4680
acc	g	ct	ta	cc	g	g	tt	g	cc	g	g	tt	4740
aact	g	g	ct	tc	ag	ca	g	gc	gc	gc	gc	gc	4800
ccac	ca	ct	tc	ag	ca	g	gc	gc	gc	gc	gc	gc	4860
agt	gg	ct	g	ct	g	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	4920
acc	g	g	ata	ag	tc	gt	g	gc	gc	gc	gc	gc	4980
gcg	aa	cg	ac	g	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5040
tcc	g	aa	gg	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5100
ca	g	ag	gg	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5160
cct	ct	g	act	tt	g	at	g	gc	gc	gc	gc	gc	5220
cg	cc	ag	ca	ac	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5280
ct	tt	ct	g	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5340
tac	cg	ct	g	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5400
gc	g	cc	ca	aa	tc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5460
cg	ac	ag	gt	tt	cc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5520
cact	ca	tt	ag	gc	cc	ag	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5580
tgt	g	ag	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	gc	5640
aatt	aa	cc	ct	ca	ct	aa	ag	gc	gc	gc	gc	gc	5677