

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 749**

51 Int. Cl.:

C12N 15/60 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

C12N 9/88 (2006.01)

A61K 38/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.05.2004** **PCT/US2004/015662**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2004** **WO04110360**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.05.2004** **E 04776039 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016** **EP 1631237**

54 Título: **Mutantes degradantes del proteoglucano para el tratamiento del SNC**

30 Prioridad:

16.05.2003 US 471300 P

16.05.2003 US 471239 P

16.05.2003 US 471240 P

29.05.2003 US 474372 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
14.06.2017

73 Titular/es:

ACORDA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)

420 Saw Mill River Road

Ardsley, NY 10502, US

72 Inventor/es:

GRUSKIN, ELLIOTT, A.;

CAGGIANO, ANTHONY, O.;

ROY, GARGI y

D'SOUZA, ROHINI

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 616 749 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

Mutantes degradantes del proteoglucano para el tratamiento del SNC

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio y la prioridad de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos con n.º de Serie 60/471.240, Expediente del Agente n.º 127304.01300, presentada el 16 de mayo de 2003; la Solicitud Provisional de los Estados Unidos con n.º de Serie 60/471.239, Expediente del Agente n.º 127304.01200, presentada el 16 de mayo de 2003; la Solicitud Provisional de los Estados Unidos con n.º de Serie 60/471.300, Expediente del Agente n.º 127304.01400, presentada el 16 de mayo de 2003; la Solicitud Provisional de los Estados Unidos con n.º de Serie 60/474.372, Expediente del Agente n.º 127304.01700, presentada el 16 de mayo de 2003; y la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos titulada "FUSION PROTEINS FOR TREATMENT OF CNS", presentada simultáneamente con la presente el 17 de mayo de 2004, la Solicitud de patente de los Estados Unidos con n.º de Serie [aún sin asignar] Expediente del Agente n.º 127304.01201.

Antecedentes y sumario

Las condroitinasas son enzimas de origen bacteriano que actúan sobre el sulfato de condroitina, un componente de los proteoglucanos que son componentes de la matriz extracelular de una gran variedad de tejidos, tales como el sistema nervioso central y, por ejemplo, pueden mediar la unión entre la retina y el cuerpo vítreo del ojo humano. Los ejemplos de enzimas condroitinasa son la condroitinasa ABC I, **SEQ ID NO: 37**, que se produce por la bacteria *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*), y la condroitinasa AC, **SEQ ID NO: 5**, que se produce por *Flavobacterium heparinum*. Las condroitinasas ABC I **SEQ ID NO: 37**, y la condroitinasa AC **SEQ ID NO: 5**, funcionan degradando las cadenas laterales de polisacárido en complejos de proteína-polisacárido, sin degradar el núcleo de proteína.

Yarnagata et al. (J. Biol. Chem. 243:1523-1535, 1968) describen la purificación de las condroitinasas tales como ABC I **SEQ ID NO: 37** a partir de extractos de *P. vulgaris*. Esta enzima degrada selectivamente los glucosaminoglucanos condroitina-4-sulfato, sulfato de dermatano y condroitina-6-sulfato (también citadas, respectivamente, como sulfatos de condroitina A, B y C, que son cadenas laterales de proteoglucanos) a pH 8 a velocidades mayores a las que degrada la condroitina o el ácido hialurónico. Los productos de la degradación son oligosacáridos insaturados de elevado peso molecular y un disacárido insaturado. Sin embargo, la condroitinasa ABC I, **SEQ ID NO: 37**, no actúa sobre el queratosulfato, la heparina o el sulfato de heparina.

Los usos de las condroitinasas incluyen la ruptura rápida, específica y no quirúrgica de la unión del cuerpo vítreo a la retina neural del ojo, facilitando de este modo la extracción del cuerpo vítreo.

La condroitinasa de *P. vulgaris*, por ejemplo, ABC I **SEQ ID NO: 37** migra con una masa molecular aparente de aproximadamente 110 kDa cuando se resuelve mediante SDS-PAGE. Se ha comunicado la aparición de un doblete en la resolución por SDS-PAGE de la condroitinasa ABC (Sato et al., Agric. Biol. Chem. 50:4,1057-1059, 1986). Sin embargo, este doblete representa a la condroitinasa ABC intacta y a un producto de degradación de 90 kDa. Las preparaciones de proteína condroitinasa ABC comerciales contienen cantidades variables de este producto de degradación de 90 kDa y un producto de degradación adicional de 18 kDa también procedente de la condroitinasa ABC I, **SEQ ID NO: 37**. La condroitinasa ABC II, **SEQ ID NO: 27**, se ha aislado y se ha purificado a partir de *P. vulgaris*. La condroitinasa ABC II, **SEQ ID NO: 27**, es un polipéptido de 990 aminoácidos con una masa molecular aparente mediante SDS-PAGE de aproximadamente 112 kDa. Su masa molecular determinada mediante electropulverización y espectrometría de masas de desorción láser es de aproximadamente 111.772 Dalton. La condroitinasa ABC II, **SEQ ID NO: 27**, tiene un punto isoeléctrico de 8,4-8,45. Su actividad enzimática es distinta de, pero complementaria a, la de la condroitinasa ABC I **SEQ ID NO: 37**. La condroitinasa ABC I, **SEQ ID NO: 37**, escinde endolíticamente los proteoglucanos para producir productos finales de disacáridos, así como al menos otros dos productos diferentes que se cree que son tetrasacáridos. La condroitinasa ABC II, **SEQ ID NO: 27**, digiere al menos uno de estos productos de tetrasacárido procedente de la digestión de proteoglucano de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 37**).

Después de producirse un daño en el sistema nervioso central (SNC) de un mamífero adulto, la incapacidad de los axones para regenerarse puede ocasionar una parálisis permanente. La lesión por el daño puede desembocar en una cicatrización glial, que contiene moléculas de la matriz extracelular, incluyendo proteoglucanos de sulfato de condroitina (CSPG). Los CSPG inhiben el crecimiento del tejido nervioso *in vitro*, y no se logra la regeneración del tejido nervioso en las regiones ricas en CSPG *in vivo*.

Se ha vinculado una serie de moléculas y regiones especificadas de las mismas, con la capacidad para soportar la brotación de neuritas de una célula neuronal, un proceso citado también como crecimiento neurítico. El término neurita se refiere a estructuras tanto axónicas como dendríticas. Este proceso de brotación de neuritas es esencial en el desarrollo y la regeneración neural, especialmente después de que un daño físico o una enfermedad haya dañado a las células neuronales. Las neuritas se alargan profusamente durante el desarrollo, en los sistemas nerviosos tanto central como periférico de todas las especies animales. Este fenómeno se produce tanto en axones como en dendritas. Sin embargo, el crecimiento de neuritas en el SNC se reduce a medida que el animal envejece.

Las enzimas condroitinasas han mostrado eficacia para mejorar los resultados funcionales en varios modelos *in vivo* de lesión de médula espinal. Los polipéptidos de las condroitinasas AC producidas de manera recombinante (**SEQ ID NO: 5**) y la condroitinasa B (**SEQ ID NO: 12**) han mostrado eficacia *in vitro* superando la barrera de una frontera de sustrato inhibidor, tal como agregano, dando como resultado la extensión de neuritas en neuronas corticales de rata.

Los inventores han descubierto, mediante un análisis de eliminación basado en las estructuras cristalinas disponibles, polipéptidos mutantes capaces de degradar los proteoglucanos de sulfato de condroitina (CSPG). Se ha explorado la actividad de escisión de estos mutantes *in vitro* mediante un ensayo zimográfico usando agregano como sustrato. Se observó que un polipéptido truncado de condroitinasa AC (nΔ50-cΔ275), (**SEQ ID NO: 11**), que carece de los aminoácidos 50 y 275 desde los extremos amino y carboxilo terminales y que tiene un peso molecular de 38 kDa, en comparación con la proteína de longitud completa de 75kDa, tenía el tamaño mínimo que retuvo actividad según se comprobó mediante el ensayo zimográfico. El mutante de eliminación de condroitinasa B (nΔ120-c Δ120), (**SEQ ID NO: 17**), que carece de 120 aminoácidos desde cada uno de los extremos amino y carboxilo terminales y que tiene un peso molecular de 26 kDa en comparación con los 52 kDa de la proteína de longitud completa, también mostró retención de la actividad en un ensayo zimogénico. La reducción del tamaño y la complejidad de la molécula puede facilitar la difusión al sitio de acción y reducir potencialmente la inmunogenicidad para su uso terapéutico prolongado. Estas condroitinasas más pequeñas podrían ser agentes terapéuticos potenciales para las lesiones de la médula espinal.

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I que degrada un proteoglucano, seleccionándose dicho polipéptido entre la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, en donde el polipéptido retiene su actividad degradante de proteoglucanos. Por lo tanto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos y proteínas procedentes de mutantes del gen de la condroitinasa, y aunque no sea parte de la invención reivindicada, su uso en métodos para promover la recuperación funcional neuronal después de un daño o lesión al sistema nervioso central ("SNC"). Los polipéptidos y proteínas son mutantes de eliminación del polipéptido maduro. Estos polipéptidos, preferentemente biológicamente activos, pueden usarse en diversas composiciones farmacéuticas.

Se proporcionan polipéptidos mutantes de condroitinasa, por ejemplo, condroitinasa ABC de tipo I, **SEQ ID NO: 1 o 37**, condroitinasa ABC de tipo II, **SEQ ID NO: 27**, condroitinasa AC, **SEQ ID NO: 5**, y condroitinasa B, **SEQ ID NO: 12**, aunque solo se contemplan como parte del primer aspecto de la presente invención los mutantes de condroitinasa ABC de tipo I. Otros mutantes de enzimas de mamífero con actividad similar a condroitinasa pero que no se contemplan como parte del primer aspecto de la presente invención pueden incluir, independientemente, enzimas tales como hialuronidasa 1, **SEQ ID NO: 30**, hialuronidasa 2, **SEQ ID NO: 31**, hialuronidasa 3, **SEQ ID NO: 32**, hialuronidasa 4, **SEQ ID NO: 33**, y opcionalmente PH-20, **SEQ ID NO: 34**. El mutante de eliminación del primer aspecto de la presente invención puede usarse solo o en combinación con condroitinasas o sus mutantes de eliminación o sustitución en forma de composiciones y mezclas terapéuticas. Aunque no forma parte de la invención reivindicada, se proporciona además el uso de los mutantes del primer aspecto para promover la recuperación funcional neurológica en mamíferos después de un daño al SNC, incluyendo, pero sin limitación, daño por contusión.

Aunque no forman parte de la presente invención, también se contemplan moléculas de ácido nucleico aisladas que consisten en y preferentemente comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos que son mutantes de eliminación y/o sustitución de moléculas degradantes de proteoglucanos. De manera independiente, las moléculas de ácido nucleico pueden codificar polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes de condroitinasa, por ejemplo, condroitinasa ABC de tipo I, **SEQ ID NO: 1 o 37**, condroitinasa ABC de tipo II, **SEQ ID NO: 27**, condroitinasa AC, **SEQ ID NO: 5**, y condroitinasa B, **SEQ ID NO: 12**, hialuronidasa 1, **SEQ ID NO: 30**, hialuronidasa 2, **SEQ ID NO: 31**, hialuronidasa 3, **SEQ ID NO: 32**, hialuronidasa 4, **SEQ ID NO: 33** u opcionalmente, PH-20, **SEQ ID NO: 34** y combinaciones de estos. Preferentemente, los ácidos nucleicos codifican mutantes de eliminación y/o sustitución de condroitinasa, más preferentemente, los ácidos nucleicos codifican polipéptidos de condroitinasa ABC de tipo I o II. También se contemplan moléculas de ácido nucleico que consisten en y preferentemente comprenden una secuencia de nucleótidos complementaria a las secuencias de ácido nucleico anteriormente descritas, aunque no forman parte de la invención reivindicada. También se proporcionan, aunque no forman parte de la invención reivindicada, moléculas de ácido nucleico al menos un 80%, preferentemente un 85% o 90%, aún más preferentemente un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idénticas a cualquiera de las moléculas de ácido nucleico anteriormente descritas. También se proporcionan, aunque no forman parte de la invención reivindicada, moléculas de ácido nucleico que hibridan en condiciones rigurosas con cualquiera de las moléculas de ácido nucleico anteriormente descritas. Aunque no forman parte de la presente invención, también se contemplan vectores recombinantes que comprenden estas moléculas de ácido nucleico. En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una célula genéticamente modificada que expresa el polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I del primer aspecto de la presente invención.

Pueden prepararse composiciones farmacéuticas preparadas a partir de las moléculas mutantes degradantes de proteoglucano del primer aspecto de la invención, pudiendo incluir la composición uno o más de los mutantes de eliminación y sustitución de diferentes polipéptidos degradantes de proteoglucano.

En un aspecto de la invención, se proporcionan polipéptidos degradantes de proteoglucano biológicamente activos que tienen una eliminación de al menos un aminoácido. Los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes incluyen aquellos que tienen el tamaño mínimo, aunque retengan un grado de actividad determinado por los ensayos enzimáticos descritos en la memoria descriptiva.

- 5 Los mutantes de eliminación de los polipéptidos de condroitinasa pueden promover la regeneración de neuritas y/o la plasticidad en el SNC y/o promover o inhibir la difusión de moléculas terapéuticas en tejidos mediante la degradación de proteoglucanos.

Los polipéptidos mutantes degradantes de proteoglucano pueden promover la regeneración de neuritas en el SNC y/o promover o inhibir la difusión de moléculas terapéuticas en tejidos mediante la degradación de proteoglucanos y pueden obtenerse mediante expresión de secuencias de ADN modificadas de manera adecuada.

10 En otros aspectos más, la invención comprende una composición que comprende un polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I del primer aspecto de la invención. También se contemplan composiciones farmacéuticas que incluyen un polipéptido biológicamente activo de los mutantes de eliminación de las moléculas degradantes de proteoglucano del primero como parte de la presente invención en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otros aspectos más, la invención comprende una proteína de fusión que comprende el polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I del primer aspecto.

Los mutantes de eliminación y de los polipéptidos degradantes de proteoglucano de la presente invención pueden usarse para promover la regeneración de neuritas en el tejido nervioso. Estos mutantes también podrían ser útiles en el tratamiento de otros trastornos del SNC en los que pueda ser beneficiosa la plasticidad, la regeneración o ambas. Por ejemplo, los daños y trastornos del SNC pueden incluir, pero sin limitación, daño por contusión, daño cerebral traumático, accidente cerebrovascular, esclerosis múltiple, daño en el plexo braquial y ambliopía. Debido a sus propiedades degradantes del proteoglucano, pueden usarse para promover el suministro de composiciones terapéuticas y agentes diagnósticos a tejidos y células que normalmente son impermeables a los mismos. Como alternativa, pueden usarse para inhibir la penetración de composiciones terapéuticas, agentes diagnósticos o células en tejidos que usan parte de la matriz extracelular para penetrar en los tejidos. Debido a su reducido tamaño en comparación con la enzima de longitud completa, los mutantes de eliminación son más fáciles de producir y suministrar a células y tejidos diana. Estos mutantes de eliminación de moléculas degradantes de proteoglucano podrían usarse como agentes terapéuticos potenciales con una menor inmunogenicidad y una capacidad de penetración en tejidos mayor para el tratamiento de daños en el SNC.

Los mutantes de eliminación pueden ofrecer ventajas significativas frente a las proteínas de longitud completa en el proceso de desarrollo terapéutico. La penetración en tejidos de las enzimas puede verse afectada por el tamaño de la proteína. Es difícil predecir el efecto del tamaño de la proteína en la penetración en tejidos, pero es dependiente del tamaño y de la carga. La velocidad de penetración depende de la composición del tejido, de las interacciones de carga y de los efectos de la hidratación. El hecho de tener enzimas con un intervalo de tamaños amplio puede posibilitar la selección de una enzima basándose en las propiedades óptimas de penetración en tejidos, quizá maximizando las concentraciones eficaces o limitando la exposición periférica a la enzima.

La respuesta inmunitaria de un mamífero a una proteína bacteriana puede limitar o no la capacidad de usar la proteína o el polipéptido como un agente terapéutico. La generación de anticuerpos contra la proteína puede restringir las exposiciones repetidas, así como potencialmente inactivar el agente terapéutico proteínico, haciéndolo ineficaz. Las enzimas degradantes de proteoglucano pueden limitar los sitios antigénicos, limitar una respuesta inmunitaria o al menos simplificar el proceso de diseño de una enzima con una inmunogenicidad reducida.

La velocidad de liberación de proteínas a partir de matrices normalmente usadas en las formulaciones de liberación sostenida puede ser dependiente del tamaño y de la reticulación. Puede modificarse la velocidad de liberación eficaz de la matriz de los mutantes de eliminación del polipéptido degradante de proteoglucano mediante la manipulación del tamaño de la enzima. El hecho de tener un repertorio de enzimas condroitinasas de diversos tamaños y cargas proporcionará una ventaja significativa para el desarrollo de una formulación de liberación sostenida.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1(A) muestra una transferencia de Western de anti-etiqueta His (parte superior) y un zimograma (parte inferior) que demuestra la actividad de expresión del mutante de eliminación de condroitinasa B, NΔ120 CΔ120 (SEQ ID NO: 17); La FIG. 1(B) muestra una transferencia de Western de anti-etiqueta His (parte superior) y un zimograma (parte inferior) que demuestra la actividad de expresión del mutante de eliminación de condroitinasa AC, NΔ50 CΔ275 (SEQ ID NO: 11);

La FIG. 2 ilustra la actividad degradante de sustrato relativa de varios polipéptidos mutantes de eliminación de condroitinasa AC (SEQ ID NO: 6-11) en relación a la condroitinasa AC de longitud completa SEQ ID NO: 5 ;

La FIG. 3(A) muestra un esquema de los polipéptidos mutantes de eliminación de condroitinasa AC (SEQ ID NO: 6-11); La FIG. 3(B) muestra la confirmación de mutantes de eliminación de condroitinasa AC mediante transferencia de Western;

La FIG. 4 muestra la confirmación de la expresión de proteínas y la actividad catalítica de mutantes de eliminación de condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 6-11**) mediante (A) transferencia de Western y (B) zimografía;

La FIG. 5 muestra un esquema de los polipéptidos mutantes de eliminación (**SEQ ID NO: 13-17**) de condroitinasa B (**SEQ ID NO: 12**);

- 5 La FIG. 6 muestra la confirmación de la expresión de proteínas y la actividad catalítica de condroitinasa B y de mutantes de eliminación (**SEQ ID NO: 12-17**) mediante (A) transferencia de Western y (B) zimografía;

La FIG. 7 muestra un esquema de los polipéptidos mutantes de eliminación de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 2-4**) de condroitinasa ABC I **SEQ ID NO: 1**.

Descripción detallada

- 10 Antes de describir las presentes composiciones y métodos, debe entenderse que la presente invención no está limitada a las moléculas, composiciones, metodologías o protocolos particulares descritos, ya que estos pueden variar. También debe entenderse que la terminología empleada en la descripción tiene como objeto únicamente describir las versiones o realizaciones particulares y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que quedará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

- 15 También debe entenderse que, tal como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas del singular "un", "una", "uno" y "el" o "la" incluyen referencias al plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una célula" es una referencia a una o más células y equivalentes de las mismas conocidas por los expertos en la materia, y así sucesivamente. A menos que se definan de otro modo, todos los términos científicos y técnicos usados en la presente memoria tienen los mismos significados que aquellos entendidos normalmente por un experto habitual en la materia. Aunque pueden emplearse cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente memoria en la práctica o prueba de las realizaciones de la presente invención, a continuación se describen los métodos, dispositivos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en la presente memoria se incorporan por referencia. Nada de lo expuesto en este documento deberá interpretarse como una admisión de que la invención no tiene derecho a que se le asigne una fecha anterior a tal divulgación en virtud de una invención anterior.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el acontecimiento o circunstancia descrito posteriormente puede producirse o no y que la descripción incluye casos donde se produce el acontecimiento o el material está presente y casos donde no se produce el acontecimiento o donde el material no está presente.

- 30 Pueden usarse genes de condroitinasa para generar enzimas mutantes de eliminación con un peso molecular sustancialmente menor, pero con una actividad catalítica degradante de proteoglucanos modificada y preferentemente equivalente o superior en comparación con las enzimas de tipo silvestre. Los mutantes de eliminación pueden generarse mediante reacción en cadena de la polimerasa. Los mutantes resultantes se expresan y después puede confirmarse la actividad enzimática del polipéptido mutante usando zimografía.

- 35 Los mutantes de las moléculas degradantes de proteoglucano del primer aspecto de la presente invención pueden usarse para tratar daños en el SNC de mamíferos, causados típicamente por traumatismos o enfermedades. El mutante de una molécula de polipéptido degradante de proteoglucano de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención o aquel mutante y mutantes de cualquiera de ABC de tipo I, (**SEQ ID NO: 1 o 37**), condroitinasa ABC de tipo II, (**SEQ ID NO: 27**), condroitinasa AC, (**SEQ ID NO: 5**), y condroitinasa B, (**SEQ ID NO: 12**), o enzimas de mamífero con actividad similar a condroitinasa, tales como hialuronidasa 1, (**SEQ ID NO: 30**), hialuronidasa 2, (**SEQ ID NO: 31**), hialuronidasa 3, (**SEQ ID NO: 32**), hialuronidasa 4, (**SEQ ID NO: 33**), y opcionalmente PH-20, (**SEQ ID NO: 34**), pueden usarse para proporcionar un tratamiento terapéutico para daños y trastornos del SNC que pueden incluir, pero sin limitación, daño por contusión, daño cerebral traumático, accidente cerebrovascular, esclerosis múltiple, daño en el plexo braquial, ambliopía y daños en la médula espinal. Los daños en la médula espinal incluyen enfermedades y daños traumáticos, tales como el aplastamiento de neuronas producido por un accidente de tráfico, caídas, contusiones o heridas de bala, así como otros daños. La puesta en práctica de los presentes métodos puede conferir beneficios clínicos al mamífero tratado, proporcionando mejoras clínicamente relevantes en al menos una de las funciones de coordinación motora y percepción sensorial del sujeto. Las mejoras clínicamente relevantes pueden variar desde una mejora detectable hasta una restauración completa de una función deteriorada o perdida del SNC.

- 50 Puede estabilizarse la actividad enzimática de los mutantes de moléculas degradantes de proteoglucano, por ejemplo, mutantes de eliminación de condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 5**) mediante la adición de excipientes o mediante liofilización. Los estabilizantes pueden incluir carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos y tensioactivos y son conocidos por los expertos en la materia. Los ejemplos incluyen carbohidratos, tales como sacarosa, lactosa, manitol y dextrano, proteínas tales como albúmina y protamina, aminoácidos, tales como arginina, glicina y treonina, tensioactivos, tales como TWEEN® y PLURONIC®, sales, tales como cloruro de calcio y fosfato de sodio y lípidos, tales como ácidos grasos, fosfolípidos y sales biliares. Pueden añadirse estabilizantes a los mutantes de eliminación de polipéptido degradante de proteoglucano a una relación de 1:10 a 4:1, de carbohidrato a polipéptido, de aminoácidos a polipéptido, de estabilizante de proteínas a polipéptido y de sales a polipéptido de 1:1000 a 1:20; de

tensioactivo a polipéptido; y de 1:20 a 4:1 de lípidos a polipéptido. Otros estabilizantes incluyen concentraciones elevadas de sulfato de amonio, acetato de sodio o sulfato de sodio, basándose en estudios comparativos con la actividad de heparinasa. Los agentes estabilizantes, preferentemente el sulfato de amonio u otra sal similar, se añaden a la enzima a una relación de 0,1 a 4,0 mg de sulfato de amonio/UI de enzima.

Los polipéptidos mutantes degradantes de proteoglucano pueden formularse como composiciones y pueden administrarse por vía tópica, local o sistémica a un sujeto o paciente. Preferentemente, el sujeto es un mamífero y aún más preferentemente, un ser humano que necesita una composición degradante de proteoglucano, tal como una de las condroitinasas. Puede usarse administración tópica o local para un mayor control de la aplicación. Pueden mezclarse uno o más polipéptidos mutantes degradantes de proteoglucano, de manera individual o en combinación, con un portador farmacéutico adecuado antes de su administración. Los ejemplos de portadores y aditivos farmacéuticos generalmente usados son diluyentes, aglutinantes, lubricantes, agentes colorantes, agentes disgregantes, agentes tamponadores, agentes isotónicos, conservantes, anestésicos y similares convencionales. Específicamente, los portadores farmacéuticos que pueden usarse son dextrano, albúmina sérica, gelatina, creatinina, polietilenglicol, tensioactivos no iónicos (por ejemplo, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán, aceite de colza endurecida con polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de sacarosa, polioxietileno polioxipropilenglicol) y compuestos similares.

Las composiciones de la presente invención que tienen un polipéptido degradante de proteoglucano del primer aspecto de la presente invención también pueden incluir moléculas terapéuticas, agentes diagnósticos y agentes para promover el crecimiento y la regeneración de neuritas. Los ejemplos de moléculas diagnósticas pueden incluir, pero sin limitación, sondas fluorescentes, radioisótopos, colorantes o agentes de contraste magnéticos. Los compuestos que facilitan la plasticidad, el crecimiento y la regeneración de neuritas pueden incluir, pero sin limitación, moléculas que superan la inhibición del crecimiento de neuritas o que promuevan el crecimiento de nervios, tales como antagonistas de Nogo solubles, tales como NgR₂₇₋₃₁₁, moléculas de adhesión a células neurales, tales como L1, factores neurotróficos, factores de crecimiento, inhibidores de fosfodiesterasa e inhibidores de MAG o MOG. Además, los mutantes de eliminación pueden combinarse con otros compuestos que promueven la remielinización, tales como neuregulinas (GGF2) y anticuerpos que promueven la remielinización.

La plasticidad del sistema nervioso se refiere a cualquier tipo de reorganización funcional. Esta reorganización se produce con el desarrollo, el aprendizaje y la memoria y la reparación cerebral. Los cambios estructurales que se producen con la plasticidad pueden incluir la formación de sinapsis, la eliminación de sinapsis, el brote de neuritas y puede incluir incluso el fortalecimiento o el debilitamiento de sinapsis existentes. En general, la regeneración se diferencia de la plasticidad por el crecimiento de largo alcance de los axones en los tractos alterados, que es característico de la regeneración.

La actividad biológica de las moléculas degradantes de proteoglucano de la presente invención puede usarse para controlar la velocidad de degradación de los proteoglucanos en un tejido y, por ejemplo, seleccionarse para que tenga una actividad de degradación más lenta para tejidos sensibles y una mayor velocidad de degradación para porciones de degradación de tejido que son más gruesas. Puede controlarse la actividad mediante una o más sustituciones o eliminaciones de aminoácidos en el polipéptido o los vectores usados para expresarlos; la actividad puede controlarse por medio de la concentración o la combinación de polipéptidos degradantes de proteoglucano en una composición. Puede forzarse a que la actividad degradante de proteoglucano sea mayor o menor que la del polipéptido de longitud completa. Aunque no se cita la condroitinasa AC en el primer aspecto de la invención reivindicada, a modo de ejemplo comparativo, puede forzarse a que la actividad de proteoglucano sea menor que la de condroitinasa AC de longitud completa (**SEQ ID NO: 5**), y puede forzarse a que tenga una actividad menor de la mitad que la del polipéptido de longitud completa tal como se muestra en la FIG. 2. Asimismo, tal como se ilustra en la FIG. 2, puede forzarse a que la actividad degradante de proteoglucano sea mayor que la de la condroitinasa AC de longitud completa (**SEQ ID NO: 5**), puede forzarse a que sea más activa que el polipéptido de longitud completa en un factor de 1,5 o más; puede ser más activa que el polipéptido de longitud completa en un factor de 2,5 o más.

Normalmente, pueden usarse cepas bacterianas nativas o de tipo silvestre de *P. vulgaris* para producir las condroitinasas ABC I, (**SEQ ID NO: 1 o 37**), y la condroitinasa ABC II, (**SEQ ID NO: 27**) y mutantes de estos polipéptidos de longitud completa en condiciones de cultivo normales. Puede inducirse la producción de niveles detectables de condroitinasa ABC I y sus mutantes en cepas de tipo silvestre de *P. vulgaris* proporcionando un sustrato inductor, tal como sulfato de condroitina, como única fuente de carbono.

Pueden usarse ácidos nucleicos mutantes para expresar polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes. Los polipéptidos expresados o los ácidos nucleicos mutantes pueden usarse para el tratamiento de lesiones del SNC de mamíferos, típicamente causados por traumatismos o enfermedades. En particular, un ácido nucleico mutante de eliminación para expresar molécula de polipéptido degradante de proteoglucano similar a condroitinasa ABC de tipo I puede incluir, pero sin limitación condroitinasa ABC I clonada, (**SEQ ID NO: 22 o 28**), condroitinasa ABC II, (**SEQ ID NO: 26**), ácidos nucleicos para expresar proteínas de fusión de mutantes de eliminación de TAT-condroitinasa ABC I NΔ60 (**SEQ ID NO: 43**) y los mutantes de estos genes en *E. coli* pueden expresarse usando un sistema de expresión heterólogo con un inductor artificial. condroitinasa AC, (**SEQ ID NO: 22 o 28**), y condroitinasa B (**SEQ ID NO: 26**), y pueden clonarse sus mutantes a partir de *F. heparinum* y expresarse en *E. coli*.

Las moléculas degradantes de proteoglucano similares a condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 5**), así como los mutantes de eliminación y/o sustitución de los polipéptidos degradantes de proteoglucano pueden clonarse en una serie de vectores de expresión bacterianos así como de mamífero. Los ejemplos no limitantes de estos vectores incluyen pET15b, pET14b, pGEX 6P1, pDNA4HisMax o pSECTag2b. Los polipéptidos mutantes de eliminación de la presente invención muestran la capacidad para degradar los proteoglucanos, tales como condroitina CS y DS, y tienen un tamaño y un peso molecular menor que los polipéptidos de enzima madura, lo que se espera que facilite su difusión en células, tejidos y a través de membranas. Los vectores de expresión pueden incluir la secuencia de ácido nucleico que expresa un polipéptido degradante de proteoglucano unido operablemente a una secuencia de control de la expresión. Unido operablemente puede referirse a un engarce entre una secuencia de control de la expresión y una secuencia codificante, donde el engarce permite que la secuencia de control de la expresión controle la expresión de la secuencia codificante.

Las propiedades de los mutantes de origen natural, sustituidos o de eliminación de las moléculas degradantes de proteoglucano pueden alterarse introduciendo una diversidad de mutaciones en la proteína. Dichas alteraciones se introducen de manera adecuada usando las técnicas de mutagénesis, por ejemplo, pero sin limitación, mutagénesis por PCR y las moléculas de polipéptidos mutados se sintetizan de manera adecuada usando los vectores de expresión.

Preferentemente, las eliminaciones incluyen cualesquiera dos aminoácidos separados y eliminaciones internas de aminoácidos en el polipéptido. La eliminación da como resultado polipéptidos mutantes degradantes de proteoglucano que son más pequeños que la enzima madura y conservan la capacidad degradante de proteoglucano. Pueden fusionarse o unirse los polipéptidos degradantes de proteoglucano a otro polipéptido. Polipéptido se usa para abarcar de manera unívoca secuencias de aminoácidos para mutantes de cualquier longitud que tienen actividad degradante de proteoglucano y mejorar la plasticidad, incluyendo aquellas menos la secuencia de señal que forma parte inicialmente del polipéptido cuando se traduce y que se escinde mediante una modificación traduccional del hospedador.

Los ácidos nucleicos mutantes incluyen eliminaciones y/o sustituciones de nucleótidos de genes que expresan los polipéptidos degradantes de proteoglucano maduros. A nivel de ADN, se usan mutaciones de eliminación y sustitución para introducir sustituciones y/o eliminaciones de aminoácidos en la proteína codificada. Estas eliminaciones y sustituciones de nucleótidos pueden usarse para introducir eliminaciones y/o sustituciones en regiones conformacionales o activas importantes del polipéptido. Un fragmento de ácido nucleico es un ácido nucleico que tiene menos nucleótidos que la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos completa de un polipéptido degradante de proteoglucano, aunque preferentemente codifica un polipéptido mutante que retiene cierta actividad biológica de la proteína de longitud completa, por ejemplo, el fragmento de polipéptido expresado conserva la capacidad para inducir degradación de proteoglucanos, promover la difusión de agentes terapéuticos en células y tejido o promover la regeneración de neuritas. También pueden usarse genes que codifican mutantes N o C-terminales de dominios de polipéptido degradante de proteoglucano unidos a otros polipéptidos en construcciones para la expresión de proteínas de fusión unidas a polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes.

Los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes de eliminación de la presente invención también pueden incluir derivados de estos polipéptidos que se han modificado química o enzimáticamente, pero que conservan su actividad biológica para degradar proteoglucanos. Puede controlarse la actividad degradante de proteoglucano de estos mutantes dependiendo de la eliminación o sustitución efectuada en el polipéptido o el ácido nucleico usado para expresar el polipéptido. Las variantes, fragmentos o análogos de los polipéptidos degradantes de proteoglucano maduro o los ácidos nucleicos y vectores usados para expresarlos incluyen polipéptidos mutantes y ácidos nucleicos que tienen una secuencia que difiere del polipéptido maduro o la secuencia de ácido nucleico en una o más eliminaciones, de tal forma que los polipéptidos degradantes de proteoglucano conservan su actividad biológica y pueden degradar proteoglucanos y preferentemente, degradan proteoglucanos de sulfato de condroitina.

Debido a la degeneración del código genético, un experto habitual en la materia reconocerá que un gran número de moléculas de ácido nucleico que tienen una secuencia al menos un 80%, preferentemente un 85% o 90%, aún más preferentemente un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia de ácido nucleico que codifica una molécula degradante de proteoglucano mutante codificará un polipéptido mutante que tenga actividad degradante de proteoglucano y preferentemente actividad degradante de condroitina. Se reconocerá además que, para dichas moléculas de ácido nucleico que no son variantes degeneradas, un número razonable también codificará un polipéptido mutante que tenga actividad degradante de proteoglucano. Esto se debe a sustituciones de aminoácidos que o bien tienen menos probabilidad o no tienen probabilidad de afectar a la actividad del polipéptido (por ejemplo, reemplazando un aminoácido alifático con un segundo aminoácido alifático) para degradar proteoglucanos y preferentemente para degradar condroitina.

Las variantes incluidas en la invención pueden contener eliminaciones individuales en las secuencias de ácido nucleico o de polipéptido. Dichos cambios eliminarán un solo aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada.

El descubrimiento acerca de que la actividad degradante de proteoglucano de los polipéptidos mutantes de

eliminación de la presente invención puede controlarse para que sea menor, aproximadamente la misma o mayor que la de la molécula degradante de proteoglucano de longitud completa tiene otra ventaja potencial. Puede administrarse una composición farmacéutica que contiene las moléculas degradantes de proteoglucano por vía parenteral, intravenosa o subcutánea. El uso de un hidrogel compuesto de polímero biodegradable que encierra el polipéptido y que libera el polipéptido de manera continua está limitado por la cantidad de polipéptido que puede atraparse en el hidrogel. El uso de un mutante de eliminación del polipéptido con mayor actividad específica implica que, en base molar, puede atraparse más cantidad de la sustancia activa en el mismo volumen, aumentando de este modo el tiempo entre administraciones sucesivas o posiblemente evitando administraciones repetidas.

La purificación del polipéptido obtenido después de la expresión depende de la célula hospedadora y la construcción de expresión usada. En general, la purificación de los mutantes de eliminación o sustitución de proteoglucano puede efectuarse del mismo modo que la purificación de polipéptidos de longitud completa nativos, incluyendo el uso de etiquetas de histidina.

Los polipéptidos y proteínas degradantes de proteoglucano mutantes se administran en una cantidad eficaz para degradar los CSPG. Los polipéptidos pueden usarse para ayudar en la difusión de composiciones terapéuticas y diagnósticas a tejidos y pueden usarse para promover la recuperación de la función neurológica y el crecimiento de neuritas. Una vez que se han purificado las proteínas o polipéptidos degradantes de proteoglucano hasta un grado deseado, pueden suspenderse o diluirse en un vehículo fisiológico o excipiente adecuado para el tratamiento del SCI o para ensayos de exploración de composiciones que promueven el crecimiento de neuritas *in vitro* en sustratos adecuados, tales como agregado. En modelos de SCI, las dosis intratecales de las condroitinasas en ratas ha sido de aproximadamente 0,06 unidades en días alternos durante 14 días. Una dosis para un humano de 70 kilogramos puede ser de aproximadamente 17 unidades. Aproximadamente a 100 unidades/miligramo, esto podría ser aproximadamente igual a 170 microgramos. Las dosis de hasta 20 unidades parecen seguras en sujetos mamíferos, tales como ratas. Las composiciones pueden incluir un polipéptido degradante de proteoglucano del primer aspecto de la presente invención. Estas composiciones también pueden incluir otras moléculas degradantes de proteoglucano y mutantes de eliminación y/o sustitución de estas, moléculas que bloquean la acción de inhibidores del crecimiento de neuritas, moléculas que promueven la adhesión de neuritas o axones, diagnósticas, terapéuticas o el mutante de molécula degradante de proteoglucano como parte de una proteína de fusión. Puede añadirse la mezcla de proteína de fusión a un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable, generalmente a concentraciones en el intervalo de 1 µg a 500 mg/kg de sujeto. La administración del agente puede ser por inyección de bolo, suministro intravenoso, infusión continua, liberación sostenida a partir de implantes o agentes farmacéuticos de liberación sostenida. La administración por inyección puede ser intramuscular, peritoneal, subcutánea, intravenosa o intratecal. La administración oral puede incluir comprimidos o cápsulas, preferentemente, la dosificación oral es una formulación de liberación sostenida para administración una o dos veces al día. La administración percutánea puede ser una vez al día y preferentemente, es una administración de menos de una vez al día. Puede continuarse la administración al paciente humano o a otro sujeto mamífero hasta que se logra una mejora medible en la función autónoma o motora en el paciente.

Los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes o los polipéptidos de fusión que los incluyen también pueden expresarse o secretarse por células genéticamente modificadas. Pueden recogerse y purificarse los polipéptidos degradantes de proteoglucano de eliminación o los polipéptidos de fusión para una composición terapéutica, o pueden implantarse las células genéticamente modificadas, ya estén solas o en una cápsula en o próxima al sitio del daño en el SNC o un tejido en el que se desea la difusión controlada de moléculas terapéuticas o diagnósticas. Los ácidos nucleicos mutantes para expresar polipéptidos degradantes de proteoglucanos mutantes se ilustran por los ejemplos no limitantes de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 22 y 28**) que codifican polipéptidos de condroitinasa ABC I sustituidos y aquellos con secuencias de aminoácidos sin líder; ácido nucleico mutante de condroitinasa B (**SEQ ID NO: 21**) que codifica el polipéptido mutante NA120 CA120 de condroitinasa B (**SEQ ID NO: 21**); y ácido nucleico mutante de condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 19**) que codifica un polipéptido mutante NA50 CA275 de condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 11**). Un ejemplo no limitante de un ácido de nucleico de fusión incluye una construcción de ADN de fusión de TAT-mutante de eliminación de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 41**). Otro ejemplo podría ser un ácido nucleico para TAT-condroitinasa ABC I-NA60 (**SEQ ID NO: 43**) para el polipéptido expresado (**SEQ ID NO: 44**).

Una vez se administran los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes a células o a un tejido con CSPG, la degradación de los CSPG elimina las moléculas inhibitoras que bloquean el crecimiento de neuritas y permite la regeneración de neuritas en el área afectada. La eliminación de CSPG también promueve la plasticidad en el SNC. Por ejemplo, los polipéptidos de longitud completa de condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 5**), y condroitinasa B, (**SEQ ID NO: 12**), degradan a CS y DS, respectivamente, dando como resultado disacáridos sulfatados no saturados. La condroitinasa AC, (**SEQ ID NO: 5**), escinde a CS en los engarces 1, 4 glucosídico entre la N-acetilgalactosamina y el ácido glucurónico en la cadena principal de polisacárido del CS. La escisión se produce mediante eliminación beta con un patrón de acción endolítico aleatorio. La condroitinasa AC, (**SEQ ID NO: 12**) escinde el engarce de ácido idurónico de 1, 4 galactosamina en la cadena principal de polisacárido de DS. La escisión tanto de CS como de DS se produce mediante un proceso de beta-eliminación que diferencia estos mecanismos enzimáticos de las enzimas degradantes de GAG de mamífero. La condroitinasa ABC I, (**SEQ ID NO: 1**), la condroitinasa ABC II (**SEQ ID NO: 27**), también son exo y endo liasas que escinden tanto a CS como a DS. La retirada de CS y DS de una cicatriz glial permite la regeneración de los crecimientos de neuritas en el área dañada y promueve la plasticidad. Por ejemplo,

las moléculas degradantes de proteoglucano ilustradas en la FIG. 2, condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 5**) y varios mutantes de condroitinasa AC (**SEQ ID NO: 6-11**) degradan un sustrato de proteoglucano modelo a diversas cantidades. Se muestran resultados similares mediante zimógrafo *in vitro* para condroitinasa B (**SEQ ID NO: 12**) y mutantes ilustrativos (**SEQ ID NO: 13-17**) en la FIG. 6. Es razonable esperar que ya que una molécula degradante de proteoglucano, tal como condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 1**) mejora la recuperación funcional en ratas con daño contusivo en la médula espinal y también facilita la difusión de compuestos modelo en tejido cerebral, estos polipéptidos y composiciones degradantes de proteoglucano mutantes que los contienen también pueden mejorar la recuperación funcional en sujetos mamíferos, tales como ratas con daño contusivo en la médula espinal y también puede facilitar la difusión de compuestos modelo en tejido cerebral.

La regeneración de las células nerviosas y la restauración de la plasticidad en el área afectado del SNC permite el retorno de la función motora y sensorial. Una mejora clínicamente relevante variará entre una mejora detectable hasta una restauración completa de una función nerviosa deteriorada o perdida, variando según los pacientes y los daños individuales. Puede demostrarse el grado de recuperación funcional mediante una conducción mejorada del tracto corticoespinal, retirada de la cinta, caminar por la barra, caminar por la rejilla y colocación de la pata mejoradas después del tratamiento con condroitinasa de una lesión de la columna dorsal. Mejora de la capacidad motora así como de la función autónoma: también puede usarse la función intestinal, de vejiga, sensorial y sexual como una medida de la mejora de la función y relacionarse con la estructura molecular y los componentes en las composiciones de la presente invención.

Puede generarse una serie de polinucleótidos que codifican mutantes de eliminación o sustitución de polipéptidos degradantes de proteoglucano mediante PCR usando los ADNc de longitud completa para los proteoglucanos como moldes y clonarse en un vector de expresión, tal como pET15b en los sitios de NdeI y BamHI para su expresión en *E. coli*. Después de la inducción de la expresión génica con isopropil- β -D-tiogalactopiranosido (IPTG), puede lisarse la bacteria por sonicación con la extracción concomitante del polipéptido mutante con un tensioactivo, tal como Triton X-114/PBS. Puede encontrarse la mayoría del polipéptido degradante de proteoglucano recombinante en la fracción citosólica del lisado celular bacteriano y pueden usarse protocolos de purificación de condroitinasa para obtener la enzima degradante de proteoglucano mutante con alta actividad a altos rendimientos. Este protocolo puede incluir la purificación mediante una columna que tiene anticuerpo anti-His para que se una selectivamente a polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes etiquetados con His y también puede incluir cromatografía de intercambio catiónico como etapa de captura y filtración en gel como etapa de refinado. Después de estas etapas, puede usarse filtración por membrana de intercambio aniónico, por ejemplo, Intercept Q, Millipore, para la eliminación de endotoxinas y del ADN del hospedador. Después de la filtración, pueden dializarse los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes en tampón volátil, a pH 8,0 y liofilizarse a sequedad. Se espera que el producto final sea estable a -70°C para su almacenamiento a largo plazo. El pI del polipéptido mutante degradante de proteoglucano básico purificado puede determinarse mediante análisis IEF-PAGE de las muestras a partir del lisado celular en bruto.

Puede usarse una diversidad de métodos analíticos para comparar la actividad enzimática de la versión recombinante de los mutantes de eliminación o sustitución de polipéptidos degradantes de proteoglucano con aquellas de moléculas degradantes de proteoglucano de longitud completa, tales como condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 37**) o una forma comercialmente disponible de la enzima. También pueden adaptarse los métodos para evaluar la actividad de proteínas de fusión, incluyendo una porción polipeptídica degradante de proteoglucano mutante. Pueden obtenerse mediciones de actividad específica usando un ensayo espectrofotométrico aceptado que mide el cambio en la absorbancia debido a la producción de productos de reacción a partir de la degradación de proteoglucanos. Puede usarse cromatografía de exclusión por tamaños para comparar las propiedades hidrodinámicas de las enzimas mutantes.

Puede usarse una forma de zimografía para caracterizar la enzima degradante de proteoglucano madura y puede adaptarse para la caracterización de los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes. Pueden polimerizarse geles de poli(acrilamida en presencia de) agarosa, un sustrato para moléculas degradantes de proteoglucano, tales como condroitinasa ABC I. Los polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes, muestras enzimáticas, pueden resolverse en geles impregnados con agarosa mediante electroforesis en presencia de SDS. Los geles pueden someterse a una etapa de renaturalización, en donde el SDS puede extraerse y dejar que se replieguen las enzimas. La enzima replegada recupera la actividad, después digiere el agarosa en el gel y puede visualizarse la pérdida resultante de carbohidrato en esa región del gen mediante un colorante específico de carbohidrato. Podría esperarse una pérdida de carbohidrato similar en el gel para formas igualmente activas y una concentración de las moléculas degradantes de proteoglucano mutantes. En el caso de condroitinasa ABC I recombinante, puede visualizarse su actividad como un punto claro en el zimograma. Los resultados de la zimografía son coherentes con el análisis espectrofotométrico.

Pueden usarse métodos HPLC para detectar los cuatro y seis disacáridos sulfatados ($\Delta 4\text{DS}$ y $\Delta 6\text{DS}$, respectivamente) liberados como resultado de la digestión de CSPG por el polipéptido degradante de proteoglucano mutante. Los dos disacáridos pueden resolverse de manera eficaz mediante cromatografía de intercambio aniónico. Se espera que el ensayo HPLC para la cuantificación de $\Delta 4\text{DS}$ y $\Delta 6\text{DS}$ a partir de cromatogramas produzca una relación lineal proporcional a las cantidades inyectadas en la HPLC. La producción de $\Delta 4\text{DS}$ y $\Delta 6\text{DS}$ procedente de la digestión de CSPG está relacionada directamente con la cantidad de actividad específica de condroitinasa

determinada mediante el ensayo espectrofotométrico. Puede usarse este ensayo como un método sensible y preciso para cuantificar de manera independiente los $\Delta 4DS$ y $\Delta 6DS$ liberados mediante la digestión por polipéptido degradante de proteoglucano mutante de una serie de sustratos y también pueden usarse para determinar la actividad de polipéptidos degradantes de proteoglucano mutantes y proteínas de fusión que los incluyen.

- 5 Otro ensayo funcional que puede llevarse a cabo para caracterizar la actividad de polipéptido de proteoglucano mutante es donde se emplan neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) en agrecano o agrecano tratado con un polipéptido degradante de proteoglucano de eliminación o sustitución. Se espera que las neuronas emplanadas en agrecano no logren adherirse a la placa y extender los axones. Por el contrario, cabría expresar que las neuronas emplanadas en agrecano tratado con un polipéptido degradante de proteoglucano mutante en una
10 composición o como parte de un polipéptido de fusión se adhieran a la superficie y extiendan axones. Se cree que el extenso crecimiento de axones que se observa para la condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 37**) se debe a la digestión de los carbohidratos en la proteína central de agrecano, que crea un sustrato más permisivo para el crecimiento de axones.

Varios aspectos de la invención podrán entenderse por referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

15 **Ejemplo 1**

Este ejemplo predictivo ilustra la difusión de moléculas en células y tejidos usando un mutante de eliminación o sustitución de un polipéptido degradante de proteoglucano en una composición.

- Puede extirparse el cerebro de un cráneo de una rata Sprague Dawley y pueden sumergirse los hemisferios en tampón solo o que contiene aproximadamente 33 U/ml de un polipéptido degradante de proteoglucano, tal como la
20 proteína (**SEQ ID NO: 9**) **NA50 CA200 AC (T₇₄-T₅₀₀)** durante 2 horas a 37 °C. Pueden enjuagarse los hemisferios y colocarse en colorante, tal como Eosina Y (Sigma) o una solución saturada de Rojo Congo (Sigma) en etanol al 70%. Pueden cortarse secciones de tejido y obtenerse imágenes en un escáner. Puede usarse la penetración de los colorantes en el tejido cerebral como una indicación de la actividad degradante de proteoglucano de una molécula degradante de proteoglucano mutante y esperar la penetración o difusión de moléculas terapéuticas y diagnósticas
25 en el mismo tipo de tejido.

Ejemplo 2

Este ejemplo predictivo ilustra un protocolo de ensayo de condroitinasa ABC I que puede modificarse para medir la actividad de una molécula degradante de proteoglucano mutante, por ejemplo, un mutante de eliminación de condroitinasa ABC I o una proteína de fusión que incluye un mutante de eliminación y/o sustitución de un polipéptido
30 degradante de proteoglucano.

- Puede determinarse la producción de productos de reacción a partir de la actividad catalítica de una molécula o proteína de fusión degradante de proteoglucano mediante una medición de la absorbancia del producto de degradación de proteoglucano a una longitud de onda de 232 nm. Una mezcla de reacción típica consiste en 120 μ l de mezcla de reacción (Tris 40mM, pH 8,0, acetato de Na 40mM, caseína al 0,002%) combinada con un sustrato (5
35 μ l de condroitina C 50 mM (MW 521), SO₄ condroitina 6 o sulfato de dermatano) y 1,5 μ l de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO:1**) o un mutante similar a condroitinasa (**SEQ ID NO:2**). Pueden prepararse alícuotas de mezcla de reacción de aproximadamente 120 μ l a 30-37°C durante 3 min o más. La formación de producto se controla como un aumento en la absorbancia a 232 nm en función del tiempo a una longitud de onda de 232 nm usando un espectrómetro. La reacción puede detenerse mediante la adición de SDS al 0,1% seguido de ebullición durante 5
40 minutos. La actividad observada puede convertirse en unidades (μ mol de producto formado por minuto) usando el coeficiente de absorción molar para el doble enlace C4-C5 formado en la reacción ($3800 \text{ cm}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

- Al conocer el coeficiente de absorción molar para el producto de reacción, al medir el cambio en la absorbancia del producto de reacción a una lectura a 232 nm con el paso del tiempo tras la adición de una cantidad de la condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 1**) u otro polipéptido degradante de proteoglucano mutante a los 120 μ l de mezcla
45 de reacción con caseína al 0,002% y un sustrato de condroitina añadido, puede determinarse la actividad específica en μ mol/min/mg del polipéptido degradante de proteoglucano mutante. La condroitinasa ABC I Seikagaku tiene una actividad específica en estas condiciones de ensayo de aproximadamente 450 μ mol/min/mg.

- Una molécula degradante de proteoglucano, tal como condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO:37**), digiere la condroitina inhibidora del crecimiento de axones presente en el tejido del SNC y mejora la recuperación funcional en ratas que
50 tienen daño por contusión en la médula espinal. Sería razonable esperar que los mutantes de las moléculas degradantes de proteoglucano, tales como el polipéptido (**SEQ ID NO: 11**) **NA50 CA275 AC (T₇₄-T₄₂₆)** que muestra actividad degradante de proteoglucano, también pueda mostrar cierta regeneración de los nervios, estimular la plasticidad y ser útil para la difusión de agentes en tejidos. Se llevan a cabo el modo de administración, el tiempo de administración y la dosificación de tal forma que se mejora la recuperación funcional de la discapacidad del SNC
55 mediante la promoción del crecimiento de neuritas y la plasticidad. Sería razonable esperar que una vez que los mutantes de eliminación o sustitución de las moléculas degradantes de proteoglucano, tales como la proteína (**SEQ ID NO: 11**) **NA50 CA275 AC (T₇₄-T₄₂₆)** se administran, la degradación de los CSPG puede eliminar las moléculas inhibidoras en el tejido que bloquean la difusión de fármacos, bloquean el crecimiento de neuritas y promueven la

regeneración de neuritas u otros agentes terapéuticos en el área afectada. La regeneración y la plasticidad de las células nerviosas en el área del SNC afectada puede permitir la recuperación de la función motora y sensorial. Las mejoras clínicamente relevantes variarían entre una mejora detectable hasta una restauración completa de una función nerviosa deteriorada o perdida, variando según los pacientes y los daños individuales.

5 Ejemplo 3

Este ejemplo muestra que los mutantes de eliminación de condroitinasa son biológicamente activos.

Las condroitinasas AC y B producidas de manera recombinante han mostrado eficacia *in vitro* al superar la barrera de una frontera de sustrato inhibidor, tal como agregano y dan como resultado una extensión de neuritas para neuronas corticales de rata. Para facilitar un transporte eficaz de las enzimas anteriores al sitio del daño, se prepararon mutantes de eliminación de estas condroitinasas para determinar los polipéptidos de tamaño mínimo capaces de degradar los CSPG. Se ha explorado la actividad de escisión de estos mutantes *in vitro* mediante un ensayo zimográfico usando agregano como sustrato. Se observó que un polipéptido truncado de condroitinasa AC (nΔ50-cΔ275) (**SEQ ID NO:11**) que carece de los aminoácidos 50 y 275 desde los extremos amino y carboxilo termina, respectivamente, que tiene un peso molecular de 38 kDa en comparación con los 75 kDa de la proteína de longitud completa, tenía aproximadamente el tamaño mínimo de condroitinasa AC mutante que conserva actividad, según se evaluó mediante el ensayo zimográfico, FIG. 4(B). Sin embargo, también se ha demostrado que un mutante aún más pequeño, el mutante de eliminación de condroitinasa B (nΔ 120-cΔ 120) (**SEQ ID NO:17**) que carece de 120 aminoácidos desde cada uno de los extremos amino y carboxilo terminal, que tiene un peso molecular de 26 kDa en comparación con los 52 kDa de la proteína de longitud completa, conserva la actividad en el ensayo zimográfico, FIG. 6(B). Podrían usarse estos y otros mutantes de eliminación aún más pequeños como agentes terapéuticos potenciales con menor inmunogenicidad y una capacidad de penetración en tejidos similar o mayor en comparación con la enzima madura y pueden usarse para el tratamiento del daño en la médula espinal.

Se generaron una serie de mutantes de eliminación de condroitinasa AC y B mediante PCR usando los ADNc de longitud completa para las condroitinasas AC y B como moldes y se clonaron en el vector de expresión pET15b en los sitios de NdeI y BamHI. Se construyeron mutantes de eliminación con etiquetas de histidina para facilitar la detección y purificación. Cada uno de estos ADNc se indujo mediante isopropil-β-D-tiogalactopiranosido (IPTG) y se confirmó la expresión mediante transferencia de Western usando anticuerpo anti-His (Novagen). La FIG. 3(A) muestra de manera esquemática varios mutantes de eliminación no limitantes, y la FIG. 3(B) muestra la confirmación de la expresión de estos polipéptidos mutantes de condroitinasa AC mediante transferencia de Western con anti-etiqueta de histidina. Las figuras 5 y 6 muestran la misma información para las eliminaciones de condroitinasa B. Las transferencias de Western demuestran proteínas del tamaño predicho. La PAGE zimográfica de los mutantes de eliminación muestra bandas intensas de digestión de sustrato (claro) y tinción de carbohidratos negativa.

Ensayo zimográfico. Se vertieron geles de SDS-poliacrilamida con agregano (85 µg/ml) polimerizado en los mismos. Se corrieron extractos en bruto de mutantes de eliminación de condroitinasas AC y B y se renaturalizaron a 37 °C durante una noche. Después de la separación, el gel se incubó en cetilpiridinio al 0,2% durante 90 minutos a temperatura ambiente. La digestión de los proteoglucanos por las condroitinasas se visualiza tiñendo el gel con azul de toluidina al 0,2% en etanol-H₂O-ácido acético (50:49:1 v/v/v) durante 30 minutos y destiñendo con etanol-H₂O-ácido acético (50:49:1 v/v/v). Después de la destinción, se incubó el gel durante una noche en una solución de Stains-all a 50 µg/ml en etanol al 50% en la oscuridad y se destiñe con H₂O. La aparición de bandas claras en el gel muestra la digestión por las condroitinasas del CSPG que dejan a la proteína central, que permanece sin teñir (FIG. 4 y FIG. 6).

Ejemplo 4

Este ejemplo describe la unión de una etiqueta de His a un polipéptido degradante de proteoglucano mutante.

Pueden generarse mutantes de eliminación de la enzima condroitinasa ABC I, donde el mutante carece de un número determinado de aminoácidos respecto del extremo N-terminal y mantiene actividad degradante de proteoglucano (**SEQ ID NO: 2-4**). Esta eliminación N-terminal mantiene una etiqueta de histidina, que está unida al extremo N-terminal; sin embargo la condroitinasa ABC I de longitud completa (**SEQ ID NO:1**) etiquetada de manera similar no mantuvo la etiqueta de histidina después de la expresión.

Pueden prepararse mutantes de eliminación catalíticamente activos de condroitinasa ABC I, por ejemplo, pero sin limitación, eliminando 20 y 60 aminoácidos, respectivamente, desde el extremo N-terminal de la proteína ABC I madura, tal como se muestra en la FIG. 7. También puede producirse un polipéptido mutante con eliminaciones tanto N como C-terminales, tal como condroitinasa ABC I-NΔ60-CΔ80 (**SEQ ID NO:4**).

Estos mutantes de eliminación de condroitinasa y mutantes de otras moléculas degradantes de proteoglucano pueden usarse para la construcción de proteína quimérica de fusión en N-terminal. El ensayo prueba estos polipéptidos de fusión respecto de la degradación de condroitina y puede usarse para determinar la eficacia de ABC I madura frente a varios mutantes de eliminación en composiciones y proteínas de fusión respecto de la especificidad de sustrato, la unión a sustrato y la penetración en tejidos. Puede llevarse este ensayo funcional para caracterizar la actividad del polipéptido de proteoglucano mutante o de polipéptidos de fusión que los incluyen. En

este ensayo funcional, pueden emplacarse neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) sobre agrecano o agrecano tratado con un polipéptido degradante de proteoglicano mutante o un polipéptido de fusión que incluye el mutante. Se espera que las neuronas emplacadas sobre agrecano no logren adherirse a la placa y extiendan los axones. Por el contrario, cabría expresar que las neuronas emplacadas en agrecano tratado con un polipéptido degradante de proteoglicano mutante o un polipéptido de fusión que incluye el mutante en una composición o como parte de un polipéptido de fusión se adhieran a la superficie y extiendan axones. Se cree que el crecimiento axonal extenso, que se observa para un sustrato de agrecano tratado con una condroitinasa, tal como condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 1 o 37**) se debe a la digestión de los carbohidratos en la proteína central de agrecano, que crea un sustrato más permisivo para el crecimiento de axones.

10 Ejemplo 5

Este ejemplo predictivo describe un mutante de condroitinasa ABC I que tiene estructura de proteína nativa, pero que carece de actividad catalítica degradante de proteoglicano.

Este mutante puede prepararse en forma de un control nulo o negativo para bioensayos y estudios SCI. Basándose en la estructura cristalina de la condroitinasa ABC I, pueden prepararse un mutante de sitio específico, denominado H501a y Y508a (**SEQ ID NO: 36**) para eliminar la actividad catalítica en el sitio activo putativo. Pueden ensayarse dichos mutantes respecto de la inactivación de la actividad catalítica y SEC para comparar la enzima de tipo silvestre. También puede usarse el mutante de actividad nula para proporcionar un control negativo para las diversas proteínas de fusión degradantes de proteoglicano para su uso en bioensayos y en última instancia, en estudios en animales SCI.

Este ejemplo ilustra ejemplos de polipéptidos degradantes de proteoglicano mutantes que incluyen tanto sustituciones como eliminaciones en los polipéptidos; aquellos relacionados con la condroitinasa ABC I y las **SEQ ID NO: 2, 3 y 4** conforman el primer aspecto de la presente invención.

La secuencia de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 37**) es una secuencia publicada para un péptido de condroitinasa ABC I maduro e incluye la secuencia líder. La secuencia de condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 37**) es similar a (**SEQ ID NO: 1 o 29**), aunque la (**SEQ ID NO: 1**) no tiene los primeros 25 aminoácidos de la (**SEQ ID NO: 37**), y los aminoácidos en las posiciones 154 y 195 de la (**SEQ ID NO: 37**) difieren de aquellas (sustituciones) encontradas en posiciones similares cuando la (**SEQ ID NO: 1**) y la (**SEQ ID NO: 37**) se alinean.

La (**SEQ ID NO: 38-40**) ilustra eliminaciones desde el extremo N o C-terminal del polipéptido de la (**SEQ ID NO: 37**) y sustituciones en relación con la (**SEQ ID NO: 1**). Estos polipéptidos mutantes son NΔ20 (**SEQ ID NO: 38**), NΔ60 (**SEQ ID NO: 39**) y NΔ60 CΔ80 (**SEQ ID NO: 40**).

Ejemplo 7

Este ejemplo presenta ilustraciones no limitantes de polipéptidos mutantes, incluyendo aquellos de la presente invención fusionados con un polipéptido de transducción de membrana, tal como, pero sin limitación, la porción polipeptídica de la proteína TAT del VIH. En el listado de secuencias incluido en la memoria descriptiva se proporcionan listados de secuencias completos para los polipéptidos de fusión mutantes.

Una secuencia de nucleótidos para TAT-condroitinasa ABC I-NΔ20 (**SEQ ID NO: 41**), una porción de la cual se ilustra a continuación, muestra los nucleótidos de la secuencia de TAT resaltados mediante subrayado unidos a los nucleótidos de condroitinasa.

1 ggtc gtaaaagcg tcgtcaacgt cgtcgtcctc ctcaatg cgc acaaaataac

61 ccattagcag acttctcatc agataaaaac tcaatactaa cgttatctga

40 taaacgtagc

Los nucleótidos subrayados en esta porción de la secuencia del ácido nucleico indican una secuencia de TAT unida al 5' del ácido nucleico de condroitinasa ABC I-NΔ20 (**SEQ ID NO: 47**).

Una secuencia de aminoácidos para TAT-condroitinasa ABC I-NΔ20 (**SEQ ID NO: 42**), una porción de la cual se muestra a continuación, ilustra los aminoácidos de la secuencia de TAT resaltados mediante subrayado en el extremo N-terminal de la condroitinasa ABC I-NΔ20 (**SEQ ID NO: 2**).

grkkrqrppqcaqnnpladfssdknsiltlsdkrsimgnqslilwkwkkgssfilhkkliivptdkeaskawgrsstpvsfwly
nekpidgeyltidfgeklstseaqagfkvklfdtgwrtvgvslndlenremtlnatntssdgtqdsigrslgakvdsirfkapsnvsq
geiy

Una secuencia de nucleótidos para TAT-ABCI-NΔ60 (**SEQ ID NO: 43**), una porción de la cual se ilustra a continuación, muestra los nucleótidos N-terminales de TAT (**SEQ ID NO: 49**) resaltados mediante subrayado.

ggtcgtaaaaaagcgtcgtcaacgtcgtcctcctcaatgctttactttacataaaaaactgattgtccccaccgataaagaagcatcta
aagcatgggggacgctcatccacccccgttttctcattttggctttacaatgaaaaaccgattgatggttatcttactatcgatttcgg.....

La secuencia de aminoácidos para TAT-ABCI-nΔ60 (**SEQ ID NO: 44**) una porción de la cual se ilustra a continuación, ilustra la secuencia de TAT (**SEQ ID NO: 50**) resaltada mediante subrayado en el extremo N-terminal de condroitinasa ABC I-Δ60 (**SEQ ID NO: 3**).

5 grkkrqrrppqcftlhkklivptdkeaskawgrsstpvfsfwlynekpdygtidfgelklistseaqagfkvldftgwrtvgvsl
nndlenremtlnatntssdgtqdsigrslgakvdsirfkapsnvsqgeiyidrimfsvddaryqwsdyqvktlrlsepeiqf....

La secuencia de nucleótidos para ABCI-TAT-C (**SEQ ID NO: 45**), una porción de la cual se ilustra a continuación, muestra los nucleótidos de la secuencia de TAT C-terminales resaltados mediante subrayado. El codón de parada de la condroitinasa ABC I (**SEQ ID NO: 28**) se reemplazó por la secuencia TAT y se colocó en el extremo 3' de la secuencia de TAT.

10 ...gattaatggcaaatggcaatctgctgataaaaatagtgaaatgaaatcaggtttctggtgataacactgaactgacgtttacgagtt
actt tggattccacaagaaatcaactctgccactccct ggtcgtaaaaaagcgtcgtcaacgtcgtcgtcctcctcaatgctag

La secuencia de aminoácidos para ABCI-TAT-C (**SEQ ID NO: 46**), una porción de la cual se muestra a continuación, ilustra la secuencia de TAT, resaltada mediante subrayado, unida al polipéptido de condroitinasa en el extremo C-terminal de la condroitinasa ABC I madura (**SEQ ID NO: 1**).

15 ... aekvnvsrqhqysaenknrqptegnfsawidhstrpkdaseyemvldatpekmgemaqkfrennglyqvlrkdvdvhiild
klsnvtgyafyqpasiedkwikvknpaivmthrqkdtlivsavgpdlmtrqkaatpvtinvtingkwqsadknsevkyqvsdnt
eltftsvfigpaeiklsplpgrkkrqrrppqc

15 Ejemplo 8

Este ejemplo ilustra la secuencia de ácido nucleico y de polipéptidos de condroitinasa que puede usarse para eliminaciones o sustituciones en los mutantes. En esta secuencia, las discrepancias respecto de las secuencias publicadas se resaltan con el texto en negrita tanto a nivel de nucleótidos como a nivel de aminoácidos. Estos son ejemplos de sustituciones.

20 SEQ ID NO: 26 Ácido nucleico de condroitinasa ABC II de la presente invención

```
>_ ABC II madura
>_ ABC II (presente invención)
matriz de puntuación: , penalizaciones por hueco: -12/-2
identidad del 99,0%; Puntuación de alineamiento global: 11684
```

2973 nt frente a
2974 nt

	10	20	30	40	50	60
806559	TTACCCACTCTGTCTCATGAAGCTTT	CGGCGATATTTATCTTTTT	TGAAGGTGAATTACCC			
—	TTACCCACTCTGTCTCATGAAGCTTT	CGGCGATATTTATCTTTTT	TGAAGGCGAATTACCC			
	10	20	30	40	50	60
	70	80	90	100	110	120
806559	AATACCTTACCACTTCAAATAATAATCAATTATCGCTAAGCAAACAGCATGCTAAAGAT					
—	AATATCCTTACCACTTCAAATAATAATCAATTATCGCTAAGCAAACAGCATGCTAAAGAT					
	70	80	90	100	110	120

ES 2 616 749 T3

```

      130      140      150      160      170      180
806559 GGTGAACAATCACTCAAATGGCAATATCAACCACAAGCAACATTAACACTAAATAATATT
      .....
      130      140      150      160      170      180
— GGTGAACAATCACTCAAATGGCAATATCAACCACAAGCAACATTAACACTAAATAATATT

      190      200      210      220      230      240
806559 GTTAATTACCAAGATGATAAAAATACAGCCACACCACTCACTTTTATGATGTGGATTTAT
      .....
      190      200      210      220      230      240
— GTTAATTACCAAGATGATAAAAATACAGCCACACCACTCACTTTTATGATGTGGATTTAT

      250      260      270      280      290      300
806559 AATGAAAAACCTCAATCTTCCCATTAACGTTAGCATTTAAACAAAATAATAAAATTGCA
      .....
      250      260      270      280      290      300
— AATGAAAAACCTCAATCTTCCCATTAACGTTAGCATTTAAACAAAATAATAAAATTGCA

      310      320      330      340      350      360
806559 CTAAGTTTAAATGCTGAACTTAATTTTACGGGGTGGCGAGGTATTGCTGTTCTTTTCGT
      .....
      310      320      330      340      350      360
— CTAAGTTTAAATGCTGAACTTAATTTTACGGGGTGGCGAGGTATTGCTGTTCTTTTCGT

      370      380      390      400      410      420
806559 GATATGCAAGGCTCTGTGACAGGTCAACTTGATCAATTAGTGATCACCGCTCCAAACCAA
      .....
      370      380      390      400      410      420
— GATATGCAAGGCTCTGTGACAGGTCAACTTGATCAATTAGTGATCACCGCTCCAAACCAA

      430      440      450      460      470      480
806559 GCCGGAACACTCTTTTTTGATCAAATCATCATGAGTGTACCGTTAGACAATCGTTGGGCA
      .....
      430      440      450      460      470      480
— GCCGGAACACTCTTTTTTGATCAAATCATCATGAGTGTACCGTTAGACAATCGTTGGGCA

      490      500      510      520      530      540
806559 GTACCTGACTATCAAACACCTTACGTAAATAACGCAGTAAACACGATGGTTAGTAAAAAC
      .....
      490      500      510      520      530      540
— GTACCTGACTATCAAACACCTTACGTAAATAACGCAGTAAACACGATGGTTAGTAAAAAC

      550      560      570      580      590      600
806559 TGGAGTGCATTATTGATGTACGATCAGATGTTTCAAGCCCATTACCCTACTTTAAACTTC
      .....
      550      560      570      580      590      600
— TGGAGTGCATTATTGATGTACGATCAGATGTTTCAAGCCCATTACCCTACTTTAAACTTC

      610      620      630      640      650      660
806559 GATACTGAATTTTCGCGATGACCAAACAGAAATGGCTTCGAGGTATCAGCGCTTTGAATAT
      .....
      610      620      630      640      650      660
— GATACTGAATTTTCGCGATGACCAAACAGAAATGGCTTCGATTTATCAGCGCTTTGAATAT

      670      680      690      700      710      720
806559 TATCAAGGAATTCGTAGTGATAAAAAAATTACTCCAGATATGCTAGATAAACATTTAGCA
      .....
      670      680      690      700      710      720
— TATCAAGGAATTCGTAGTGATAAAAAAATTACTCCAGATATGCTAGATAAACATTTAGCG

```

ES 2 616 749 T3

```

      730      740      750      760      770      780
806559 TTATGGGAAAAATTGGTGTTAACACAACACGCTGATGGTTCAATCACAGGAAAAGCCCTT
      .....
      730      740      750      760      770      780
— TTATGGGAAAAATTGGGGTTAACACAACACGCTGATGGCTCAATCACAGGAAAAGCCCTT

      790      800      810      820      830      840
806559 GATCACCCCTAACCGGCAACATTTTATGAAAGTCGAAGGTGTATTTAGTGAGGGGACTCAA
      .....
      790      800      810      820      830      840
— GATCACCCCTAACCGGCAACATTTTATGAAAGTCGAAGGTGTATTTAGTGAGGGGACTCAA

      850      860      870      880      890      900
806559 AAAGCATTACTTGATGCCAATATGCTAAGAGATGTGGGCAAAACGCTTCTTCAAACCTGCT
      .....
      850      860      870      880      890      900
— AAAGCATTACTTGATGCCAATATGCTAAGAGATGTGGGCAAAACGCTTCTTCAAACCTGCT

      910      920      930      940      950      960
806559 ATTTACTTGCGTAGCGATTCAATTATCAGCAACTGATAGAAAAAAATTAGAAGAGCGCTAT
      .....
      910      920      930      940      950      960
— ATTTACTTGCGTAGCGATTCAATTATCAGCAACTGGTAGAAAAAAATTAGAAGAGCGCTAT

      970      980      990      1000      1010      1020
806559 TTATTAGGTACTCGTTATGTCCTTGAACAAGGTTTTACACGAGGAAGTGGTTATCAAATT
      .....
      970      980      990      1000      1010      1020
— TTATTAGGTACTCGTTATGTCCTTGAACAAGGTTTTACACGAGGAAGTGGTTATCAAATT

      1030      1040      1050      1060      1070      1080
806559 ATTAGCCATGTTGGTTACCAAACCAGAGAACTTTTTGATGCATGGTTTATTGGTCGTCAT
      ....
      1030      1040      1050      1060      1070      1080
— ATTACTCATGTTGGTTACCAAACCAGAGAACTTTTTGATGCATGGTTTATTGGCCGTCAT

      1090      1100      1110      1120      1130      1140
806559 GTTCTTGCAAAAAATAACCTTTTAGCCCCCACTCAACAAGCTATGATGTGGTACAACGCC
      .....
      1090      1100      1110      1120      1130      1140
— GTTCTTGCAAAAAATAACCTTTTAGCCCCCACTCAACAAGCTATGATGTGGTACAACGCC

      1150      1160      1170      1180      1190      1200
806559 ACAGGACGTATTTTTGAAAAAATAATGAAATTGTTGATGCAAATGTCGATATTCTCAAT
      .....
      1150      1160      1170      1180      1190      1200
— ACAGGACGTATTTTTGAAAAAGATAATGAAATTGTTGATGCAAATGTCGATATTCTCAAT

      1210      1220      1230      1240      1250      1260
806559 ACTCAATTGCAATGGATGATAAAAAGCTTATTGATGCTACCGGATTATCAACAACGTCAA
      .....
      1210      1220      1230      1240      1250      1260
— ACTCAATTGCAATGGATGATAAAAAGCTTATTGATGCTACCGGATTATCAACAACGTCAA

      1270      1280      1290      1300      1310      1320
806559 CAAGCCTTAGCGCAACTGCAACGTTGGCTAAATAAAACCATTTCTAAGCTCAAAAGGTGTT
      .....
      1270      1280      1290      1300      1310      1320
— CAAGCCTTAGCGCAACTGCAAAGTTGGCTAAATAAAACCATTTCTAAGCTCAAAAGGTGTT

      1330      1340      1350      1360      1370      1380

```

ES 2 616 749 T3

806559	GCTGGCGGTTTCAAATCTGATGGTTCATTTTTCACCATTACAAACATTACCCCGCTTAT				
—	GCTGGCGGTTTCAAATCTGATGGTTCATTTTTCACCATTACAAACATTACCCCGCTTAT				
	1330	1340	1350	1360	1370
	1390	1400	1410	1420	1430
806559	GCTAAAGATGCATTGGTGGTTTAGCACCCAGTGTTTATGCATTAAAGTGATTACCTTTT				
—	GCTAAAGATGCATTGGTGGTTTAGCACCCAGTGTTTATGCATTAAAGTGATTACCTTTT				
	1390	1400	1410	1420	1430
	1450	1460	1470	1480	1490
806559	CGCTTATCTACTTCAGCACATGAGCGTTTAAAAAGATGTTTTGTTAAAAATGCGGATCTAC				
—	CGCTTATCTACTTCAGCACATGAGCATTTAAAAAGATGTTTTGTTAAAAATGCGGATCTAC				
	1450	1460	1470	1480	1490
	1510	1520	1530	1540	1550
806559	ACCAAAGAGACACAAATTCCTGCTGTATTAAAGTGGTCGTCATCCAACGGGTTGCATAAA				
—	ACCAAAGAGACACAAATTCCTGCTGTATTAAAGTGGTCGTCATCCAACGGGTTGCATAAA				
	1510	1520	1530	1540	1550
	1570	1580	1590	1600	1610
806559	ATAGGGATCGCGCCATTTAAATGGATGGCATTAGCAGGAACCCCAGATGGCAAACAAAAG				
—	ATAGGGATCGCGCCATTTAAATGGATGGCATTAGCAGGAACCCCAGATGGCAAACAAAAG				
	1570	1580	1590	1600	1610
	1630	1640	1650	1660	1670
806559	TTAGATACCACATTATCCGCCGCTTATGCAAAATTAGACAACAAAACGCATTTTGAAGGC				
—	TTAGATACCACATTATCCGCCGCTTATGCAAACTTAGACAACAAAACGCATTTTGAAGGC				
	1630	1640	1650	1660	1670
	1690	1700	1710	1720	1730
806559	ATTAAGCCTGAAAGTCAGCCAGTCGGCGCATGGGCAATGAATTATGCATCAATGGCAATA				
—	ATTAACGCTGAAAGTGAGCCAGTCGGCGCATGGGCAATGAATTATGCATCAATGGCAATA				
	1690	1700	1710	1720	1730
	1750	1760	1770	1780	1790
806559	CAACGAAGAGCATCGACCCAATCACCACAACAAAGCTGGCTCGCCATAGCGCGCGGTTTT				
—	CAACGAAGAGCATCGACCCAATCACCACAACAAAGCTGGCTCGCCATAGCGCGCGGTTTT				
	1750	1760	1770	1780	1790
	1810	1820	1830	1840	1850
806559	AGCCGTTATCTTGTTGGTAATGAAAGCTATGAAAATAACAACCGTTATGGTCGTTATTTA				
—	AGCCGTTATCTTGTTGGTAATGAAAGCTATGAAAATAACAACCGTTATGGTCGTTATTTA				
	1810	1820	1830	1840	1850
	1870	1880	1890	1900	1910
806559	CAATATGGACAATTGGAAATTATTCCAGCTGATTTAACTCAATCAGGGTTTAGCCATGCT				
—	CAATATGGACAATTGGAAATTATTCCAGCTGATTTAACTCAATCAGGGTTTAGCCATGCT				
	1870	1880	1890	1900	1910
	1930	1940	1950	1960	1970
806559	GGATGGGATTGGAATAGATATCCAGGTACAACAACCTATTCATCTTCCCTATAACGAAC				

ES 2 616 749 T3

[illegible]

ES 2 616 749 T3

```

—      AAAGCTCCCAAAATACACAGTATTACAACATAATGATCAGCTCCATGCGGTAAAAGATAAA
          2530      2540      2550      2560      2570      2580

          2590      2600      2610      2620      2630
806559 ATAACCCAAGAAGAGGGATATGCTTTTTTTGAAGCCACTAAGTTAAAATCAGCGGATGC
          :
          :
—      ATAACCCAAGAAGAGGGATATGGTTTTTTTGAAGCCACTAAGTTAAAATCAGCGGATGC
          2590      2600      2610      2620      2630      2640

          2640      2650      2660      2670      2680      2690
806559 AACATTATTATCCAGTGATGCGCCGGTTATGGTCATGGCTAAAATACAAAATCAGCAATT
          :
          :
—      AACATTATTATCCAGTGATGCGCCGGTTATGGTCATGGCTAAAATACAAAATCAGCAATT
          2650      2660      2670      2680      2690      2700

          2700      2710      2720      2730      2740      2750
806559 AACATTAAGTATTGTTAATCCTGATTTAAATTTATATCAAGGTAGAGAAAAAGATCAATT
          :
          :
—      AACATTAAGTATTGTTAATCCTGATTTAAATTTATATCAAGGTAGAGAAAAAGATCAATT
          2710      2720      2730      2740      2750      2760

          2760      2770      2780      2790      2800      2810
806559 TGATGATAAAGGTAATCAAATCGAAGTTAGTGTATTCTCGTCATTGGCTTACAGCAGA
          :
          :
—      TGATGATAAAGGTAATCAAATCGAAGTTAGTGTATTCTCGTCATTGGCTTACAGCAGA
          2770      2780      2790      2800      2810      2820

          2820      2830      2840      2850      2860      2870
806559 ATCGCAATCAACAAATAGTACTATTACCGTAAAAGGAATATGGAAATTAACGACACCTCA
          :
          :
—      ATCGCAATCAACAAATAGTACTATTACCGTAAAAGGAATATGGAAATTAACGACACCTCA
          2830      2840      2850      2860      2870      2880

          2880      2890      2900      2910      2920      2930
806559 ACCCGGTGTTATTATTATTAAGCACCACAATAACAACACTCTTATTACGACAACAACCATACA
          :
          :
—      ACCCGGTGTTATTATTATTAAGCACCACAATAACAACACTCTTATTACGACAACAACCATACA
          2890      2900      2910      2920      2930      2940

          2940      2950      2960      2970
806559 GGCAACACCTACTGTTATTAATTTAGTTAAGTAA
          :
          :
—      GGCAACACCTACTGTTATTAATTTAGTTAAGTAA
          2950      2960      2970

```

Las discrepancias anteriores, con el texto en negrita, a nivel de nucleótidos dieron como resultado una identidad del 98,3% a nivel de aminoácido y los restos sustituidos están marcados con texto en negrita a continuación.

SEQ ID NO: 27 Proteína condroitinasa ABC II de la presente invención

5 >_ ABC (presente invención) 990 aa frente a
 >_ ABC (madura) 990 aa
 Matriz de puntuación: , penalizaciones por hueco: -12/-2
 Identidad del 98,3%; Puntuación de alineamiento global: 6393

ES 2 616 749 T3

		10	20	30	40	50	60
457676	LPTLSHEAFGDIYLFEGELPNILTTSNNNQLSLSKQHAKDGEQSLKWQYQPQATLTLNNI						
—							
	LPTLSHEAFGDIYLFEGELPNILTTSNNNQLSLSKQHAKDGEQSLKWQYQPQATLTLNNI						
		10	20	30	40	50	60
		70	80	90	100	110	120
457676	VNYQDDKNTATPLTFMMWIYNEKPQSSPLTLAFKQNNKIALSFNAELNFTGWRGIAPVFR						
—							
	VNYQDDKNTATPLTFMMWIYNEKPQSSPLTLAFKQNNKIALSFNAELNFTGWRGIAPVFR						
		70	80	90	100	110	120
		130	140	150	160	170	180
457676	DMQGSATGQLDQLVITAPNQAGTLFFDQIIMSVPLDNRWAVPDYQTPYVNNAVNTMVSKN						
—							
	DMQGSVTGQLDQLVITAPNQAGTLFFDQIIMSVPLDNRWAVPDYQTPYVNNAVNTMVSKN						
		130	140	150	160	170	180
		190	200	210	220	230	240
457676	WSALLMYDQMFOAHYPTLNFDTEFRDDQTEMASRYQRFEYYQGIRSDKKITPDMLDKHLA						
—							
	WSALLMYDQMFOAHYPTLNFDTEFRDDQTEMASRYQRFEYYQGIRSDKKITPDMLDKHLA						
		190	200	210	220	230	240
		250	260	270	280	290	300
457676	LWEKLGTLQHADGSITGKALDHPNRQHFMKVEGVFSEGTQKALLDANMLRDVGKTLTQTA						
—							
	LWEKLVLTQHADGSITGKALDHPNRQHFMKVEGVFSEGTQKALLDANMLRDVGKTLTQTA						
		250	260	270	280	290	300
		310	320	330	340	350	360
457676	IYLRSDSLSATGRKKLEERYLLGTRYVLEQGFGTRGSYQIITHVGYQTRELFDWFIGRH						
—							
	IYLRSDSLSATDRKKLEERYLLGTRYVLEQGFGHRGSYQIISHVGYQTRELFDWFIGRH						
		310	320	330	340	350	360
		370	380	390	400	410	420
457676	VLAKNNLLAPTQQAMMWYNATGRIFEKDNEIVDANVDILNTQLQWMIKSLMLPDYQQRQ						
—							
	VLAKNNLLAPTQQAMMWYNATGRIFEKDNEIVDANVDILNTQLQWMIKSLMLPDYQQRQ						
		370	380	390	400	410	420
		430	440	450	460	470	480
457676	QALAQQLQSWLNKTLSSKGVAGGFKSDGSIFHHSQHYPAYAKDAFGGLAPSVYALSDSPF						
—							
	QALAQQLQSWLNKTLSSKGVAGGFKSDGSIFHHSQHYPAYAKDAFGGLAPSVYALSDSPF						
		430	440	450	460	470	480
		490	500	510	520	530	540
457676	RLSTSAHEHLKDVLKLMRIYTKETQIPVVLGRHPTGLHKIGIAPFKWMALAGTPDGKQK						
—							
	RLSTSAHERLKDVLKLMRIYTKETQIPAVLGRHPTGLHKIGIAPFKWMALAGTPDGKQK						
		490	500	510	520	530	540
		550	560	570	580	590	600
457676	LDTTLSAAYANLDNKTHFEGINAESEPVGAWAMNYASMAIQRRASTQSPQQSWLAIARGF						
—							
	LDTTLSAAYAKLDNKTHFEGIKAESEPVGAWAMNYASMAIQRRASTQSPQQSWLAIARGF						
		550	560	570	580	590	600
		610	620	630	640	650	660

```

457676 SRYLVGNESYENNNRYGRYLQYGQLEIIPADLTQSGFSHAGWDWNRYPGTTTTIHLPYNEL
      .....
      SRYLVGNESYENNNRYGRYLQYGQLEIIPADLTQSGFSHAGWDWNRYPGTTTTIHLPYNEL
      610      620      630      640      650      660

      670      680      690      700      710      720
457676 EAKLNQLPAAGIEEMLLSTESYSGANTLNNNSMFAMKLHGHSKYQQQSLRANKSYFLFDN
      .....
      EAKLNQLPAAGIEEMLLSTESYSGANTLNNNSMFAMKLHGHSKYQQQSLRANKSYFLFDN
      670      680      690      700      710      720

      730      740      750      760      770      780
457676 RVIALGSGIENDDKQHTTETTLFQFAVPKLQSVIINGKKVNQLDTQLTLNNADTLIDPAG
      .....
      RVIALGSGIENDDKQHTTETTLFQFAVPKLQSVIINGKKVNQLDTQLTLNNADTLIDPAG
      730      740      750      760      770      780

      790      800      810      820      830      840
457676 NLYKLTKGQTVKFSYQKQHSLLDRNSKPTEQLFATAVISHGKAPSNENYEYAIIEAQNN
      .....
      NLYKLTKGQTVKFSYQKQHSLLDRNSKPTEQLFATAVISHGKAPSNENYEYAIIEAQNN
      790      800      810      820      830      840

      850      860      870      880      890      900
457676 KAPKYTVLQHNDQLHAVKDKITQEEGYGFFEATKLKSADATLLSSDAPVMVMAKIQNQQL
      .....
      KAPEYTVLQHNDQPHAVKDKITQEEGYAFFEATKLKSADATLLSSDAPVMVMAKIQNQQL
      850      860      870      880      890      900

      910      920      930      940      950      960
457676 TLSIVNPDNLNLYQGREKDQFDDKGNQIEVSVYSRHWLTAESQSTNSTITVKGWKLTPQ
      .....
      TLSIVNPDNLNLYQGREKDQFDDKGNQIEVSVYSRHWLTAESQSTNSTITVKGWKLTPQ
      910      920      930      940      950      960

      970      980      990
457676 PGVVIKHHNNNTLITTTTIQATPTVINLVK
      .....
      PGVVIKHHNNNTLITTTTIQATPTVINLVK
      970      980      990

```

SEQ ID NO: 28 Ácido nucleico de condroitinasa ABC I de la presente invención

5 >_ ABCI (presente invención) 2994 nt frente a
 >_ ABCI (madura) 2994 nt
 Matriz de puntuación: , penalizaciones por hueco: -12/-2
 Identidad del 98,7%; Puntuación de alineamiento global: 11909

```

      10      20      30      40      50      60
806559 GCCACCAGCAATCCTGCATTTGATCCTAAAAATCTGATGCAGTCAGAAATTTACCATTTT
      .....
      GCCACCAGCAATCCTGCATTTGATCCTAAAAATCTGATGCAGTCAGAAATTTACCATTTT
      10      20      30      40      50      60

      70      80      90      100      110      120
806559 GCACAAAATAACCCATTAGCAGACTTCTCATCAGATAAAAACTCAATACTAACGTTATCT
      .....
      GCACAAAATAACCCATTAGCAGACTTCTCATCAGATAAAAACTCAATACTAACGTTATCT
      70      80      90      100      110      120

```

ES 2 616 749 T3

```

      130      140      150      160      170      180
806559 GATAAACGTAGCATTATGGGAAACCAATCTCTTTTATGGAAATGGAAAGGTGGTAGTAGC
      .....
      130      140      150      160      170      180
—      GATAAACGTAGCATTATGGGAAACCAATCTCTTTTATGGAAATGGAAAGGTGGTAGTAGC

      190      200      210      220      230      240
806559 TTTACTTTACATAAAAAAAGTATTGTCCCCACCGATAAAGAAGCATCTAAAGCATGGGGA
      .....
      190      200      210      220      230      240
—      TTTACTTTACATAAAAAAAGTATTGTCCCCACCGATAAAGAAGCATCTAAAGCATGGGGA

      250      260      270      280      290      300
806559 CGCTCATCCACCCCGTTTTCTCATTTTGGCTTTACAATGAAAAACCGATTGATGGTTAT
      .....
      250      260      270      280      290      300
—      CGCTCATCTACCCCGTTTTCTCATTTTGGCTTTACAATGAAAAACCGATTGATGGTTAT

      310      320      330      340      350      360
806559 CTTACTATCGATTTCGGAGAAAAAAGTCAATTTCAACCGAGGCTCAGGCAGGCTTTAAA
      .....
      310      320      330      340      350      360
—      CTTACTATCGATTTCGGAGAAAAAAGTCAATTTCAACCGAGGCTCAGGCAGGCTTTAAA

      370      380      390      400      410      420
806559 GTAAAATTAGATTTCACTGGCTGGCGTACTGTGGGAGTCTCTTTAAATAACGATCTTGAA
      .....
      370      380      390      400      410      420
—      GTAAAATTAGATTTCACTGGCTGGCGTACTGTGGGAGTCTCTTTAAATAACGATCTTGAA

      430      440      450      460      470      480
806559 AATCGAGAGATGACCTTAAATGCAACCAATACCTCCTCTGATGGTACTCAAGACAGCATT
      .....
      430      440      450      460      470      480
—      AATCGAGAGATGACCTTAAATGCAACCAATACCTCCTCTGATGGTACTCAAGACAGCATT

      490      500      510      520      530      540
806559 GGGCGTTCTTTAGGTGCTAAAGTCGATAGTATTTCGTTTTAAAGCGCCTTCTAATGTGAGT
      .....
      490      500      510      520      530      540
—      GGGCGTTCTTTAGGTGCTAAAGTCGATAGTATTTCGTTTTAAAGCGCCTTCTAATGTGAGT

      550      560      570      580      590      600
806559 CAGGGTGAAATCTATATCGACCGTATTATGTTTTCTGTGATGATGCTCGCTACCAATGG
      .....
      550      560      570      580      590      600
—      CAGGGTGAAATCTATATCGACCGTATTATGTTTTCTGTGATGATGCTCGCTACCAATGG

      610      620      630      640      650      660
806559 TCTGATTATCAAGTAAAAAAGTTCGCTTATCAGAACCTGAAATTCAATTTTCAACGTAAG
      .....
      610      620      630      640      650      660
—      TCTGATTATCAAGTAAAAAAGTTCGCTTATCAGAACCTGAAATTCAATTTTCAACGTAAG

      670      680      690      700      710      720
806559 CCACAACCTACCTGTAACACCTGAAAATTTAGCGGCCATTGATCTTATTGCGCAACGTCTA
      .....
      670      680      690      700      710      720
—      CCACAACCTACCTGTAACACCTGAAAATTTAGCGGCCATTGATCTTATTGCGCAACGTCTA

```

ES 2 616 749 T3

```

      730      740      750      760      770      780
806559 ATTAATGAATTTGTCGGAGGTGAAAAAGAGACAAACCTCGCATTAGAAGAGAATATCAGC
      .....
      730      740      750      760      770      780
—      ATTAATGAATTTGTCGGAGGTGAAAAAGAGACAAACCTCGCATTAGAAGAGAATATCAGC
      730      740      750      760      770      780

      790      800      810      820      830      840
806559 AAATTA AAAAGTGATTTCGATGCTCTTAATACTCACACTTTAGCAAATGGTGGAACGCAA
      .....
      790      800      810      820      830      840
—      AAATTA AAAAGTGATTTCGATGCTCTTAATACTCACACTTTAGCAAATGGTGGAACGCAA
      790      800      810      820      830      840

      850      860      870      880      890      900
806559 GGCAGACATCTGATCACTGATAAACAAATCATTATTTATCAACCAGAGAATCTTAACCTCT
      .....
      850      860      870      880      890      900
—      GGCAGACATCTGATCACTGATAAACAAATCATTATTTATCAACCAGAGAATCTTAACCTCC
      850      860      870      880      890      900

      910      920      930      940      950      960
806559 CAAGATAAACAACTATTTGATAATTATGTTATTTTAGGTAATTACACGACATTAATGTTT
      .....
      910      920      930      940      950      960
—      CAAGATAAACAACTATTTGATAATTATGTTATTTTAGGTAATTACACGACATTAATGTTT
      910      920      930      940      950      960

      970      980      990      1000      1010      1020
806559 AATATTAGCCGTGCTTATGTGCTGGAAAAAGATCCACACAAAAGGCGCAACTAAAGCAG
      .....
      970      980      990      1000      1010      1020
—      AATATTAGCCGTGCTTATGTGCTGGAAAAAGATCCACACAAAAGGCGCAACTAAAGCAG
      970      980      990      1000      1010      1020

      1030      1040      1050      1060      1070      1080
806559 ATGTACTTATTAATGACAAAGCATTATTTAGATCAAGGCTTTGTTAAAGGGAGTGCTTTTA
      .....
      1030      1040      1050      1060      1070      1080
—      ATGTACTTATTAATGACAAAGCATTATTTAGATCAAGGCTTTGTTAAAGGGAGTGCTTTTA
      1030      1040      1050      1060      1070      1080

      1090      1100      1110      1120      1130      1140
806559 GTGACAACCCATCACTGGGGATACAGTTCTCGTTGGTGGTATATTTCCACGTTATTAATG
      .....
      1090      1100      1110      1120      1130      1140
—      GTGACAACCCATCACTGGGGATACAGTTCTCGTTGGTGGTATATTTCCACGTTATTAATG
      1090      1100      1110      1120      1130      1140

      1150      1160      1170      1180      1190      1200
806559 TCTGATGCACTAAAAGAAGCGAACCTACAACTCAAGTTTATGATTCACTACTGTGGTAT
      .....
      1150      1160      1170      1180      1190      1200
—      TCTGATGCACTAAAAGAAGCGAACCTACAACTCAAGTTTATGATTCACTACTGTGGTAT
      1150      1160      1170      1180      1190      1200

      1210      1220      1230      1240      1250      1260
806559 TCACGTGAGTTTAAAAGTAGTTTTGATATGAAAGTAAGTGCTGATAGCTCTGATCTAGAT
      .....
      1210      1220      1230      1240      1250      1260
—      TCACGTGAGTTTAAAAGTAGTTTTGATATGAAAGTAAGTGCTGATAGCTCTGATCTAGAT
      1210      1220      1230      1240      1250      1260

      1270      1280      1290      1300      1310      1320
806559 TATTTCAATACCTTATCTCGCCAACATTTAGCCTTATTACTACTAGAGCCTGATGATCAA
      .....
      1270      1280      1290      1300      1310      1320
—      TATTTCAATACCTTATCTCGCCAACATTTAGCCTTATTATTACTAGAGCCTGATGATCAA
      1270      1280      1290      1300      1310      1320

      1330      1340      1350      1360      1370      1380

```

ES 2 616 749 T3

```

806559 AAGCGTATCAACTTAGTTAATACTTTTCAGCCATTATATCACTGGCGCATTAAACGCAAGTG
      .....
      AAGCGTATCAACTTAGTTAATACTTTTCAGCCATTATATCACTGGCGCATTAAACGCAAGTG
      1330      1340      1350      1360      1370      1380

      1390      1400      1410      1420      1430      1440
806559 CCACCGGGTGGTAAAGATGGTTTACGCCCTGATGGTACAGCATGGCGACATGAAGGCAAC
      .....
      CCACCGGGTGGTAAAGATGGTTTACGCCCTGATGGTACAGCATGGCGACATGAAGGCAAC
      1390      1400      1410      1420      1430      1440

      1450      1460      1470      1480      1490      1500
806559 TATCCGGGCTACTCTTTCCAGCCTTTAAAAATGCCTCTCAGCTTATTTATTATTACGC
      .....
      TATCCGGGCTACTCTTTCCAGCCTTTAAAAATGCCTCTCAGCTTATTTATTATTACGC
      1450      1460      1470      1480      1490      1500

      1510      1520      1530      1540      1550      1560
806559 GATACACCATTTTCAGTGGGTGAAAGTGGTTGGAATAGCCTGAAAAAGCGATGGTTTCA
      .....
      GATACACCATTTTCAGTGGGTGAAAGTGGTTGGAATAACCTGAAAAAGCGATGGTTTCA
      1510      1520      1530      1540      1550      1560

      1570      1580      1590      1600      1610      1620
806559 GCGTGGATCTACAGTAATCCAGAAGTTGGATTACCGCTTGCAGGAAGACACCCTCTTAAC
      .....
      GCGTGGATCTACAGTAATCCAGAAGTTGGATTACCGCTTGCAGGAAGACACCCTTTTAAC
      1570      1580      1590      1600      1610      1620

      1630      1640      1650      1660      1670      1680
806559 TCACCTTCGTTAAATCAGTCGCTCAAGGCTATTACTGGCTTGCCATGTCTGCAAAATCA
      .....
      TCACCTTCGTTAAATCAGTCGCTCAAGGCTATTACTGGCTTGCCATGTCTGCAAAATCA
      1630      1640      1650      1660      1670      1680

      1690      1700      1710      1720      1730      1740
806559 TCGCCTGATAAAACACTTGCATCTATTTATCTTGCGATTAGTGATAAAACACAAAATGAA
      .....
      TCGCCTGATAAAACACTTGCATCTATTTATCTTGCGATTAGTGATAAAACACAAAATGAA
      1690      1700      1710      1720      1730      1740

      1750      1760      1770      1780      1790      1800
806559 TCAACTGCTATTTTTGGAGAACTATTACACCAGCGTCTTTACCTCAAGGTTTCTATGCC
      .....
      TCAACTGCTATTTTTGGAGAACTATTACACCAGCGTCTTTACCTCAAGGTTTCTATGCC
      1750      1760      1770      1780      1790      1800

      1810      1820      1830      1840      1850      1860
806559 TTTAATGGCGGTGCTTTTGGTATTTCATCGTTGGCAAGATAAAATGGTGACACTGAAAGCT
      .....
      TTTAATGGCGGTGCTTTTGGTATTTCATCGTTGGCAAGATAAAATGGTGACACTGAAAGCT
      1810      1820      1830      1840      1850      1860

      1870      1880      1890      1900      1910      1920
806559 TATAACACCAATGTTTGGTCATCTGAAATTTATAACAAAGATAACCGTTATGGCCGTTAC
      .....
      TATAACACCAATGTTTGGTCATCTGAAATTTATAACAAAGATAACCGTTATGGCCGTTAC
      1870      1880      1890      1900      1910      1920

      1930      1940      1950      1960      1970      1980
806559 CAAAGTCATGGTGTGCTCAAATAGTGAGTAATGGCTCGCAGCTTTCACAGGGCTATCAG

```

ES 2 616 749 T3

[illegible]

ES 2 616 749 T3

—	AGCACTCGCCCCAAAGATGCCAGTTATGAGTATATGGTCTTTTTAGATGCGACACCTGAA					
	2530	2540	2550	2560	2570	2580
	2590	2600	2610	2620	2630	2640
806559	AAAATGGGAGAGATGGCACAAAAATTCCGTGAAAAATAATGGGTTATATCAGGTTCTTCGT					
						
—	AAAATGGGAGAGATGGCACAAAAATTCCGTGAAAAATAATGGGTTATATCAGGTTCTTCGT					
	2590	2600	2610	2620	2630	2640
	2650	2660	2670	2680	2690	2700
806559	AAGGATAAAGACGTTTCATATTATTCTCGATAAACTCAGCAATGTAACGGGATATGCCTTT					
						
—	AAGGATAAAGACGTTTCATATTATTCTCGATAAACTCAGCAATGTAACGGGATATGCCTTT					
	2650	2660	2670	2680	2690	2700
	2710	2720	2730	2740	2750	2760
806559	TATCAGCCAGCATCAATTGAAGACAAATGGATCAAAAAGGTTAATAAACCTGCAATTGTG					
						
—	TATCAGCCAGCATCAATTGAAGACAAATGGATCAAAAAGGTTAATAAACCTGCAATTGTG					
	2710	2720	2730	2740	2750	2760
	2770	2780	2790	2800	2810	2820
806559	ATGACTCATCGACAAAAAGACACTCTTATTGTCAAGTGCAGTTACACCTGATTTAAATATG					
						
—	ATGACTCATCGACAAAAAGACACTCTTATTGTCAAGTGCAGTTACACCTGATTTAAATATG					
	2770	2780	2790	2800	2810	2820
	2830	2840	2850	2860	2870	2880
806559	ACTCGCCAAAAAGCAGCAACTCCTGTCAACCATCAATGTACAGATTAATGGCAATGGCAA					
						
—	ACTCGCCAAAAAGCAGCAACTCCTGTCAACCATCAATGTACAGATTAATGGCAATGGCAA					
	2830	2840	2850	2860	2870	2880
	2890	2900	2910	2920	2930	2940
806559	TCTGCTGATAAAAAATAGTGAAGTGAATATCAGGTTTCTGGTGATAAACTGAACTGACG					
						
—	TCTGCTGATAAAAAATAGTGAAGTGAATATCAGGTTTCTGGTGATAAACTGAACTGACG					
	2890	2900	2910	2920	2930	2940
	2950	2960	2970	2980	2990	
806559	TTTACGAGTTACTTTGGTATTCCACAAGAAATCAAACCTCTCGCCACTCCCTTGA					
						
—	TTTACGAGTTACTTTGGTATTCCACAAGAAATCAAACCTCTCGCCACTCCCTTGA					
	2950	2960	2970	2980	2990	

La identidad de secuencia a nivel de aminoácido se muestra a continuación:

SEQ ID NO: 29 Proteína condroitinasa ABC I de la presente invención

>_ ABCI presente invención 997 aa frente a
>_ ABCI madura 997 aa
matriz de puntuación: , penalizaciones por hueco: -12/-2

5 Identidad del 99,5%; Puntuación de alineamiento global: 6595

ES 2 616 749 T3

10 20 30 40 50 60
365019 ATSNPAFDPKNLMQSEIYHFAQNNPLADFSSDKNSILTLSDKRSIMGNQSLLWKWKGGSS

.....
_ ATSNPAFDPKNLMQSEIYHFAQNNPLADFSSDKNSILTLSDKRSIMGNQSLLWKWKGGSS
10 20 30 40 50 60

70 80 90 100 110 120
365019 FTLHKKLIVPTDKEASKAWGRSSTPVFSFWLYNEKPIDGYLTIDFGEKLISTSEAQAGFK

.....
_ FTLHKKLIVPTDKEASKAWGRSSTPVFSFWLYNEKPIDGYLTIDFGEKLISTSEAQAGFK
70 80 90 100 110 120

130 140 150 160 170 180
365019 VKLDFTGWRTVGVSLNNDLENREMTLNATNTSSDGTQDSIGRSLGAKVDSIRFKAPSNVS

.....
_ VKLDFTGWRAVGVSLNNDLENREMTLNATNTSSDGTQDSIGRSLGAKVDSIRFKAPSNVS
130 140 150 160 170 180

190 200 210 220 230 240
365019 QGEIYIDRIMFSVDDARYQWSDYQVKTRLSEPEIQFHNVPQLPVT PENLAAIDLIRQL

.....
_ QGEIYIDRIMFSVDDARYQWSDYQVKTRLSEPEIQFHNVPQLPVT PENLAAIDLIRQL
190 200 210 220 230 240

250 260 270 280 290 300
365019 INEFVGGEKETNLALEENISKLSDFDALNTHTLANGGTQGRHLITDKQIIYQPENLNS

.....
_ INEFVGGEKETNLALEENISKLSDFDALNIHTLANGGTQGRHLITDKQIIYQPENLNS
250 260 270 280 290 300

310 320 330 340 350 360
365019 QDKQLFDNYVILGNYTTLMFNISRAYVLEKDPTQKAQLKQMYLLMTKHLLDQGFVKGSAL

.....
_ QDKQLFDNYVILGNYTTLMFNISRAYVLEKDPTQKAQLKQMYLLMTKHLLDQGFVKGSAL
310 320 330 340 350 360

370 380 390 400 410 420
365019 VTTHHWGYSSRWWYISTLLMSDALKEANLQTQVYDSLLWYSREFKSSFDMKVSADSSDL

.....
_ VTTHHWGYSSRWWYISTLLMSDALKEANLQTQVYDSLLWYSREFKSSFDMKVSADSSDL

ES 2 616 749 T3

```

370   380   390   400   410   420

365019 YFNTLSRQHLALLLLEPDDQKRINLVNTFSHYITGALTQVPPGGKDGLRPDGTAWRHEGN
.....:
_  YFNTLSRQHLALLLLEPDDQKRINLVNTFSHYITGALTQVPPGGKDGLRPDGTAWRHEGN
    430   440   450   460   470   480

490   500   510   520   530   540
365019 YPGYSFPAFKNASQLIYLLRDTPFVSGESGWNSLKKAMVSAWIYSNPEVGLPLAGRHPFN
.....:
_  YPGYSFPAFKNASQLIYLLRDTPFVSGESGWNSLKKAMVSAWIYSNPEVGLPLAGRHPFN
    490   500   510   520   530   540

550   560   570   580   590   600
365019 SPSLKSV AQGYW LAMSAKSSPDKTLASIYLAISDKTQNESTAIFGETITPASLPQGFYA
.....:
_  SPSLKSV AQGYW LAMSAKSSPDKTLASIYLAISDKTQNESTAIFGETITPASLPQGFYA
    550   560   570   580   590   600

610   620   630   640   650   660
365019 FNGGAFGIHRWQDKMVT LKAYNTNVWSSEIYNKDNRYGRYQSHGVAQIVSNGSQLSQGYQ
.....:
_  FNGGAFGIHRWQDKMVT LKAYNTNVWSSEIYNKDNRYGRYQSHGVAQIVSNGSQLSQGYQ
    610   620   630   640   650   660

670   680   690   700   710   720
365019 QEGWDWNRMPGATTIHLPLKDLDSPKPHTLMQRGERGFSGTSSLEGQYGMMAFD LIYPAN
.....:
_  QEGWDWNRMPGATTIHLPLKDLDSPKPHTLMQRGERGFSGTSSLEGQYGMMAFD LIYPAN
    670   680   690   700   710   720

730   740   750   760   770   780
365019 LERFDPNFTA KSVLAADNHLIFIGSNINSSDKNKNVETTLFQHAIPTLNTLWINGQKI
.....:
_  LERFDPNFTA KSVLAADNHLIFIGSNINSSDKNKNVETTLFQHAIPTLNTLWINGQKI
    730   740   750   760   770   780

790   800   810   820   830   840
365019 ENMPYQTTLQQGDWLIDSNNGYLITQAEKVNVS RQHQVSAENKNRQPTEGNFSSAWIDH

```

```

.....
_ ENMPYQTTLQQGDWLIDSNNGNGYLITQAEKVNVSQRHQVSAENKNRQPTEGNFSSAWIDH
    790    800    810    820    830    840

    850    860    870    880    890    900
365019 STRPKDASYEYMVFLDATPEKMGEMAQKFRENNGLYQVLRKDKDVHIILDKLSNVTGYAF
.....
_ STRPKDASYEYMVFLDATPEKMGEMAQKFRENNGLYQVLRKDKDVHIILDKLSNVTGYAF
    850    860    870    880    890    900

    910    920    930    940    950    960
365019 YQPASIEDKWKIKVNKPAIVMTHRQKDTLIVSAVTPDLNMTRQKAATPVTINVTINGKWQ
.....
_ YQPASIEDKWKIKVNKPAIVMTHRQKDTLIVSAVTPDLNMTRQKAATPVTINVTINGKWQ
    910    920    930    940    950    960

    970    980    990
365019 SADKNSEVKYQVSGDNTELTFTSYFGIPQEIKLSPLP
.....
_ SADKNSEVKYQVSGDNTELTFTSYFGIPQEIKLSPLP
    970    980    990

```

REFERENCIAS

1. Fethiere J, Eggimann B, Cygler M (1999) Crystal structure of chondroitin AC lyase, a representative of a family of glycosaminoglycan degrading enzymes. *J Mol Biol.* 288:635-47.
- 5 2. Pojasek K, Shriver Z, Kiley, P Venkataraman G y Sasisekharan R. (2001) *Biochem Biophys Res Commun.* 286:343-51.
3. Huang W, Matte A, Li Y, Kim YS, Linhardt RJ, Su H, Cygler M. (1999) Crystal structure of chondroitinase B from *Flavobacterium heparinum* and its complex with a disaccharide product at 1.7 Å resolution. *J Mol Biol.* 294:1257-69.
4. Miura RO, Yamagata S, Miura Y, Harada T y Yamagata T. (1995) *Anal Biochem.* 225:333-40.
- 10 5. Yamagata T, Saito H, Habuchi O y Suzuki S. (1968) *J Biol Chem.* 243:1536-42.

LISTADO DE SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 Proteína condroitinasa ABC I

ORIGEN

atsnpa fdpknlmqse iyhfaqnpl adfssdknsi
 61 ltlsdkrsim gnqslwkwk ggssftlhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp
 121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkldft gwrTvgvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqlf
 241 hnvkqqlpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklkdsf dalnThtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqtka
 361 qlkqmyllmt khlldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvysd
 421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlalalle pddqkrinlv ntfshtyitga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnspslks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseiynkdnr
 661 ygryqshgva qivsngsqsls qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
 721 gfgtssleg qygmmafni ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vettlfqhai tptlntlwin gqkienmpyq ttlqqgdwli dsngngylit qaeqvnsrq
 841 hqvsaenknr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmngema qkfrenngly
 901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvkn paivmthrqr dtlivsavgp
 961 dlnmtrqkaa tptvintin gkwqsadkns evkyqvsgdn telftsytfg ipqeiklspl
 1021 p

5

SEQ ID NO: 2 Proteína NA20 ABCI (A₄₅-N₁₀₂₃)

aqnnpl adfssdknsi
 61 ltlsdkrsim gnqslwkwk ggssftlhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp
 121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkldft gwrTvgvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqlf
 241 hnvkqqlpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklkdsf dalnhtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqtka
 361 qlkqmyllmt khlldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvysd
 421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlalalle pddqkrinlv ntfshtyitga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnspslks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseiynkdnr
 661 ygryqshgva qivsngsqsls qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
 721 gfgtssleg qygmmafni ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vettlfqhai tptlntlwin gqkienmpyq ttlqqgdwli dsngngylit qaeqvnsrq
 841 hqvsaenknr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmngema qkfrenngly
 901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvkn paivmthrqr dtlivsavgp
 961 dlnmtrqkaa tptvintin gkwqsadkns evkyqvsgdn telftsytfg ipqeiklspl
 1021 p

SEQ ID NO: 3 Proteína NA60 ABCI (F₈₅-N₁₀₂₃)

ftlhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp
 121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkdft gwrvtgvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqlf
 241 hnvkplpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklksdf dalnthtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqka
 361 qlkqmyllmt khlldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvyds
 421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlhlalle pddqkrinlv ntfshytga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnspslks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseiynkdnr
 661 ygryqshgva qivsngsqs qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
 721 gfsgtssleg qygmmafnli ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vetltfchai tptlntlwin gqkienmpyq tlqqgdwli dsngngylit qaekvnvsrq
 841 hqvsakenr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmgema qkfrenngly
 901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvnk paivmthrqk dtlivsavtp
 961 dlnmtrqkaa tpvtinvtn gkwqsadkns evkyqvsgdn telftsytfg ipqeiklspl
 1021 p

SEQ ID NO: 4: proteína NA60 CΔ80 ABCI (F₈₅-A₉₄₂)

ftlhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp
 121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkdft gwrvtgvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqlf
 241 hnvkplpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklksdf dalnthtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqka
 361 qlkqmyllmt khlldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvyds
 421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlhlalle pddqkrinlv ntfshytga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnspslks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseiynkdnr
 661 ygryqshgva qivsngsqs qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
 721 gfsgtssleg qygmmafnli ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vetltfchai tptlntlwin gqkienmpyq tlqqgdwli dsngngylit qaekvnvsrq
 841 hqvsakenr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmgema qkfrenngly
 901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvnk pa

SEQ ID NO: 5 Locus 1HMW_A de la proteína condroitinasa AC

5

ORIGEN

1 mklfvtciv ffsilspall iaqqtgtael imkrvmlldk kplrnmdkva eknltlqpd
 61 gswkdvpkyd damtnwlpnn hllqletiq ayiekdshyy gddkvfdqis kafkywydsd
 121 pksrnwwhne iatpqalgem lilmrygkpp idealvhklt ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgplq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdlilnka
 301 ekkrlivakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvskrtrrs esgnkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltklwgeq gsndfaggvs dgvygasaya ldydslqakk awfffdkeiv clgaginsna
 481 penittltnq swlmgpvist agktgrgkit tfkaqqqfwl lhdaigyyfp eganlslstq

541 sqkgnwfhin nshskdevsg dvfklwinhg arpenaqyay ivlpginkpe eikkyngtap
 601 kvlantnqlq avyhqqldmv qaifytagkl svagieietd kpcavlikhi ngkqviwaad
 661 plqkektavl sirdlktgkt nrvidfpqq efagatvelk

SEQ ID NO: 6 Proteina CΔ200 AC (Q₂₃-T₅₀₀)

qqtgtael imkrvmldlk kplrnmdkva eknlnlqpd
 61 gswkdvpkyd damtnwlpnn hllqletiiq ayiekdshyy gddkvfdqis kafkywydsd
 121 pksrnwwhne iatpqualgem lilmrygkqp idealvhklt ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgpqlq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdilnkka
 301 ekkrlivakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvsktrrrs esgnkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltklwgeq gsndfaggvs dgvygasaya ldydslqakk awfffdkeiv clgaginsna
 481 penittlnq swlmgpvist

SEQ ID NO: 7 Proteína CΔ220 AC (Q₂₃-A₄₈₀)

qqtgtael imkrvmldlk kplrnmdkva eknlnlqpd
 61 gswkdvpkyd damtnwlpnn hllqletiiq ayiekdshyy gddkvfdqis kafkywydsd
 121 pksrnwwhne iatpqualgem lilmrygkqp idealvhklt ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgpqlq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdilnkka
 301 ekkrlivakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvsktrrrs esgnkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltklwgeq gsndfaggvs dgvygasaya ldydslqakk awfffdkeiv clgaginsna

SEQ ID NO: 8 Proteina NΔ20 CΔ200 AC (L₄₃-T₅₀₀)

lrnmdkva eknlnlqpd
 61 gswkdvpkyd damtnwlpnn hllqletiiq ayiekdshyy gddkvfdqis kafkywydsd
 121 pksrnwwhne iatpqualgem lilmrygkqp idealvhklt ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgpqlq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdilnkka
 301 ekkrlivakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvsktrrrs esgnkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltklwgeq gsndfaggvs dgvygasaya ldydslqakk awfffdkeiv clgaginsna
 481 penittlnq swlmgpvist

SEQ ID NO: 9 Proteina NΔ50 CΔ200 AC (T₇₄-T₅₀₀)

tnwlpnn hllqletiiq ayiekdshyy gddkvfdqis kafkywydsd
 121 pksrnwwhne iatpqualgem lilmrygkqp idealvhklt ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgpqlq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdilnkka
 301 ekkrlivakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvsktrrrs esgnkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltklwgeq gsndfaggvs dgvygasaya ldydslqakk awfffdkeiv clgaginsna
 481 penittlnq swlmgpvist

SEQ ID NO: 10 Proteína NΔ100 CΔ200 AC (S₁₂₃-T₅₀₀)

srnwwhne iatpqaigem lilmrygkpk ldeavhkl ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgplq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdilnkka
 301 ekkrlvakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvsktrrs esgkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltklwgeq gsndfaggvs dgvygasaya ldydslqakk awfffdkeiv clgaginsna
 481 penittllnq swlmgpvist

SEQ ID NO: 11 Proteína NA50 CA275 AC (T₇₄-L₄₂₆)

tnwlpnn hllqletiiq ayiekdshyy gddkvfdqis kafkywydsd
 121 pksrnwwhne iatpqaigem lilmrygkpk ldeavhkl ermkrgepek ktganktdia
 181 lhyfyrallt sdeallsfav kelfypvqfv hyeeglqydy sylqhgplq issygavfit
 241 gvlklanyvr dtpyalstek laifskyyrd sylkairgsy mdfnvegrgv srpdilnkka
 301 ekkrlvakm idlkhteewa daiartdstv aagykiepyh hqfwngdyvq hlrpaysfnv
 361 rmvsktrrs esgkenllg rylsdgatni qlrgpeyyini mpvwewdkip gitsrdyltd
 421 rpltkl

SEQ ID NO: 12 Locus Q46079 de la proteína condroitinasa B

5

ORIGEN

1 mkmlnklagy llpimvllnv apclgqvvas netlyqvve vkpgglvqia dgtykdvqli
 61 vsnsgkslpl itikalnpgk vfftdakve lrgelileg iwfkdggnrai qawkshgpgl
 121 vaiygsynri tacvfdcfde ansayittsl tedgkvpqhc ridhcsftdk itfdqvinln
 181 ntaraikdgs vggpgmyhrv dhcfsnpqk pgnagggi gyyrndigrc lvdslfmrq
 241 dseaeitsk sqenvyygnt ylnccgtmnf rhgdhqvain nfyigndqrf gyggmfvwgs
 301 rhviacnyfe lsetiksrn aalylnpgam asehalafdm liannafinv ngaihfnp
 361 derrkeycaa nrlkfetphq lmlkgnlffk dkpyvypffk ddyfiagkns wtnvalgve
 421 kgipvnisan rsaykpvkik diqpiegial dlnaliskgi tgkplswdev rpywlkempg
 481 tyaltarlsa draakfkavi krnkeh

SEQ ID NO: 13 Proteína NA80 Chase B (G₁₀₆-H₅₀₆)

gnrai qawkshgpgl
 121 vaiygsynri tacvfdcfde ansayittsl tedgkvpqhc ridhcsftdk itfdqvinln
 181 ntaraikdgs vggpgmyhrv dhcfsnpqk pgnagggi gyyrndigrc lvdslfmrq
 241 dseaeitsk sqenvyygnt ylnccgtmnf rhgdhqvain nfyigndqrf gyggmfvwgs
 301 rhviacnyfe lsetiksrn aalylnpgam asehalafdm liannafinv ngaihfnp
 361 derrkeycaa nrlkfetphq lmlkgnlffk dkpyvypffk ddyfiagkns wtnvalgve
 421 kgipvnisan rsaykpvkik diqpiegial dlnaliskgi tgkplswdev rpywlkempg
 481 tyaltarlsa draakfkavi krnkeh

SEQ ID NO: 14 Proteína NA120 Chase B (I₁₄₆-H₅₀₆)

ittsl tedgkvpqhc ridhcsftdk itfdqvinln
 181 ntaraikdgs vggpgmyhrv dhcfsnpqk pgnagggi gyyrndigrc lvdslfmrq
 241 dseaeitsk sqenvyygnt ylnccgtmnf rhgdhqvain nfyigndqrf gyggmfvwgs
 301 rhviacnyfe lsetiksrn aalylnpgam asehalafdm liannafinv ngaihfnp
 361 derrkeycaa nrlkfetphq lmlkgnlffk dkpyvypffk ddyfiagkns wtnvalgve
 421 kgipvnisan rsaykpvkik diqpiegial dlnaliskgi tgkplswdev rpywlkempg
 481 tyaltarlsa draakfkavi krnkeh

SEQ ID NO: 15 Proteína CA19 Chase B (Q₂₆-L₄₈₈)

10

qvvas netlyqvcke vkpgglvqia dgtykdvqli
 61 vsnsgksglp itikalnpgk vfftdakve lrgelileg iwfkdgndrai qawkshgpgl
 121 vaiygsynri tacvfdefde ansayittsl tedgkvpqhc ridhcsftdk itfdqvinln
 181 ntaraikdgs vggpgmyhrv dhcfsnpqk pgnagggi ggyrndigrc lvdsnlfmrq
 241 dseaeiitsk sqenvyygnt ylnccgtmnnf rhgdhqvain nfyigndqrf gyggmfvwgs
 301 rhviacnyfe lsetiksrgn aalylnpgam asehalafdm liannafinv ngaihfnp
 361 derrkeycaa nrlkfetphq lmlkgnlffk dkpyvypffk ddyfiagkns wtgnvalgve
 421 kgipvnisan rsaykpvkik diqpiegial dlnaliskgi tgkplswdev rpywlkempg
 481 tyaltarl

SEQ ID NO: 16 Proteína CA120 Chase B (Q₂₆-K₃₉₀)

qvvas netlyqvcke vkpgglvqia dgtykdvqli
 61 vsnsgksglp itikalnpgk vfftdakve lrgelileg iwfkdgndrai qawkshgpgl
 121 vaiygsynri tacvfdefde ansayittsl tedgkvpqhc ridhcsftdk itfdqvinln
 181 ntaraikdgs vggpgmyhrv dhcfsnpqk pgnagggi ggyrndigrc lvdsnlfmrq
 241 dseaeiitsk sqenvyygnt ylnccgtmnnf rhgdhqvain nfyigndqrf gyggmfvwgs
 301 rhviacnyfe lsetiksrgn aalylnpgam asehalafdm liannafinv ngaihfnp
 361 derrkeycaa nrlkfetphq lmlkgnlffk

SEQ ID NO: 17 Proteína NA120 CA120 Chase B (I₁₄₆-K₃₉₀)

ittsl tedgkvpqhc ridhcsftdk itfdqvinln
 181 ntaraikdgs vggpgmyhrv dhcfsnpqk pgnagggi ggyrndigrc lvdsnlfmrq
 241 dseaeiitsk sqenvyygnt ylnccgtmnnf rhgdhqvain nfyigndqrf gyggmfvwgs
 301 rhviacnyfe lsetiksrgn aalylnpgam asehalafdm liannafinv ngaihfnp
 361 derrkeycaa nrlkfetphq lmlkgnlffk

5

SEQ ID NO: 18 Nucleótidos del locus CHU27583 de condroitinasa AC

ORIGEN

1 atgaagaaat tatttgtaac ctgtatagtc ttttcteta ttttaagtc tgctctgctt
 61 attgcacagc agaccgttac tgcagaactg attatgaagc gggtgatgct ggaccttaaa
 121 aagcctttgc gcaatatgga taagggtggcg gaaaagaacc tgaatacgct gcagcctgac
 181 ggtagctgga aggatgtgcc ttataaagat gatgccatga ccaattggtt gccaaacaac
 241 cacctgctac aattggaaac tattatacag gcttatattg aaaaagatag tcactattat
 301 ggcgacgata aagtgttga ccagatttcc aaagcttta agtattgga tgacagcgac
 361 ccgaaaagcc gcaactggtg gcacaatgaa attgccactc cgcaggccct tggatgaaatg
 421 ctgacctga tgcgttacgg taaaagccg ctgatgaag cattggtgca taaattgacc
 481 gaaagaatga agcggggcga accggagaag aaaacggggg ccaacaaaac agatatcgcc
 541 ctgcattact ttatcgtgc ttgttaacg tctgatgagg ctttgccttc cttgcgcgta
 601 aaagaattgt ttatcccgat acagtttgta cactatgagg aaggcctgca atacgattat
 661 tctacctgc agcacggtcc gcaattacag atatcgagct acggtgccgt atttattacc
 721 ggggtactga aacttgccaa ttacgttagg gataccctt atgctttaag taccagagaaa
 781 ctggctatat ttcaaagta ttaccgcgac agttatctga aagctatccg tggaagttat

841 atggatttta acgtagaagg ccgcggagta agccggccag acattctaaa taaaaaggca
 901 gaaaaaaaga ggttgctggt ggcgaagatg atcgatctta agcactga agaattgggt
 961 gatgcgatag ccaggacaga tagcacagtt gcggccggct ataagattga gccctatcac
 1021 catcagttct ggaatggtga ttatgtgcaa catttaagac ctgcctatc ttttaattgt
 1081 cgtatggtga gtaagcggac ccgacgcagt gaatccggca ataaagaaaa cctgctgggc
 1141 aggtatttat ctgatggggc tactaacata caattgcgcg gaccagaata ctataacatt
 1201 atgccggtat gggaatggga caagattcct ggcataacca gccgtgatta ttaaccgac
 1261 agacctttga cgaagctttg gggagagcag gggagcaatg actttgcagg aggggtgtct
 1321 gatggtgtat acggggccag tgcctacgca ttggattacg atagcttaca ggcaaagaaa
 1381 gcctggttct ttttgacaa agagattgta tgtcttggtg ccggtatcaa cagcaatgcc
 1441 cctgaaaaca ttaccactac ccttaaccag agctggttaa atggcccgggt tataagtact
 1501 gcaggtaaaa ccggccgggg taaaataaca acgtttaaag cacagggaca gtctggtg
 1561 ttgcacgatg cgattggtta ttacttct gaaggggcca accttagtct gactaccag
 1621 tcgaaaaag gcaattggtt ccacatcaac aattcacatt caaagatga agtttctggt
 1681 gatgtattta agcttggat caaccatggt gccaggccag aaaatgcgca gtatgcttat
 1741 atcgttttgc cgggaataaa caagccggaa gaaattaaaa aatataatgg aacggcaccg
 1801 aaagtcctg ccaataccaa ccagctgcag gcagttatc atcagcagtt agatatggtg
 1861 caggctatct tctatacagc tggaaaatta agcgtagcgg gcatagaaat tgaaacagat
 1921 aagccatgtg cagtgtgat caagcacatc aatggcaagc aggtaatgtg ggctgccgat
 1981 ccattgcaaa aagaaaagac tgcagtgtg agcatcaggg atttaaaaac aggaaaaaca
 2041 aatcgggtaa aaattgattt tccgcaacag gaatttgcag gtgcaacggt tgaactgaaa
 2101 tag

//

SEQ ID NO: 19 Eliminación de ácido nucleico NΔ50 C Δ275 de condroitinasa AC (a₂₂₀ - t₁₂₇₈)

atgccatga ccaattggtt gccaaacaac

241 cacctgtac aattggaac tattatacag gcttatattg aaaaagatag tcaactattat
 301 ggcgacgata aagtgttga ccagatttcc aaagcttta agtattggtg tgacagcgac
 361 ccgaaaagcc gcaactggtg gcacaatgaa attgccactc cgcaggccct tggtgaaatg
 421 ctgacctga tgcgttacgg taaaagccg ctgatgaag cattggtgca taaattgacc
 481 gaaagaatga agcggggcga accggagaag aaaacggggg ccaacaaaac agatcgcg
 541 ctgcattact ttatcgtgc ttgttaacg tctgatgagg ctttcttct ctgcgcgta
 601 aaagaattgt ttatcccg acagtttga cactatgagg aaggcctgca atacgattat
 661 tctacctgc agcacggtcc gcaattacag atacgagct acggtgccgt atttattacc
 721 ggggtactga aactgcaa ttacgttagg gataccctt atgcttaag taccagagaa
 781 ctggctatat ttcaaagta ttaccgcgac agttatctga aagctatccg tggaagtatt
 841 atggatttta acgtagaagg ccgcggagta agccggccag acattctaaa taaaaaggca
 901 gaaaaaaaga ggttgctggt ggcgaagatg atcgatctta agcactga agaattgggt
 961 gatgcgatag ccaggacaga tagcacagtt gcggccggct ataagattga gccctatcac
 1021 catcagttct ggaatggtga ttatgtgcaa catttaagac ctgcctatc ttttaattgt
 1081 cgtatggtga gtaagcggac ccgacgcagt gaatccggca ataaagaaaa cctgctgggc
 1141 aggtatttat ctgatggggc tactaacata caattgcgcg gaccagaata ctataacatt
 1201 atgccggtat gggaatggga caagattcct ggcataacca gccgtgatta ttaaccgac
 1261 agacctttga cgaagctt

SEQ ID NO: 20 Nucleótidos del locus CHU27584 de condroitinasa B

5

ORIGEN

1 atgaagatgc tgaataaact agccggatac ttattgccga tcatggtgct gctgaatgtg
 61 gcacatgct taggtcaggt tgttgcttca aatgaaactt tataccaggt tgtaaaggag

121 gtaaaacccg gtggtctggt acagattgcc gatgggactt ataaagatgt tcagctgatt
 181 gtcagcaatt caggaaaatc tggtttccc atcactatta aagccctgaa cccgggtaag
 241 gttttttta cggagatgc taaagtagag ctgaggggag agcacctgat actggaaggc
 301 atctggttta aagacgggaa cagagctatt caggcatgga aatcacatgg acccggattg
 361 gtggctatat atggtagcta taaccgcatt accgcatgtg tatttgattg ttttgatgaa
 421 gccaatctcg ctacattac tacttcgctt accgaagacg gaaaggtacc tcaacattgc
 481 cgcatagacc attgcagttt taccgataag atcacttttg accaggtaat taacctgaac
 541 aatacagcca gagctattaa agacgggtcg gtgggaggac cggggatgta ccatcgtgtt
 601 gatcactgtt tttttccaa tccgcaaaaa cgggtaatg cgggaggggg aatcaggatt
 661 ggctattacc gtaatgatat aggccgttgt ctggtagact ctaacctgtt tatgcgtcag
 721 gattcgggaag cagagatcat caccagcaaa tcgcaggaaa atgtttatta tgtaataact
 781 tacctgaatt gccagggcac catgaacttt cgtcacggtg atcatcaggt ggccattaac
 841 aatttttata taggcaatga ccagcgattt ggatacgggg gaatgtttgt ttggggaagc
 901 aggcattgca tagcctgtaa ttatttgag ctgtccgaaa ccataaagtc gagggggaac
 961 gccgcattgt atttaaccc cgggtctatg gcttcggagc atgctcttgc ttctgatag
 1021 ttgatagcca acaacgcttt catcaatgta aatgggtatg ccatccattt taatccattg
 1081 gatgagcgca gaaaagaata ttgtgcagcc aataggctta agttcgaaac cccgcaccag
 1141 ctaatgttaa aaggcaatct tttctttaag gataaacctt atgtttaccc attttttaa
 1201 gatgattatt ttatagcagg gaaaatagc tggactggta atgtagcctt aggtgtggaa
 1261 aagggaatcc ctgttaacat ttcggccaat aggtctgcct ataagccggt aaaaatttaa
 1321 gatatccagc ccatagaagg aatcgtctt gatctcaatg cgctgatcag caaaggcatt
 1381 acaggaaagc cccttagctg ggatgaagta aggcctact ggtaaaaga aatgcccggt
 1441 acgtatgctt taacggccag gctttctgca gatagggctg caaagtttaa agccgtaatt
 1501 aaaagaaata aagagcactg a

SEQ ID NO: 21 Eliminación de ácido nucleico NA120 CA120 de condroitinasa B (a₄₃₆ - g₁₁₇₀)

attac tacttcgctt accgaagacg gaaaggtacc tcaacattgc
 481 cgcatagacc attgcagttt taccgataag atcacttttg accaggtaat taacctgaac
 541 aatacagcca gagctattaa agacgggtcg gtgggaggac cggggatgta ccatcgtgtt
 601 gatcactgtt tttttccaa tccgcaaaaa cgggtaatg cgggaggggg aatcaggatt
 661 ggctattacc gtaatgatat aggccgttgt ctggtagact ctaacctgtt tatgcgtcag
 721 gattcgggaag cagagatcat caccagcaaa tcgcaggaaa atgtttatta tgtaataact
 781 tacctgaatt gccagggcac catgaacttt cgtcacggtg atcatcaggt ggccattaac
 841 aatttttata taggcaatga ccagcgattt ggatacgggg gaatgtttgt ttggggaagc
 901 aggcattgca tagcctgtaa ttatttgag ctgtccgaaa ccataaagtc gagggggaac
 961 gccgcattgt atttaaccc cgggtctatg gcttcggagc atgctcttgc ttctgatag
 1021 ttgatagcca acaacgcttt catcaatgta aatgggtatg ccatccattt taatccattg
 1081 gatgagcgca gaaaagaata ttgtgcagcc aataggctta agttcgaaac cccgcaccag
 1141 ctaatgttaa aaggcaatct tttctttaag

SEQ ID NO: 22 Ácido nucleico del locus I29953 de condroitinasa ACB I

5

ORIGEN

1 ggaattccat cactcaatca ttaaatttag gcacaacgat gggctatcag cgttatgaca
 61 aatttaata aggacgcatt gggttactg ttaccagcg tttctaagga gaaaaataat
 121 gccgatattt cgttttactg cacttgcaat gacattgggg ctattatcag cgccttataa
 181 cgcgatggca gccaccagca atcctgcatt tgatcctaaa aatctgatgc agtcagaaat
 241 ttaccatttt gcacaaaata acccattagc agacttctca tcagataaaa actcaatact
 301 aacgttatct gataaacgta gcattatggg aaaccaatct cttttatgga aatggaaagg

361 tggtagtagc ttactttac ataaaaaact gattgtcccc accgataaag aagcatctaa
 421 agcatgggga cgctcatcta cccccgttt ctcattttgg cttfacaatg aaaaaccgat
 481 tgatggttat ctactatcg atttcggaga aaaactcatt tcaaccagtg aggcacagge
 541 aggccttaaa gtaaaattag atttcactgg ctggcgtgct gtgggagtct ctttaataa
 601 cgatcttgaa aatcgagaga tgaccttaaa tgcaaccaat acctcctctg atgtactca
 661 agacagcatt gggcgttctt taggtgctaa agtcgatagt attcgttta aagcgccttc
 721 taatgtgagt cagggtgaaa tctatatega cgtattatg tttctgtcg atgatgctg
 781 ctaccaatgg tctgattatc aagtaaaaac tcgcttatca gaacctgaaa tcaatttca
 841 caacgtaaag ccacaactac ctgtaacacc tgaaaattta gcggccattg atcttattcg
 901 ccaacgtcta attaatgaat ttgtcggagg tgaaaagag acaaacctcg cattagaaga
 961 gaatacagc aaattaaaaa gtgatttcca tgctcttaatt attcacactt tagcaaatgg
 1021 tggaaacgcaa ggcagacatc tgatcactga taaacaaatc attatttate aaccagagaa
 1081 tettaactcc caagataaac aactatttga taattatgtt attttaggta attacacgac
 1141 attaatgttt aatattagcc gtgcttatgt gctggaaaaa gatcccacac aaaaggcgca
 1201 actaaagcag atgtacttat taatgacaaa gcatttatta gatcaaggct ttgttaaagg
 1261 gagtgtttta gtgacaaccc atcactgggg atacagttct cgttggtggt atatttcac
 1321 gttattaatg tctgatgcac taaaagaagc gaacctacaa actcaagttt atgattcatt
 1381 actgtggtat tcacgtgagt taaaagtag tttgatatg aaagtaagtg ctgatagctc
 1441 tgatctagat tatttcaata cttatctcg ccaacattta gccttattat tactagagcc
 1501 tgatgatcaa aagcgtatca acttagttaa tactttcagc cattatatca ctggcgcat
 1561 aacgcaagtg ccaccgggtg gtaaagatgg ttacgccct gatggtacag catggcgaca
 1621 tgaaggcaac taccgggct actcttccc agcctttaa aatgcctctc agcttatta
 1681 ttattacgc gataccat ttcagtggg tgaagtggg tgaataacc tgaaaaagc
 1741 gatggtttca gctggatct acagtaatcc agaagtggg ttaccgcttg caggaagaca
 1801 cccttttaac tcacctctgt taaatcagt cgctcaaggc tattactggc ttgcatgic
 1861 tgcaaaatca tcgctgata aaacacttgc atctatttat ctgcgatta gtgataaac
 1921 acaaaatgaa tcaactgcta ttttgaga aactattaca ccagcgtctt tacctcaagg
 1981 tttctatgcc ttaattggcg gtgcttttg taticatctg tggcaagata aaatggtgac
 2041 actgaaagct tataacacca atgtttggtc atctgaaatt tataacaaag ataaccgtta
 2101 tggccgttac caaagtcag gtgtcgtca aatagttagt aatggctcgc agctttcaca
 2161 gggctatcag caagaagggt gggattggaa tagaatgcaa ggggcaacca ctattcacct
 2221 tcctcttaaa gacttagaca gtccataacc tcatacctta atgcaacgtg gagagcgtg
 2281 atttagcgga acatcatccc ttgaaggta atatggcatg atggcatteg atcttatta
 2341 tcccgcctat ctgagcgtt ttgacctaa ttactcgcg aaaaagagtg tattagccgc
 2401 tgataatcac ttaattttta ttggtagcaa tataaatagt agtgataaaa ataaaaatgt
 2461 tgaacgacc ttattccaac atgccattac tccaacatta aatacccttt ggattaatgg
 2521 aaaaagata gaaaacatgc ctatcaaac aacacttcaa caagggtgatt ggtaattga
 2581 tagcaatggc aatggttact taattactca agcagaaaaa gtaaatgtaa gtcgccaaca
 2641 tcagggttca gcggaaaata aaaatcgcca accgacagaa ggaaacttta gtcggcatg
 2701 gatcgatcac agcactcgcc ccaagatgc cagttagag tatatggtct tttgatgac
 2761 gacacctgaa aaaatgggag agatggcaca aaaattccgt gaaataatg ggttatatca
 2821 ggttctctgt aaggataaag acgttcatat tattctcgat aaactcagca atgtaacggg
 2881 atatgccttt tatcagccag catcaattga agacaaatgg atcaaaaagg ttaataaacc
 2941 tgcaattgtg atgactcatc gacaaaaaga cactcttatt gtcatgacg ttacacctga
 3001 tttaaatag actcgccaaa aagcagcaac tctgtcacc atcaatgtca cgattaatgg
 3061 caaatggcaa tctgtgata aaaatagtga agtgaaatat caggttctg gtgataaac
 3121 tgaactgacg ttacgagtt actttggtat tcacaaaga atcaaaactct cgccactccc
 3181 ttgatttaac caaaagaacg ctcttgctgt cctttttat ttgcaggaaa tctgattatg
 3241 ctaataaaaa acccttagc ccacgcggtt acattaagcc tctgtttatc attaccgca
 3301 caagcattac ccactctgtc tcatgaagct ttggcgata tttatcttt tgaaggtgaa

3361 ttaccaata cccttaccac ttcaaataat aatcaattat cgctaagcaa acagcatgct
 3421 aaagatggtg aacaatcact caaatggcaa tatcaaccac aagcaacatt aacactaaat
 3481 aatattgta attaccaaga tgataaaaat acagccacac cactcactti tatgatgtgg
 3541 atttataatg aaaaacctca atcttcccca ttaacgtag catttaaaca aaataataaa
 3601 attgcactaa gttttaatgc tgaacttaat ttacgggggt ggcgaggtag tgctgttct
 3661 ttctgtgata tgcaaggctc tgcgacaggt caacttgatc aattagtat caccgtcca
 3721 aaccaagccg gaacactctt ttgatcaa atcatcatga gtgtaccgti agacaatgt
 3781 tgggcagtac ctgactatca aacaccttac gtaaataacg cagtaaacac gatggtagt
 3841 aaaaactgga gtgcattatt gatgtacgat cagatgttc aagcccatta ccctacttta
 3901 aacttcgata ctgaatttcg cgaatgacaa acagaaatgg ctctgattta tcagcgctti
 3961 gaatattatc aaggaattcc

//

SEQ ID NO: 23 Ácido nucleico de la fusión de TAT a condroitinasa ABC I

ggctgtaaaaagcgtcgtcaacgtcgtc
 tgggtggtggtggtggtgccaccagca atcctgcatt tgatcctaaa aatctgatgc agtcagaaat
 241 ttaccatttt gcacaaaata acccattagc agacttctca tcagataaaa actcaatact
 301 aacgttatct gataaacgta gcattatggg aaaccaatct ctttatgga aatggaaagg
 361 tggtagtagc ttactttac ataaaaaact gattgtcccc accgataaag aagcatctaa
 421 agcatgggga cgctcatcta cccccgttt ctcattttgg ctttacaatg aaaaaccgat
 481 tgatggttat ctactatcg atttcggaga aaaactcatt tcaaccagtg aggctcaggc
 541 aggtcttaaa gtaaaattag atttactgg ctggcgtgct gtgggagtct cttaaataa
 601 cgatctttaa aatcgagaga tgacctaaa tgcaaccaat acctcctctg atggtaacta
 661 agacagcatt gggcgttcti taggtgctaa agtcgatagt attcgtttta aagcgccttc
 721 taatgtgagt cagggtgaaa tctatatcga ccgtattatg tttctgtcg atgatgctcg
 781 ctaccaatgg tctgattatc aagtaaaaac tcgcttaca gaacctgaaa ttcaatttca
 841 caacgtaaag ccacaactac ctgtaacacc tgaaaattta ggggccattg atcttattcg
 901 ccaacgtcta attaatgaat ttgtcggagg tgaaaaagag acaaacctcg cattagaaga
 961 gaatcagc aaattaaaaa gtgatttca tgctcttaatt attcacacti tagcaaatgg
 1021 tggaacgcaa ggcagacatc tgatcactga taaacaaatc attatttatt aaccagagaa
 1081 tcttaactcc caagataaac aactatttga taattatgtt attttaggta attacacgac
 1141 attaatgttt aatattagcc gtgcttatgt gctggaaaa gatccacac aaaaggcgca
 1201 actaaagcag atgtacttat taatgacaaa gcatttatta gatcaaggct ttgttaaagg
 1261 gagtgtttaa gtgacaaccc atcactgggg atacagtctt cgttggtggt atatttccac
 1321 gttattaatg tctgatgcac taaaagaagc gaacctacaa actcaagttt atgattcatt
 1381 actgtggtat tcacgtgagt taaaagtag tttgatatg aaagtaagtg ctgatagctc
 1441 tgatctagat tatttcaata cttatctcg ccaacattta gccttattat tactagagcc
 1501 tgatgatcaa aagcgtatca acttagttaa tactttcagc cattatatca ctggcgcatt
 1561 aacgcaagtg ccaccgggtg gtaaagatgg ttacgccct gatggtacag catggcgaca
 1621 tgaaggcaac tatcggggt actctttccc agcctttaa aatgcctctc agcttattta
 1681 tttattacgc gataccatc ttacgtggg tgaaagtggg tggaataacc tgaaaaaagc
 1741 gatggttca gctggatct acagtaatcc agaagtggga ttaccgcttg caggaagaca
 1801 cccttttaac tcaccttctg taaaatcagt cgtcaaggc tattactggc ttgcatgctc
 1861 tgcaaaatca tcgctgata aaacacttgc atctatttat ctgcgatta gtgataaaac
 1921 acaaaatgaa tcaactgcta ttttggaga aactattaca ccagcgtctt tacctcaagg
 1981 tttctatgcc ttaattggcg gtgcttttgg tattcatcgt tggcaagata aaatggtgac
 2041 actgaaagct tataacacca atgtttggtc atctgaaatt tataacaaag ataaccgtta
 2101 tggccgttac caaagtcag gtgtcgtc aatagttagt aatggctcgc agctttcaca
 2161 gggctatcag caagaagggt gggattggaa tagaatgcaa ggggcaacca ctattcacct
 2221 tcctcttaaa gacttagaca gtcctaaacc tcatacctta atgcaacgtg gagagcgtgg

2281 atttagcgga acatcatccc ttgaaggcca atatggcatg atggcattcg atcttattta
 2341 tcccccaat cttgagcgtt ttgactctaa ttactgacg aaaaagagtg tattagccgc
 2401 tgataatcac ttaattttta ttggtagcaa tataaatagt agtgataaaa ataaaaatgt
 2461 tgaaacgacc ttattccaac atgccattac tccaacatta aatacccttt ggattaatgg
 2521 aaaaagata gaaaacatgc ctatcaaac aacacttcaa caagggtgatt ggtaattga
 2581 tagcaatggc aatggttact taattactca agcagaaaaa gtaaatgtaa gtcgccaaca
 2641 tcaggtttca gcggaaaata aaaatcgcca accgacagaa ggaaacttta gtcggcatg
 2701 gatgatcac agcactcgcc ccaaagatgc cagttatgag tatatggtct ttttagatgc
 2761 gacacctgaa aaaatgggag agatggcaca aaaattccgt gaaaataatg ggttatatca
 2821 ggttcttctg aaggataaag acgttcatat tattctcgat aaactcagca atgtaacggg
 2881 atatgccttt tatcagccag catcaattga agacaaatgg atcaaaaagg ttaataaac
 2941 tgcaattgtg atgactcatc gacaaaaaga cactcttatt gtcagtgcag ttacacctga
 3001 tttaaatag actcgccaaa aagcagcaac tctgtcacc atcaatgtca cgattaatgg
 3061 caaatggcaa tctgtgata aaaatagtg agtgaaatat caggtttctg gtgataaac
 3121 tgaactgacg ttacgagtt actttggtat tccacaagaa atcaactct cggcactccc
 3181 ttgatttaac caaaagaacg ctcttgcgtt cctttttat ttgcaggaaa tctgattatg
 3241 ctaataaaaa accctttage ccacgagggt acattaagcc tctgtttatc attaccgca
 3301 caagcattac cactctgtc tcatgaagct ttggcgata ttatctttt tgaagggtgaa
 3361 ttaccaata cccttaccac ttcaataat aatcaattat cgctaagcaa acagcatgct
 3421 aaagatggtg acaatcact caaatggcaa tatcaaccac aagcaacatt aacactaat
 3481 aatattgtta attaccaaga tgataaaaa acagccacac cactcacttt tatgatgtgg
 3541 attataatg aaaaacttca atctcccca ttaacgttag catttaaaca aaataataaa
 3601 attgactaa gtttaatgc tgaacttaac ttacgggggt ggcgaggtat tgctgttct
 3661 tttcgtgata tgcaaggctc tgcgacaggt caacttgatc aattagtgat caccgctcca
 3721 aaccaagccg gaacactctt ttgtatcaa atcatcatga gtgtaccgtt agacaatcgt
 3781 tgggcagtag ctgactatca aacaccttac gtaataaac cagtaaacac gatggtagt
 3841 aaaaactgga gtgcattatt gatgtacgat cagatgttc aagccatta ccctacttta
 3901 aactcgata ctgaatttcg cgatgaccaa acagaaatgg ctctgattta tcagcgcttt
 3961 gaatattatc aaggaattcc

SEQ ID NO: 24 Una secuencia de TAT del VIH y una proteína enlazadora de penta Gly

G R K K R R Q R R R G G G G

SEQ ID NO: 25 Ácido nucleico de secuencia TAT y enlazador de penta Gly

ggg cgt aaa aag cgt cgt caa cgt cgt cgt ggt ggt ggt ggt ggt

5

SEQ ID NO: 26 Ácido nucleico de condroitinasa ABC II de la presente invención

ttaccactctgtctcatgaagctttcggcgataatttatcttttgaaggcgaattaccaatcttaccacttcaaataataatcaattatcg
 ctaagcaaacagcatgctaaagatggggaacaatcactcaaatggcaatatcaaccacaagcaacattaacactaaataatattgttaatt
 accaagatgataaaaaatcacgccacaccactcacttttatgatgtggatttataatgaaaaacctcaatttccccattaacgttagcattta
 aacaaaataataaaaatgcactaagtttaagtctgaacttaattttacgggggtggcgaggtattgtcttctttcgtgatatgcaaggctc
 tgcgacaggtcaacttgatcaattagtgatcacgcgtccaaaccaagccggaacactctttttgatcaaatcatcatgagtgatgacgtta
 gacaatcgttggcgagtagctgactatcaaacaccttacgtaataacgcagtaaacacgatggttagtaaaaactggagtgcatattg
 atgtacgatcagatgttcaagccattaccctactttaaacttcgatactgaatttcgcatgaccaaacagaaatggcttcgatttatcag
 cgctttgaatattatcaaggaattcgtagtataaaaaattactccagatatgctagataaacatttagcgttatgggaaaaattggggta
 acacaacacgctgatggctcaatcacagggaaaagcccttgatcacctaaccggcaacattttatgaaagtcgaagggtgtatttagtga
 ggggactcaaaaagcattacttgatgcaatatgctaagagatgtgggcaaacgcttcttcaaactgctatttacttgcgtagcgattca
 ttatcagcaactggtagaaaaaattagaagagcgctatttattaggctctgttatgtccttgaacaagggttttacacgaggaagtggtta

tcaaaattattactatgttggttaccaaacagagaaacttttgcattgatgctgtttatggccgcatgttcttgcaaaaaataaaccttttagcc
 ccactcaacaagctatgatgtgtgtaaacgccacaggacgtattttgaaaaagataatgaaattgttgatgcaaatgtcgatattctcaat
 actcaattgcaatggatgataaaaagcttattgatgctaccggattatcaacaacgtcaacaagccttagcgcaactgcaaaagttggcta
 aataaaaccattctaagctcaaaaaggtgttctggcggtttcaaatctgatgtgtctatttttaccattcacaacattaccccgcttatgcta
 aagatgcatttgggtgttagcaccagtggttatgcattaagtgattcaccttttcgcttatctacttcagcacatgagcatttaaaagatgtt
 ttgttaaaaatcgggatctacaccaaaagagacacaaattcctgtgtttaaagtggtcgtcatccaactgggttgcataaaatagggatcg
 cgccatttaaatggatggcattagcaggaaccccgatggcaacaaaagttagataccacattatccgccgcttatgcaaaacttagac
 aacaaaacgcattttgaaggcatlaacgctgaagtgagccagtcggcgcatgggcaatgaallatgcatcaatggcaataacgaa
 gagcatcgacccaatcaccacaacaaagctggctcgccatagcgcgcggttttagccggttatcttgttgtaaatgaaagctatgaaaaa
 acaaccggttatggctgttattacaatatggacaattggaaattattccagctgatttaactcaatcagggttttagccatgctggatgggatt
 ggaatagatatccaggtacaacaactattcatcttccctataacgaactgaagcaaaaactaatcaattacctgctgcagggtattgaaga
 aatgttgctttcaacagaaaagtactctgggtgcaaatacccttaataataacagtatgtttgccatgaaattacacggtcacagtaaatatca
 acaacaaagcttaaggggcaataaatcctatttctatttgataatagagttattgctttagggtcagggtattgaaaatgatgataaacaacat
 acgaccgaaacaacactattccagtttgccgctccctaattacagtcagtgatcattaatggcaaaaaggtaaatcaattagatactcaatt
 aactttaataatgcagatacattaattgatcctgccggcaatttatataagctcactaaaggacaaaactgtaaaatttagttatcaaaaaca
 acattcacttgatgatagaatcaaaaaccaacagaacaattatttgcaacagctgttatttctcatggttaaggccaccgagtaatgaaaatt
 atgaatatgcaatagctatcgaaagcacaataataaaagctcccaatacacagtattacaacataatgatcagctccatcgcggtaaaag
 ataaaataacccaagaagagggtatgtgtttttgaagccactaagttaaatcagcggatgcaacattattatccagtatgcgcgggt
 tatggtcatggctaaaatacaaaatcagcaattaacattaagttattgtaatcctgatttaatttatatcaaggtagagaaaaagatcaattt
 gatgataaaggtaatacaaatcgaagttagtgtttattctcgtattggcttacagcagaatcgcaatcaacaaatagtactattaccgtaaa
 aggaatatggaaattaacgacacctcaaccgggtgttattattaagcaccacaataacaacactcttattacgacaacaaccatacagggc
 aacacctactgttatttaatttagttaagtaa

SEQ ID NO: 27 Proteína condroitinasa ABC II de la presente invención

990 aa frente a

990 aa

5 Matriz de puntuación: , penalizaciones por hueco: -12/-2

Puntuación de alineamiento global: 6393

	10	20	30	40	50	60
457676	LPTLSHEAFGDIYLFEGELPNILTTSNNQLSLSKQHAKDGEQSLKWQYQPQATLTLNNI					
—	LPTLSHEAFGDIYLFEGELPNTLTTSNNQLSLSKQHAKDGEQSLKWQYQPQATLTLNNI					
	10	20	30	40	50	60
	70	80	90	100	110	120
457676	VNYQDDKNTATPLTFMMWIYNEKPQSSPLTLAFKQNNKIALSFNAELNFTGWRGIAPVFR					
—	VNYQDDKNTATPLTFMMWIYNEKPQSSPLTLAFKQNNKIALSFNAELNFTGWRGIAPVFR					
	70	80	90	100	110	120
	130	140	150	160	170	180
457676	DMQGSATGQLDQLVITAPNQAGTLFFDQIIMSVPLDNRWAVPDYQTPYVNNNAVNTMVSKN					
—	DMQGSVTGQLDQLVITAPNQAGTLFFDQIIMSVPLDNRWAVPDYQTPYVNNNAVNTMVSKN					
	130	140	150	160	170	180
	190	200	210	220	230	240
457676	WSALLMYDQMFQAHYPTLNFDTEFRDDQTEMASIQRFYYQGIRSDKKITPDMLDKHLA					

ES 2 616 749 T3

	WSALLMYDQMFQAHYPTLNFDFTEFRDDQTEMASRYQRFEYYQGIRSDKKITPDMLDKHLA					
	190	200	210	220	230	240
	250	260	270	280	290	300
457676	LWEKLG	LTHQHADGSITGKALDHPNRQHFMKVEGVFSEGTQKALLDANMLRDVGKTL	LQTA			
	190	200	210	220	230	240
	250	260	270	280	290	300
	310	320	330	340	350	360
457676	IYLRSDSLSAT	GRKKLEERYLLGTRYVLEQGFTRGSGYQIITHVGYQTRELFDAWFIGR	I			
	310	320	330	340	350	360
	370	380	390	400	410	420
457676	VLAKNNLLAPTQ	QAMMWYNATGRIFEKDNEIVDANVDILNTQLQWMIKSLMLPDYQQRQ				
	370	380	390	400	410	420
	430	440	450	460	470	480
457676	QALAQ	LQSWLNKTI	LSSKGVAGGFKSDGSIFHHSQHYPAYAKDAFGGLAPSVYALSDSPF			
	430	440	450	460	470	480
	490	500	510	520	530	540
457676	RLSTSAHEHLK	DVLLKMRIYTKETQIPVVL	SGRHPTGLHKIGIAPFKWMALAGT	PDGKQK		
	490	500	510	520	530	540
	550	560	570	580	590	600
457676	LDTTLSAAYAN	LDNKTHFEGINAESEPVGAWAMNYASMAIQRRASTQSPQQSWLAIARGF				
	550	560	570	580	590	600
	610	620	630	640	650	660
457676	SRYLVGNESYEN	NNNRYGRYLQYGQLEIIPADLTQSGFSHAGWDWNRYPGTTTTIHL	PYNEL			
	610	620	630	640	650	660
	670	680	690	700	710	720
457676	EAKLNQLPAAGIE	EMLLSTESYSGANTLNNNSMFAMKLHGHSKYQQQSLRANKSYFLFDN				
	670	680	690	700	710	720
	730	740	750	760	770	780
457676	RVIALGSGIENDD	KQHTTETTLFQFAVPKLSVIINGKKVNQLDTQLTLNNADTLIDPAG				
	730	740	750	760	770	780
	790	800	810	820	830	840
457676	NLYKLTKGQTVK	FSYQKQHS�DDRN	SKPTEQLFATAVISHGKAPSNENYEYAI	AEQNN		
	NLYKLTKGQTVK	FSYQKQHS�DDRN	SKPTEQLFATAVISHGKAPSNENYEYAI	AEQNN		

	790	800	810	820	830	840
	850	860	870	880	890	900
457676	KAPKYTVLQHNDQLHAVKDKITQEEGYGFFEATKLKSADATLLSSDAPVMMMAKIQNQQL					
—	KAPEYTVLQHNDQPHAVKDKITQEEGYAFFEATKLKSADATLLSSDAPVMMMAKIQNQQL					
	850	860	870	880	890	900
	910	920	930	940	950	960
457676	TLSIVNPDNLNLYQGREKDDKGNQIEVSVYSRHWLTAESQSTNSTITVKGIWKLTPQ					
—	TLSIVNPDNLNLYQGREKDDKGNQIEVSVYSRHWLTAESQSTNSTITVKGIWKLTPQ					
	910	920	930	940	950	960
	970	980	990			
457676	PGVVIKHHNNNTLITTTTIQATPTVINLVK					
—	PGVVIKHHNNNTLITTTTIQATPTVINLVK					
	970	980	990			

SEQ ID NO: 28 Ácido nucleico de condroitinasa ABC I de la presente invención

gccaccagcaatcctgcattgatcctaaaaatctgatgcagtcagaaattaccattttgcacaaaataaccattagcagacttctcatc
agataaaaaactcaataactggtatctgataaacgtagcattatgggaaaccaatctctttatggaaatggaaagggtgtagtagcttta
ctttacataaaaaactgattgtccccaccgataaagaagcatctaaagcatggggacgctcatccacccccgttttctcattttggctttac
aatgaaaaaccgattgatggttatcttactatcgatttcggagaaaaactcatttcaaccagtgaggctcaggcaggtttaagtaaaatt
agatttcactggctggcgactgtgggagctctttaaataacgatcttgaaaatcgagagatgacctaaatgcaaccaatacctcctctg
atggtactcaagacagcattggcgcttcttaggtgctaaagtcgatatgttctttaaagcgcttctaatgtgagtcagggtgaaatc
tatatcgaccgtattatgtttctgtcgtatgatgctcgctaccaatggctgtattatcaagtaaaaactcgcttatcagaacctgaaattcaatt
tcacaacgtaaagccacaactacgtgaacacgtgaaaatttagcggccattgatcttattcgccaacgtctaatatgaattgtcggag
gtgaaaaagagacaaacctcgattagaagagaatatcagcaaaatgaaagtgatttcgatgctcttaatactcacactttagcaaatg
gtggaacgcaaggcagacatctgatcactgataaacaatcattattatcaaccagagaatcttaactctcaagataaacaactatttgat
aattatgttattttaggaattacacgacattaatgttataatagccgtgcttatgtctggaagagatccacacaaaaggcgcaacta
aagcagatgtacttataatgacaaagcattattagatcaaggcctttgtaaaggagtgcttttagtgacnaccatcactggggataca
gttctcgttggtggtatattccacgttataatgtctgatgcactaaaagaagcgaaacctacaactcaagtttatgattcattactgtggtat
tcacgtgagtttaaagtagttttgatatgaaagtaagtgtgatagctctgatctagattttcaataccttatctcgccaacatttagcctt
attactactagagcctgatgatcaaaagcgtatcaacttagttaatactttcagccattatcactggcgcaatgaacgaagtgccaccgg
gtggttaaagatggtttacgccctgatggtacagcatggcgacatgaaggcaactatccgggctactctttccagccttataaaatgcct
ctcagcttattttattacgcgatacaccattttcagtggtgaaagtggttggaatagcctgaaaaagcgatggttcagcgtggatc
acagtaatccagaagtggattaccgcttcaggaagacaccttcaactcacttcgttaaaatcagtcgctcaaggctattactggct
tgccatgtctgcaaaatcatcgctgataaaacacttgcacttattatcttgcgattagtgataaaacacaaaatgaatcaactgctatttt
ggagaaactattacaccagcgtctttacctcaagggttctatgcctttaaaggcggtgcttttggtattcatcgttggcaagataaaatggtg
acactgaaagcttataacaccaatgtttggtcatctgaaattataacaaagataaccgttatggccgttaccaaagtcaggtgtcgtca
aatagtgagtaatggctcgcagctttcacagggtatcagcaagaaggttgggattggaatagaatgccaggggcaaccactatccac
cttctcttaaagacttagacagtcctaaacctacacctaataatgcaacgtggagagcgtggatttagcggaacatcatcccttgaaggtc
aatatggcatgatggcattcgatcttattatcccgaatcttgagcgttttgatcctaatttactgcgaaaaagagtgatttagccgtg
ataactacttaattttttagtgcaatataatagtagtgataaaaataaaatgttgaaacgacctattccaacatgccattactccaac
attaaatacccttggattaatggacaaaagatagaaaactgccttatcaacaacacttcaacaaggtgatttggttaattgatagcaatg
gcaatggttacttaattactcaagcagaaaaagtaaatgtaagtcgccaacatcaggtttcagcggaaaaataaaatcgccaaccgaca
gaaggaaacttttagctcgcatggtatcagcagcactgccccaaagatgccagttatgagtatatggtcttttagatgcgacacct
gaaaaaatgggagagatggcacaaaaatccgtgaaataatgggttatatcaggttcttctgtaaggataaagacgttcatattattctg
ataaactcagcaatgtaacgggatagccttttatcagccagcatcaattgaagacaaatggatcaaaaagggttaataaacctgcaattgt
gatgactcatcgacaaaaagacactcttattgtcagtcagttacacctgatttaaatatgactcgccaaaaagcagcaactcctgtcacc

atcaatgtcacgattaatggcaaatggcaatctgctgataaaaatagtgaaagtgaaatcaggtttctggtgataaacctgaactgacgt
ttacgagttactttggtattccacaagaatacaactctcgcactccctga

SEQ ID NO: 29 Proteína condroitinasa ABC I de la presente invención

365019 ATSNPAFDPKNLMQSEIYHFAQNNPLADFSSDKNSILTLSDKRSIMGNQSLLWKWKGGSS

.....

365019 FTLHKKLIVPTDKEASKAWGRSSTPVFSFWLYNEKPIDGYLTIDFGEKLISTSEAQAGFK

365019 VKLDFTGWRTVGVSLNNDLENREMTLNATNTSSDGTQDSIGRSLGAKVDSIRFKAPSNVS

365019 QGEIYDRIMFSVDDARYQWSDYQVKTRLSEPEIQFHNVPQLPVTPENLAAIDLIRQL

365019 INEFVGGEKETNLALEENISKLKSDFDALNTHTLANGGTQGRHLITDKQIIYQPENLNS

365019 QDKQLFDNYVILGNYTTLMFNISRAYVLEKDPTQKAQLKQMYLLMTKHLLDQGFVKGSAL

365019 VTTHHWGYSSRWYISTLLMSDALKEANLQTQVYDSLLWYSREFKSSFDMKVSADSSDL

365019 YFNTLSRQHLALLLLEPDDQKRINLVNTFSHYITGALTQVPPGGKDGLRPDGTAWRHEGN

365019 YPGYSFPAFKNASQLIYLLRDTFVSGESGWNLSKKAMVSAWIYSNPEVGLPLAGRHPNL

365019 SPSLKSVAQGYWLAWSAKSSPKTLASIYLAISDKTQNESTAIFGETITPASLPQGFYA

365019 FNGGAFGIHRWQDKMVTLKAYNTNVWSSEIYNKDNRYGRYQSHGVAQIVSNGSQLSQGYQ

365019 QEGWDWNRMPGATTIHLPLKDLDSPKPHTLMQRGERGFSGTSSLEGQYGMMAFDLIYPAN

365019 LERFDPNFTAKKSVLAADNHLIFIGSNINSSDKNKNVETTLFQHAIPTLNTLWINGQKI

365019 ENMPYQTTLQQGDWLIDSNNGYLYITQAEKVNVSQRHQVSAENKNRQPTTEGNFSSAWIDH

365019 STRPKDASYEYMVFLDATPEKMGEMAQKFRENNGLYQVLRKDKDVHIILDKLSNVTGYAF

365019 YQPASIEDKWIKKVNKPAIVMTHRQKDTLIVSAVTPDLNMTRQKAATPVTINVTINGKWQ

365019 SADKNSEVKYQVSGDNTELTFTSYFGIPQEIKLSPLP

proteína hialuronidasa 1, **SEQ ID NO: 30**, locus HSU96078

proteína hialuronidasa 2, **SEQ ID NO: 31**,

proteína hialuronidasa 3, **SEQ ID NO: 32**, locus BC012892

5 proteína hialuronidasa 4, **SEQ ID NO: 33**, AF009010

proteína PH-20, **SEQ ID NO: 34**,

Péptido TAT **SEQ ID NO: 35**

ABC I un mutante de sitio específico denominado H501a y Y508a **SEQ ID NO: 36**

SEQ ID NO: 37 Locus P59807 de la proteína condroitinasa ABC I

10 ORIGEN

1 mpifrfkala mtlgllsapy namaatsnpa fdpknlmqse iyhfaqnnpl adfssdknsi
61 ltlsdkrsim gnqslwkwk ggssftlhkk livptdkeas kawgrsstp v fswlynekp
121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkl dft gwravgvsl n ndlenremtl natntssdgt
181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqf

241 hnvkpqlpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklksdf dalnihtlan
301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqka
361 qlkqmyllmt khllldqgvk gsalvtthw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvyds
421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlhlallle pddqkrinlv ntfsyitga
481 ltqvpvgkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
541 amvsawiysn pevglplagr hpfnsplks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseiynkdnr
661 ygryqshgva qivsngsqs qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
721 gfsgtssleg qygmmafli ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
781 vetltfhai tptlntlwin gqkienmpyq ttlqqgdwli dsngngylit qaeavnvsrq
841 hqvsakenr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmgema qkfrenngly
901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvnk paivmthrpk dtlivsavtp
961 dlnmtrkaa tpvtinvtn gkwqsadkns evkyqvsgdn telftsylf ipqeiklspl
1021 pXX

SEQ ID NO: 38 Proteína NA20 ABCI (A₄₅-N₁₀₂₃)

aqnnpl adfssdknsi

61 ltlsdkrsim gnqslwkwwk ggssflhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp
 121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkldft gwravgvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqf
 241 hnvkpqlpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklksdf dalnihtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqka
 361 qlkqmyllmt khllldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvysd
 421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlhlalle pddqkrinlv ntfshtyitga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnspslks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseinykdnr
 661 ygryqshgva qivsngsqli qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
 721 gfsstssleg qygmmafnli ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vetlflqhai tptlntlwin gqkienmpyq tlqqgdwli dsngngylit qaeqvnsrq
 841 hqvsakenr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmgema qkfrenngly
 901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvkn paivmthrpk dtlivsavtp
 961 dlnmtrqkaa tptvntin gkwqsadkns evkyqvsgdn teltsyfyg ipqeiklspl
 1021 pXX

SEQ ID NO: 39 Proteína NA60 ABCI (F₈₅-N₁₀₂₃)

flhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp

121 idgyltidfg eklistseaq agfkvkldft gwravgvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqf
 241 hnvkpqlpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklksdf dalnihtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqka
 361 qlkqmyllmt khllldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvysd
 421 llwysrefks sfdmkvsads sdldyfntls rqlhlalle pddqkrinlv ntfshtyitga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnspslks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseinykdnr

5

661 ygryqshgva qivsngsqli qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phtlmqrger
 721 gfsstssleg qygmmafnli ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vetlflqhai tptlntlwin gqkienmpyq tlqqgdwli dsngngylit qaeqvnsrq
 841 hqvsakenr qptegnfsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmgema qkfrenngly
 901 qvlrkdvdh iildklsnvt gyafyqpasi edkwikkvkn paivmthrpk dtlivsavtp
 961 dlnmtrqkaa tptvntin gkwqsadkns evkyqvsgdn teltsyfyg ipqeiklspl
 1021 pXX

SEQ ID NO: 40: Proteína NA60 CA80 ABCI (F₈₅-A₉₄₂)

filhkk livptdkeas kawgrsstpv fsfwlynekp
 121 idgyltidfg eklistseaq agfkvklft gwrvagvsln ndlenremtl natntssdgt
 181 qdsigrslga kvdsirfkp snvsqgeiyi drimfsvdda ryqwsdyqvk trlsepeiqf
 241 hnvkpqlpvt penlaaidli rqrlinefvg geketnlale enisklksdf dalnihtlan
 301 ggtqgrhlit dkqiiyqpe nlnsqdkqlf dnyvilgnyt tlmfnisray vlekdpqka
 361 qlkqmyllmt khldqgfvk gsalvtthhw gyssrwwyis tlmsdalke anlqtqvysd
 421 llwysrefks sfdmkvsads slddyfntls rqlalille pddqkrinlv ntfsheyitga
 481 ltqvppggkd glrpdgtawr hegnypgysf pafknasqli yllrdtpfsv gesgwnnlkk
 541 amvsawiysn pevglplagr hpfnsplks vaqgyywlam saksspdktl asiylaisdk
 601 tqnestaifg etitpaslpq gfyafnggaf gihrwqdkmv tlkayntnvw sseyinkdnr
 661 ygryqshgva qivsngsqs qgyqqegwdw nrmegattih lplkdldspk phltmqrger
 721 gfsqtsleg qygmmafni ypanlerfdp nftakksvla adnhlifigs ninssdknkn
 781 vetlhfqhai tptlntlwln gqkienmpyq tlqggdwli dsngngylit qaekvnvsrq
 841 hqvsaenknr qptegnffsa widhstrpkd asyeymvfld atpekmngema qkfrenngly
 901 qvlrkdkdvh iildklsvt gyafyqpasi edkwikkvkn pa

SEQ ID NO: 41: I. Secuencia de nucleótidos para TAT-ABCI-nΔ20:

1 ggtc gtaaaaagcg tcgtcaacgt cgtcgtctc ctcaatgcgc acaaaataac
 61 ccattagcag acttctcatc agataaaaac tcaataactaa cgttatctga taaacgtage
 121 attatgggaa accaatctct tttatggaaa tggaaagggtg gtagtagctt tactttacat
 181 aaaaaactga ttgtcccccac cgataaagaa gcatctaaag catggggacg ctcattccac
 241 cccgttttct cattttggtt ttacaatgaa aaaccgattg atggttatct tactatcgat
 301 ttcggagaaa aactcatttc aaccagttag gctcaggcag gctttaaagt aaaattagat
 361 ttcactggct ggcgtactgt gggagtctct ttaaataacg atcttgaaaa tcgagagatg
 421 accttaaatg caaccaatac ctctctctgat ggtactcaag acagcattgg gcgttcttta
 481 ggtgctaaag tcgatatgat tcgttttaaa gcgccttcta atgtgagtca ggggtgaaatc
 541 tatatcgacc gtattatgtt ttctgtcgat gatgctcgtt accaatggtc tgattatcaa
 601 gtaaaaaactc gcttatcaga acctgaaatt caatttcaca acgtaaagcc acaactacct
 661 gtaacacctg aaaatttagc ggccattgat ctatttcgcc aacgtctaat taatgaattt
 721 gtcggagggtg aaaaagagac aaacctcgca ttagaagaga atatcagcaa attaaaaagt
 781 gatttcgatg ctcttaatac tcacacttta gcaaatgggtg gaacgcaagg cagacatctg
 841 atcactgata aacaaatcat tatttatcaa ccagagaatc ttaactctca agataaaca
 901 ctatttgata attatgttat ttaggtaac tacacgacat taatgtttta tattagccgt
 961 gcttatgtgc tggaaaaaga tcccacacaa aaggcgcaac taaagcagat gtacttatta
 1021 atgacaaagc attattaga tcaaggcttt gtaaaaggga gtgctttagt gacnaccat
 1081 cactggggat acagttctcg ttggtggtat attccacgt tattaatgct tgatgcacta
 1141 aaagaagcga acctacaaac tcaagtttat gattcattac tgtggtattc acgtgagttt
 1201 aaaagtagtt ttgatatgaa agtaagtgtc gatagctctg atctagatta tttaataacc

1261 ttatctcgcc aacatttagc cttattacta ctagagcctg atgatcaaaa gcgtatcaac
 1321 ttagttaata ctttcagcca ttatatcact ggcgcattaa cgcaagtgcc accgggtggt
 1381 aaagatgggt tacgccctga tggtagacga tggcgacatg aaggcaacta tccgggctac
 1441 tcttccag cctttaaaaa tgcctctcag cttatttatt tattacgcga tacaccattt
 1501 tcagtgggtg aaagtgggtg gaatagcctg aaaaaagcga tggtttcagc gtggatctac
 1561 agtaatccag aagttggatt accgcttgca ggaagacacc ctcttaactc accttcgtta
 1621 aatcagtcg ctcaaggcta ttactggctt gccatgtctg caaaatcacc gcctgataaa
 1681 acacttgeat ctatttatct tgcgattagt gataaaacac aaaatgaatc aactgctatt
 1741 ttggagaaa ctattacacc agcgtcttta ctcaagggtt tctatgcctt taatggcggt
 1801 gcttttggtt ttcacgttg gcaagataaa atggtgacac tgaaagctta taacaccaat
 1861 gtttggtcat ctgaaattta taacaaagat aaccgttatg gccgttacca aagtcattggt
 1921 gtcgctcaaa tagtgagtaa tggctcgcag ctttcacagg gctatcagca agaaggttgg
 1981 gattggaata gaatgccagg ggcaaccact atccacctc ctcttaaga cttagacagt
 2041 cctaaacctc ataccttaat gcaacgtgga gacgctggat ttagcggaac atcatccctt
 2101 gaaggtcaat atggcatgat ggcatcgat cttatttacc ccgccaatct tgagcgttt
 2161 gatcctaatt tctctgcgaa aaagagtgtg ttagccgctg ataatactt aatttttatt
 2221 ggtagcaata taaatagtag tgataaaaat aaaaatgttg aaacgacctt attccaacat
 2281 gccattactc caacattaaa tacccttggg attaatggac aaaagataga aaacatgcct
 2341 tatcaacaaa cactcaaca aggtgattgg ttaattgata gcaatggcaa tggttactta
 2401 attactcaag cagaaaaagt aaatgtaagt cgccaacatc aggtttcagc ggaaaataaa
 2461 aatcgccaac cgacagaagg aaactttagc tcggcatgga tcgatcacag cactcgcccc
 2521 aaagatgcca gttatgagta tatggtcttt ttagatgcga cacctgaaaa aatgggagag
 2581 atggcacaaa aattccgtga aaataatggg ttatatcagg ttcttcgtaa ggataaagac
 2641 gtcatatta ttctcgataa actcagcaat gtaacgggat atgcctttta tcagccagca
 2701 tcaattgaag acaaatggat caaaaaggtt aataaacctg caattgtgat gactcatcga
 2761 caaaaagaca ctcttattgt cagtgcagt acacctgatt taaatatgac tcgccaacaaa
 2821 gcagcaactc ctgtcaccat caatgtcacg attaatggca aatggcaatc tgctgataaa
 2881 aatagtgaag tgaaatatca ggttctggt gataacactg aactgacgtt tacgagttac
 2941 ttggtattc cacaagaaat caaactctc cactccctt ga

SEQ ID NO: 42: II. Secuencia de aminoácidos para TAT-ABCI-nΔ20:

grkkrrrrppqcaqnnpladfssdknsiltlsdkrsimgnqslwkkgssftlhkklivptdkeaskawgrsstpvfsw
 lynekipidgyltidfgeklstseaagfkvklfdtgwrtvgvslndlenremtlnatntssdgtqdsigrslgkavdsirfkapsnv
 sqgeiyidrimfsvddaryqwsdyqvktlrlsepeiqlhvnkpqlpvtpenlaaidlrlqlinefvgeketnlaleenisklksdfl
 alnthtlanggtqgrhlitdkqiiyqpenlnsqdkqlfdnyvilgnyttlmfnisrayvlekdptqkaqlkqmyllmtkhllldqgv
 kgsalvtthhwgyssrwwyistllmsdalkeanlqtqvysllwysrefkssfdmkvsadssldyftlrsqhlallllepddqkr
 inlvntfshyitgaltqvppgkdglrpdgtawrhegnypgysfpafknasqliyllrdtpfsvgesgwslkkmvsauiysnp
 evglplagrhplnspslksvaqgyywlamsaksspdktlasiylaisdktqnestaifgetitpaslpqgyafnggafgihrwqdk
 mvtlkayntnvwssseiyndnrygryqshgvaqivsnqslsqgyqqegwdwnrmpgattihlplkdlldspkphltmqrger
 gfsqtsslegqygmmafdliypanlerfdpnftakksvlaadnhlfigsninssdknkvettlfqhaitptlntwingqkienm
 pyqtlqqgdwldsnngylitqaekvnvsrqhqvsaenknrqptegnssawidhstrpkdasieymvflidatpekmgema
 qkfrennglyqlrkdvdvhiildklsvtgyafyqpasiedkwikkvnpaivmthrqkdlivsavtpdlnmtrqkaatpvtin
 vtingkwqsadknsevkyqvsdnteltfysyfgipqeiklslp

SEQ ID NO: 43: II. Secuencia de nucleótidos para TAT-ABCI-nΔ60:

ggctgtaaaaagcgtcgtcaacgtcgtcgtcctcctcaatgctttactttacataaaaaactgattgtcccaccgataaagaagcatcta
aagcatggggacgctcatccaccccggtttctcattttggctttacaatgaaaaaccgattgatgggtatcttactatcgatttcggagaaa
aactcatttcaaccagtgaggctcaggcaggctttaaagtaaaattagatttactggctggcgactgtgggagctctttaaataacgat
cttgaataatcgagagatgaccttaaatgcaaccaatacctcctctgatgttactcaagacagcattggcggttctttaggtgctaaagtcg
atagtattcgttttaagcgccttctaattgtgagtcagggtgaaatctatatcgaccgtattatgtttctgtcgtatgctcgtaccaatg
gtctgattatcaagtaaaaactcgttatcagaacctgaaattcaatttcacaacgtaagccacaactacctgtaaacacctgaaaatttag
cggccattgatcttattcgcacacgtctaattaatgaattgtcggaggtgaaaaagagacaaacctgcattagaagagaatatcagca
aattaaaaagtgatttcgatgcttctaatactcacactttagcaaatgttggaacgcaaggcagacatctgacactgataaacaatcatt
atttatcaaccagagaatcttaactctcaagataaacaactatttgataattatgtatttttagtaattacacgacattaatgtttaatttagc
cgtgcttatgtcgtgaaaaagatcccacacaaaaggcgcaactaaagcagatgtacttattaatgacaaagcatttatttagatcaaggc
tttgtaaaaggagtgcttttagtgacnaccatcactggggatacagttctcgttggtggtatatttcacgttattaatgtctgatgactaa
aagaagcgaacctacaaactcaagtttattgattcattactgttggtattcacgtgagtttaaaagtagttttgatagaaagtaagtgctgata
gctctgatctagattatttcaataccttatctcgcacacatttagccttattactactagagcctgatgatcaaaagcgtatcaacttagttaat
actttcagccattatatacactggcgcaattaacgcaagtgccaccgggtggttaagatggtttacgccctgatggttacagcatggcgacat
gaaggcaactatccgggctactcttccagcctttaaataatgcctctcagcttatttattttacgcgatacaccattttcagtggttgaa
agtgttggaatagcctgaaaaagcgtatggttcagcgtggatctacagtaatccagaagttggattaccgcttgaggaagacaccc
tcttaactcaccttcgttaaaatcagtcgctcaaggcttattactggcttgccatgtctgcaaaatcgcctgataaaacacttgcatctatt
tatcttgcgattagtataaaacacaaaatgaatcaactgctatttttgagaaactattacaccagcgtcttacctcaaggtttctatgcct
ttaatggcgggtgcttttggtattcatcgttggaagataaaatggtgacactgaaagccttataacaccaatgtttggtcatctgaaattataa
caaagataaccgttatggcgttaccaaaagtcagtgctgctcaaatagttagtaatggctcgcagcttcacagggttatcagcaag
aaggttgggattggaatagaatgccaggggcaaccactatccactcctcttaaagacttagacagtcctaaacctataccttaattgc
aacgtggagagcgtggattagcggaaacatcatccttggaaggtcaatatggcatgatggcattcgtatttattatcccgcaactctga
gcgttttgatcctaatttcactgcgaaaaagagtgtattagccgctgataatcacttaattttattgtagcaatataaatagtagtataaa
aataaaaatgttgaacgaccttattccaacatgccattactccaacattaataacctttggattaatggacaaaagatagaaaacatgc
cttatcaaacacacttcaacaaggtgattggttaattgatagcaatggcaatggttacttaattactcaagcagaaaaagtaaatgtaagt
cgccaacatcaggtttcagcgaaaaataaaaatcgccaaccgacagaaggaaacttagctcggcatggatcgcacagcactcgc
cccaagatgccagttatgagtatatgtctttttatagtcgcacacctgaaaaaatggagagatggcacaaaaatccgtgaaaataat
gggttatatcaggttcttgaagataaagacgttcatatttctcgtataaactcagcaatgtaacgggatagccttttatcagccagca
tcaattgaagacaaatggatcaaaaaggtaataaacctgcaattgtgatgactcatcgacaaaaagacactcttattgtcagtgagtta
cacctgatttaaatatgactcgccaaaaagcagcaactcctgtcacatcaatgtcacgattaatggcaaatggcaatctgctgataaaa
atagtgaagtgaatatcaggtttctggtgataaacactgaactgacgtttacgagttactttggtattccacaagaatacaactctcgcca
ctccctga

SEQ ID NO: 44: IV. Secuencia de aminoácidos para TAT-ABCI-nΔ60

grkkrqrrppqcfllhklivptdkeaskawgrsstpvfsfwlynekpdygidfgeklstseaqagfkvklfdtgrwrtvgvsl
nndlenremtlnatntssdgtqdsigrslgakvdsirfkapsnvsqgeiyidrimfsvddaryqwsdyqvktrlsepeiqlhvnkp
qlpvtpenlaaidlirqlinefvggeketnlaleenisklksdfdalnthtlanggtqgrhlitdkqiiyyqpenlnsqdkqlfdnyvil
gnyttlmfnisrayvlekdptkqaqlkqmyllmtkhlldqgfvkgsalvtthhwgyssrwwyistllmsdalkeanlqtqvysll
wysrefkssfdmkvsadssldyfnltsrqhlallllepddqkrinlvntfshyitgaltqvppgkdgldrpdgtawrhegnypgys
fpafknasqliyllrdtpfsvgesgwslkkmvsauiysnpevgplagrhplnspslksvaqgyywlamsaksspdktlasiy
laisdktqnestaifgetitpaslpqgfyaftggafgihrwqdkmvtlkayntnvwseiyndnrygryqshgvaqivsnsgsls
qgyqqegwdwnrmpgattihlplkdldspkphltmqrgergfsgtsslegqygmmafdliypanlerfdpnftakksvlaadn
hlifigsninssdknknvettlfqhaitptlntwingqkienmpyqtlqqgdwldsnngylitqaekvnvsrqhqvsaenknr
qptegnfsawidhstrpkdasyeymvflatpekmgemaqkfrennglyqvlrkdkdvhilddklsnvtgyafyqpasiedk
wikkvnpaivmthrqkdtlivsavgtpdlmtrqkaatpvtinvtingkwqsadknsevkyqvsgdnteltfysyfgipqeiklsp
lp

SEQ ID NO: 45: V. Secuencia de nucleótidos para ABCI-TAT-C:

gccaccagcaatcctgcatttgatcctaaaaatctgatgcagtcagaaatttaccattttgcacaaaataaccattagcagacttctatc
 agataaaaactcaataactaacgttatctgataaacgtagcattatgggaaccaatctctttatggaaatggaaaggtagtagcttta
 ctttacataaaaaactgattgtcccaccgataaagaagcatctaaagcatggggacgctcatccacccccgtttctcattttggcttac
 aatgaaaaaccgattgatgggtatcttactatcgatttcggagaaaaactcatttcaaccagtgaggctcaggcaggctttaaagtaaaat
 agatttcactggctggcgtactgtgggagctctttaaataacgacttgaataatcgagagatgaccttaaatgcaaccaataacctctctg
 atggactcaagacagcattggcgcttcttaggtgctaaagtcgatatctgatttcgttttaaagcgcttctaatgtgagtcagggtgaaatc
 tatatcgaccgtattatgtttctgtcgtatgctcgtaccatggctgattatcaagtaaaaactcgcttatcagaacctgaaattcaatt
 tcacaacgtaaagccacaactacctgtaacacctgaaaatttagcggccattgacttattcgccaacgtctaattaatgaattgtcggag
 gtgaaaaagagacaaacctgcattagaagagaataatcagcaataaaaaagtgtttcgtatgcttctaatactcacactttagcaaatg
 gtggaacgcaaggcagacatctgactgataacaaatcatttattatcaaccagagaatcttaactctcaagataaacaactatttgat
 aattatgttatttttaggtaattacacgacattaatgttataattagccgtgcttattgtgctggaaaaagatcccacacaaaaggcgcaacta
 aagcagatgtacttataatgacaaagcatttattagatcaaggcttgttaaaggagtgcttttagtgacnaccatcactggggataca
 gtctcgttggtgttatatttccacgttattaatgtctgatgcactaaaagaagcgcaacctacaaaactcaagtttatgattcattactgtggtat
 tcacgtgagtttaaagtagttttgatagaaagtaagtgtgatagctctgatctagattatttcaataccttatctcgccaacatttagcctt
 attactactagagcctgatgatcaaaagcgtatcaacttagttaatactttcagccattatatcactggcgcaattaacgcaagtgcaccggg
 gtggtaaagatgggttacccctgatgttacagcatggcgacatgaaggcaactatccgggctactcttccagcctttaaataatgcct
 ctacgttatttatttattacgcgatacaccatttccagtggtgaaaagtgttggaatagcctgaaaaagcgatggttcagcgtggtatc
 acagtaatccagaagtgtgattaccgctgcaggaagacacctcttaactcaccttcgttaaaatcagtcgctcaaggctattactggct
 tgcctgtctgcaaaatcatcgctgataaaacacttgcacttatttcttgcgattagtataaaacacaaaatgaatcaactgctattttt
 ggagaaactattacaccagcgtcttacctcaaggttctatgcctttaaaggcgttctttgtattcatcgttgcaagataaaatgggtg
 acactgaaagcctataacaccaatgtttgtcatctgaaattatacaaaagataaccgttatggcgttaccaaaagtcagtgctgctca
 aatagtgaataatggctgcagctttcacagggtatcagcaagaaggtgggattggaatagaatgccaggggcaaccactatccac
 ctctcttaaaagacttagacagtcctaaacctatccttaaatgaacgtggagagcgtggatttagcggaaacatcatcccttgaaggct
 aatatggcatgatggcattcgtcttattatcccgccaatcttgagcgttttgatcctaatttactgcgaaaaagagtgtattagccgtg
 ataactacctaattttattgtagcaatataatagtagtgataaaaaataaaatgttgaacgacctatttccaacatgccattactccaac
 attaaatacccttggattaatggacaaaagatagaaaacatgccttatcaacaacacttcaacaaggtgattggttaattgatagcaatg
 gcaatggttacttaattactcaagcagaaaaagtaaatgtaagtcgccaacatcaggtttcagcggaaaaataaaatcgccaaccgaca
 gaaggaaaactttagctcggcatggatcgtacacagcactcgcccaaatgagtgccagttatgagtatatggcttttttagatgcgacac
 gaaaaaatgggagagatggcacaataatccgtgaaaaataatgggttatcaggttcttgtaaggataaaagacgttcattatttctcg
 ataaactcagcaatgtaacgggatatgcctttatcagccagcatcaattgaagacaaatggtatcaaaaagggttaataaactgcaattgt
 gatgactcatcgacaaaaagacactcttattgtcagtgagttacacctgattaaatgactcgccaaaaagcagcaactcctgtcacc
 atcaatgtcacgattaatggcaaatggcaatctgtgataaaaatagtgaaagtgaatatcaggtttctggtgataaactgaactgacgt
 ttacgagttactttgtatttcacaagaatcaaacctctgccactccct
 ggtcgtaaaaagcgtcgtcaacgtcgtcgtcctcctcaatgctag

SEQ ID NO: 46: V. Secuencia de aminoácidos para ABCI-TAT-C:

atsnpafdpknlmqseiyhfaqnpladfsdksniltldskrsimgnqslwkwkggssflhkkliivptdkeaskawgrstpv
 fsfwlynekpdpidyltidfgeklstseaqagfkvlldftgwrtvgvslndlenremtlnatntssdgtqdsigrslgakvdsirfka
 psnvsqgeiyidrimfsvddaryqwsdyqvktlrlsepeiqlfhnvbkpqlpvtpenlaaidlrqlrlinefvggeketnlaleenisklk
 sdfdalnthtlanggtqgrhlitdkqiiyqpenlnsqdkqlfdnyvilgnyttlmfnisrayvlekdpqkaqlkqmyllmtkhlld
 qgfvkgsalvtthhwgyssrwwyistllmsdalkeanltqvdydslwysrefkssfdmkvsadssldyfnltsrqhlallllepd
 dqkrinlvntfshyitgaltqppgkdglrpdgtawrhgnypgysfpafknasqliyllrdtpfsvgesgwnslkkamvsawi
 ysnpevglplagrhlplnspslksvaqgyywlamsaksspdktlasiylaisdktqnestaifgetitpaslpqgyafnggafgihr
 wqdkmvtlkayntnvwssseiyknknrygryqshgvaqivsnsgslsqgyqqegwdwnrmpgattihlplkdlldspkphtlm
 qrgerfgsfgtsslegqygmmafddliypanlerfdpnftakksvlaadnhlifgsninssdknknvettlfqhaitptlntlwinqki

enmpyqtlqqgdwlidsngngylitqaekvnvsrqhqvsanenknrqptegnssawidhstrpkdasieymvfladatpekm
 gemaqkfrennglyqvlrkdvdhiildklsvntgyafyqpasiedkwikkvknkpaivmthrqkdtlsvavtpdlnmtrqkaa
 tpvtinvtingkwqsadknsevykqvsgdnteltfisyfipqeiklsplprkkrqrrppqc

SEQ ID NO: 47 Secuencia de nucleótidos para condroitinasa ABC I-nΔ20

gc acaaaataac
61 ccattagcag acttctcacc agataaaaaac tcaataactaa cgttatctga taaacgtagc
121 attatgggaa accaatctct tttatggaaa tggaaagggtg gtagtagctt tactttacat
181 aaaaaactga ttgtcccccac cgataaagaa gcactctaaag catgggggacg ctcattccacc
241 cccgttttct cattttggct ttacaatgaa aaaccgattg atggttatct tactatcgat
301 ttgggagaaa aactcatttc aaccagttag gctcaggcag gctttaaagt aaaattagat
361 ttactggctt ggcgtactgt gggagtctct ttaaataacg atcttgaaaa tcgagagatg
421 accttaaatg caaccaatac ctctctgat ggtactcaag acagcattgg gcgttcttta
481 ggtgctaaag tcgatagtat tcgttttaaa gcgccttcta atgtgagtca gggtgaaatc
541 tatatcgacc gtattatgtt ttctgtcgat gatgctcgct accaatgggtc tgattatcaa
601 gtaaaaaactc gcttatcaga acctgaaatt caatttcaca acgtaaagcc acaactacct
661 gtaacacctg aaaatttagc ggccattgat cttattcgcc aacgtctaat taatgaattt
721 gtcggagggtg aaaaagagac aaacctcgca ttagaagaga atatcagcaa attaaaaagt
781 gatttcgatg ctcttaatac tcacacttta gcaaatgggtg gaacgcaagg cagacatctg
841 atcactgata aacaaatcat tatttatcaa ccagagaatc ttaactctca agataaacia
901 ctatttgata attatgttat ttaggtaat tacacgacat taatgtttaa tattagccgt
961 gcttatgtgc tggaaaaaga tccacacaa aaggcgcaac taaagcagat gtacttatta
1021 atgacaaagc atttattaga tcaaggcttt gttaaaggga gtgctttagt gacnacccat
1081 cactggggat acagtctctg ttggtggtat atttcacgt tattaatgtc tgatgcacta
1141 aaagaagcga acctacaaac tcaagttat gattcattac tgtggtattc acgtgagttt
1201 aaaagtagtt ttgatatgaa agtaagtct gatagctctg atctagatta ttcaatacc
1261 ttatctcgcc aacatttagc cttattacta ctagagcctg atgatcaaaa gcgtatcaac
1321 ttagttaata ctttcagcca ttatcact gcgcattaa cgcaagtgc accgggtggt
1381 aaagatggtt tacgcctga tggtagcga tggcgacatg aaggcaacta tccgggctac
1441 tcttcccag cctttaaaaa tgcctctcag cttatttatt tattacgcga tacaccattt
1501 tcagtgggtg aaagtgggtg gaatagcctg aaaaaagcga tggtttcage gtggatctac
1561 agtaatccag aagttggatt accgcttga ggaagacacc ctcttaactc accttcgtta
1621 aatcagtcg ctcaaggcta ttactggctt gccatgtctg caaatcacc gcctgataaa
1681 acacttgcac ctatttatct tgcgattagt gataaaacac aaaatgaatc aactgctatt
1741 ttggagaaa ctattacacc agcgtcttta cctcaagggt tctatgcctt taatggcggt
1801 gcttttggtt ttcatcggtt gcaagataaa atggtgacac tgaaagctta taacaccaat
1861 gtttggtcat ctgaaattta taacaaagat aaccgttatg gccgttacca aagtcattgt
1921 gtcgtcaaaa tagtgagtaa tggctcgag ctttcacagg gctatcagca agaaggttgg
1981 gattggaata gaatgccagg ggcaaccact atccaccttc ctcttaaaaga cttagacagt
2041 cctaaacctc ataccttaat gcaacgtgga gagegtggat ttacgggaac atcatccctt
2101 gaaggtcaat atggcatgat ggcattcgat cttatttacc ccgccaatct tgagcgtttt
2161 gatcctaatt tcaactgcga aaagagtgt ttagccgctg ataactactt aatttttatt
2221 ggtagcaata taaatagtag tgataaaaat aaaaatgttg aaacgacctt attccaacat
2281 gccattactc caacattaaa tacccttttg attaatggac aaaagataga aaacatgcct
2341 tatcaaaaaa cactcaaca aggtgatttg ttaattgata gcaatggcaa tggttactta
2401 attactcaag cagaaaaagt aatgttaagt cgccaacatc aggtttcagc ggaaaaataa
2461 aatcgccaac cgacagaagg aaacttagc tcggcatgga tcgatcacag cactcgcctc
2521 aaagatgcca gttatgagta tatggtcttt ttgatgcga cactgaaaa aatgggagag
2581 atggcacaaa aattccgtga aaataatggg ttatcagag ttcttcgtta ggataaagac

2641 gttcatatta ttctcgataa actcagcaat gtaacgggat atgccttta tcagccagca
 2701 tcaattgaag acaaatggat caaaaagggt aataaacctg caattgtgat gactcatoga
 2761 caaaaagaca ctcttattgt cagtgcagtt acacctgatt taaatatgac tcgccaaaaa
 2821 gcagcaactc ctgtcaccat caatgtcagc attaatggca aatggcaatc tgcgtataaa
 2881 aatagtgaag tgaaatatca ggtttctggt gataaacctg aactgacgtt tacgagttac
 2941 ttgtgtatfc cacaagaaat caaactctcg ccactccctt ga

SEQ ID NO: 48: II. Secuencia de nucleótidos para ABCI-nΔ60:

ttactttacataaaaaactgattgtccccaccgataaagaagcatctaaagcatggggacgctcatccacccccgtttctcattttggctt
 tacaatgaaaaaccgattgatggttatcttactatcgatttcggagaaaaaactcatttcaaccagtgaggctcaggcaggctttaagtaa
 aattagatttactggtcggctgactgtgggagctctttaaataacgatcttgaatacgcagagatgaccttaaatgcaaccaataacctcc
 tctgatggtactcaagacagcattgggcgttcttaggtgctaaagtcgatatgttctttaaagcgcttctaagtgtgagtcagggtga
 aatctatatcgaccgtattatgtttctgtcgtatgctcgtaccatggtctgattatcaagtaaaaactcgcttatcagaacctgaaatt
 caatttcacaacgtaaagccacaactacctgtaacacctgaaaatttagcgccattgacttattcgccaacgtctaattaatgaattgtc
 ggaggtgaaaaagagacaaacctcgcattagaagagaatatcagcaaatfaaaaagtattcgtatgcttctaatactcacactttagca
 aatggtggaacgcaaggcagacatctgatcactgataaacaatcattattatcaaccagagaatcttaactcicaagataaacaactat
 ttgataattatgttatttttaggtaattacacgacattaatgtttaatatagccgttctgtgctggaagagatccacacaaaaggcgca
 actaaagcagatgtacttattaatgacaaagcatttattagatcaaggcttgttaaaggagtgcttttagtgacnaccatcactggggat
 acagtctcgttgggtgataattccacgttattaatgtctgatgcactaaaagaagcgaacctacaaactcaagttatgattcattactgtg
 gtattcacgtgagtttaaaagtagtttgatagaaagtaagtgtctgatgctctgatctagattattcaataccttatctcgccaacattag
 ccttattactactagagcctgatgatcaaaagcgtatcaacttagttaatactttcagccattatatactggcgcaattaacgcaagtccac
 cgggtggtaagatggtttacgccctgatggtacagcatggcgacatgaaggcaactatccgggctactcttccagcctttaaaaat
 gcctctcagcttatttatttattacgcgatacaccattttcagtggtgaaagtgttggaatagcctgaaaaaagcgtatggttcagcgtg
 gatctacagtaaatccagaagtggattaccgcttcgaggaagacacctcttaactcaccttcgttaaaatcagtcgctcaaggcttact
 ggcttgccatgtctgcaaaatcctgcctgataaaacacttgcactatttattcttgcgattagtgataaaacacaaaatgaatcaactgcta
 ttttgagaaaactattacaccagcgtctttacctaaggtttctatgcctttaatggcggtgcttttggtattcatcgttggaagataaaatg
 gtgacactgaaagccttataacaccaatgtttggtcatctgaaattatacaaaagataaccgttatggcgttaccaaagtcagtggtcgc
 tcaaatagtgagtaatggctcgcagctttcacagggtcatcagcaagaaggttgggattggaatagaatgccaggggcaaccactatc
 caccttctcttaagacttagacagctcctaaacctataccttaattgcaacgtggagagcgtggatttagcgggaacatcctccttgaag
 gtcaatatggcatgatggcattcgatcttatttaccgccaatcttgagcgtttgatcctaatttcactgcgaaaaagagtgatttagccg
 ctgataatcacttaattttattgtagcaatataaatagtagtataaaaaataaaatgttgaacgaccttattccaacatgccattactcc
 aacattaaataccctttggattaatggacaaaagatagaaaacatgccttatcaacaacacttcaacaaggtgattggttaattgatagc
 aatggcaatggttacttaattactcaagcagaaaaagtaaatgtaagtcgccaacatcaggttcagcggaataaaaaatcgccaacc
 gacagaaggaaactttagctcggcatggatcgtacagcactcgcacaaagatgccagttatgagtatatggtcttttagatgcgac
 acctgaaaaaatgggagagatggcacaaaaattccgtgaaaataatgggttatatcaggttctcgttaaggataaagacgttcatattat
 ctgataaactcagcaatgtaacgggatagcctttatcagccagcatcaattgaagacaaatggatcaaaaagggttaataaacctgca
 attgtgatgactcatcgacaaaaagacactcttattgtcagtgacgttacacctgatttaaatgactcgccaaaaagcagcaactcctgt
 caccatcaatgtcacgattaatggcaaatggcaatctgctgataaaaaatagtgaaagtgaatatcaggtttctggtgataacactgaactg
 acgtttacgagttactttggtattccacaagaaatcaaaactctcgccactcccttga

SEQ ID NO: 49: Secuencia de nucleótidos para TAT

5

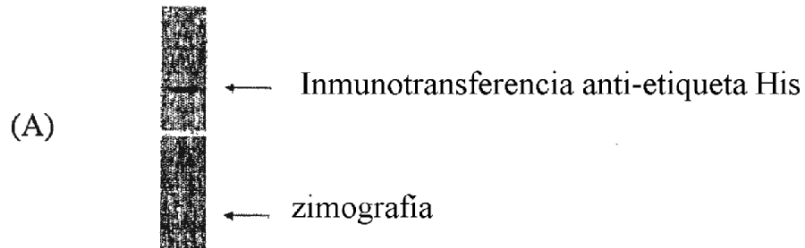
ggctgtaaaaagcgtcgtcaacgtcgtcgtcctcctcaatgc

(SEQ ID NO. 50) Secuencia de nucleótidos para un péptido de TAT grkkrrqrrppqc

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I purificado que degrada un proteoglicano, seleccionándose dicho polipéptido entre la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, en donde el polipéptido retiene su actividad degradante de proteoglicanos.
- 5 2. El polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I purificado de la reivindicación 1, en donde el polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I purificado es la SEQ ID NO: 4.
3. Una proteína de fusión que comprende el polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I de la reivindicación 1 o la reivindicación 2.
- 10 4. El polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I purificado de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que incluye además moléculas que bloquean la acción de los inhibidores del crecimiento de neuritas, moléculas que promueven la adhesión de neuritas, moléculas terapéuticas, moléculas diagnósticas o una combinación de las mismas.
- 5 5. Una composición que comprende un polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I según la reivindicación 1 o la reivindicación 2.
- 15 6. La composición de la reivindicación 5, que además comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable.
7. La composición de la reivindicación 5, que además comprende un portador farmacéutico.
8. La composición de la reivindicación 5, que además incluye moléculas que bloquean la acción de los inhibidores del crecimiento de neuritas, moléculas que promueven la adhesión de neuritas, moléculas terapéuticas, moléculas diagnósticas o una combinación de las mismas.
- 20 9. Una célula genéticamente modificada que expresa el polipéptido mutante de condroitinasa ABC de tipo I de la reivindicación 1 o la reivindicación 2.
10. La proteína de fusión de la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión comprende la SEQ ID NO: 42 o la SEQ ID NO: 44.
- 25 11. Una composición farmacéutica que comprende una proteína de fusión de la reivindicación 3 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
12. La composición de la reivindicación 11, que además comprende un portador farmacéutico.

Transferencia de Western de anti-etiqueta His (parte superior) y zimograma (parte inferior) que demuestran la expresión y actividad del mutante de eliminación NΔ120 CΔ120 de condroitinasa B



Transferencia de Western de anti-etiqueta His (parte superior) y zimograma (parte inferior) que demuestran la expresión y actividad del mutante de eliminación NΔ50 CΔ275 de condroitinasa AC

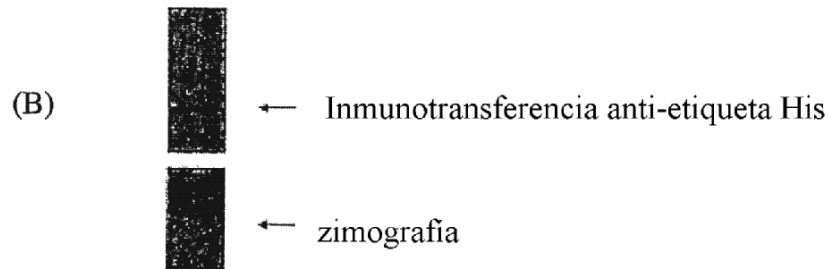


FIG. 1

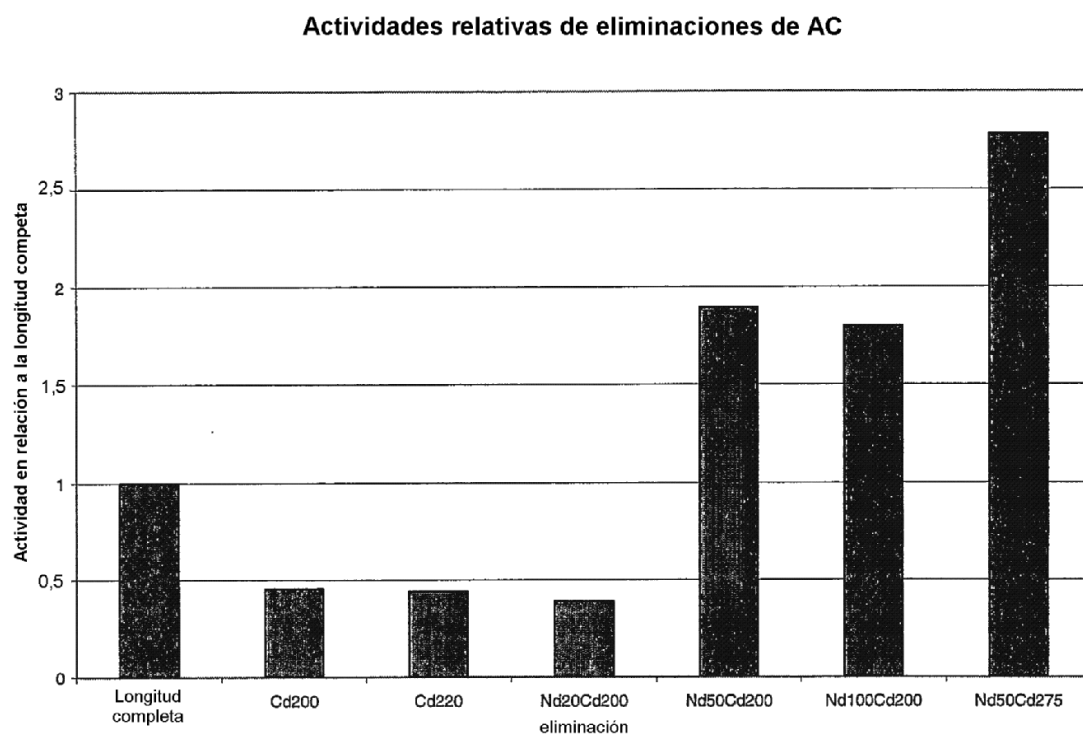
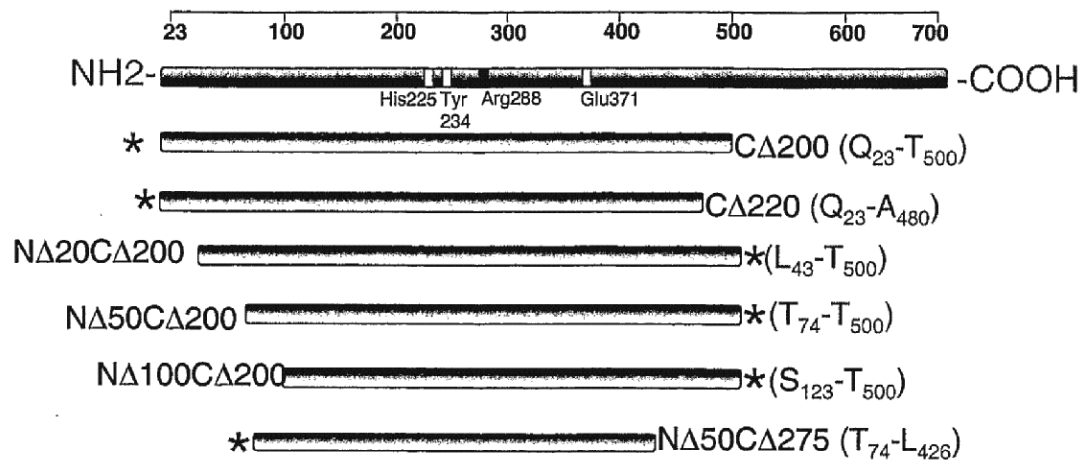
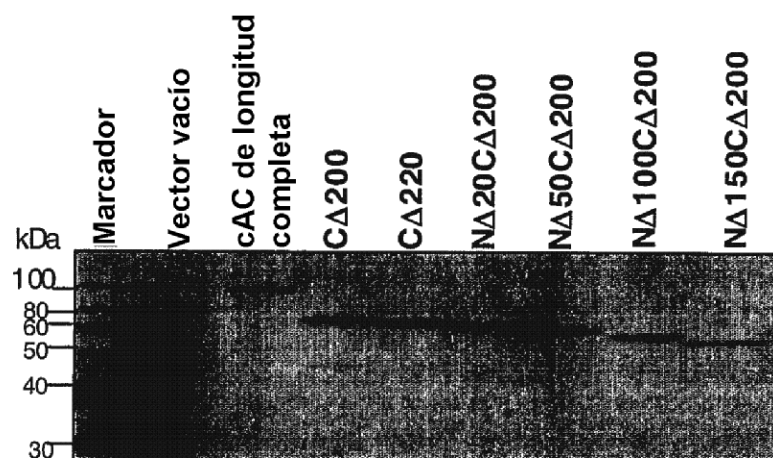


FIG. 2



(A)

Confirmación de la expresión de mutantes de eliminación de condroitinasa AC mediante transferencia de Western



(B)

FIG. 3

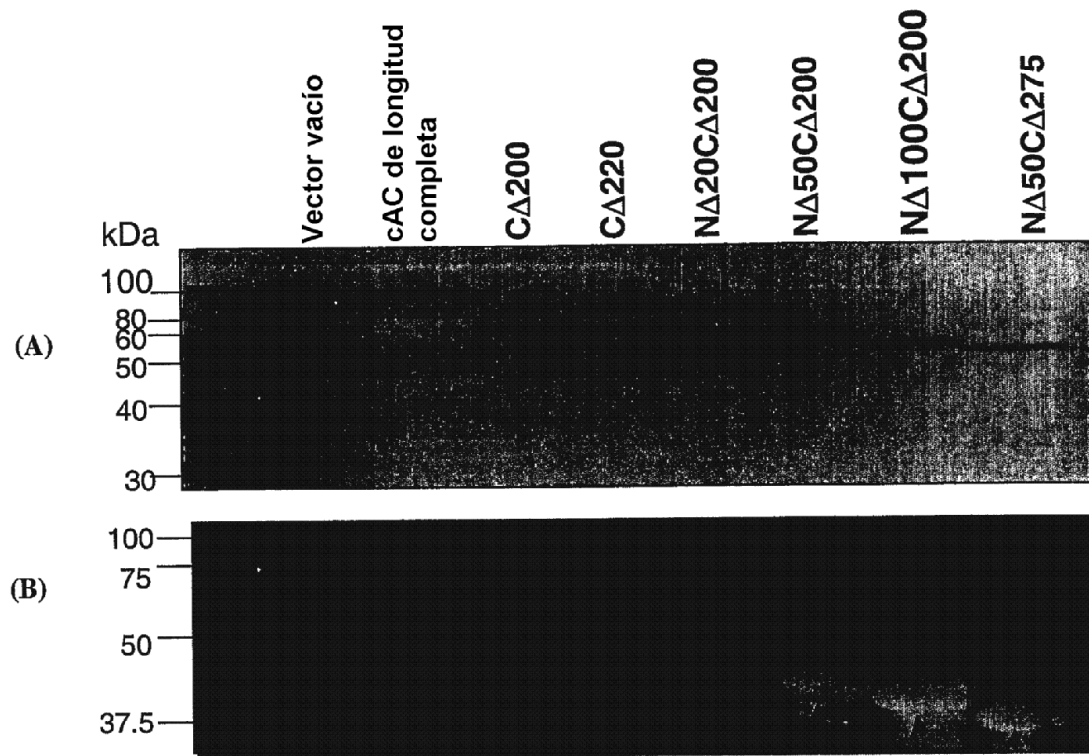


FIG. 4

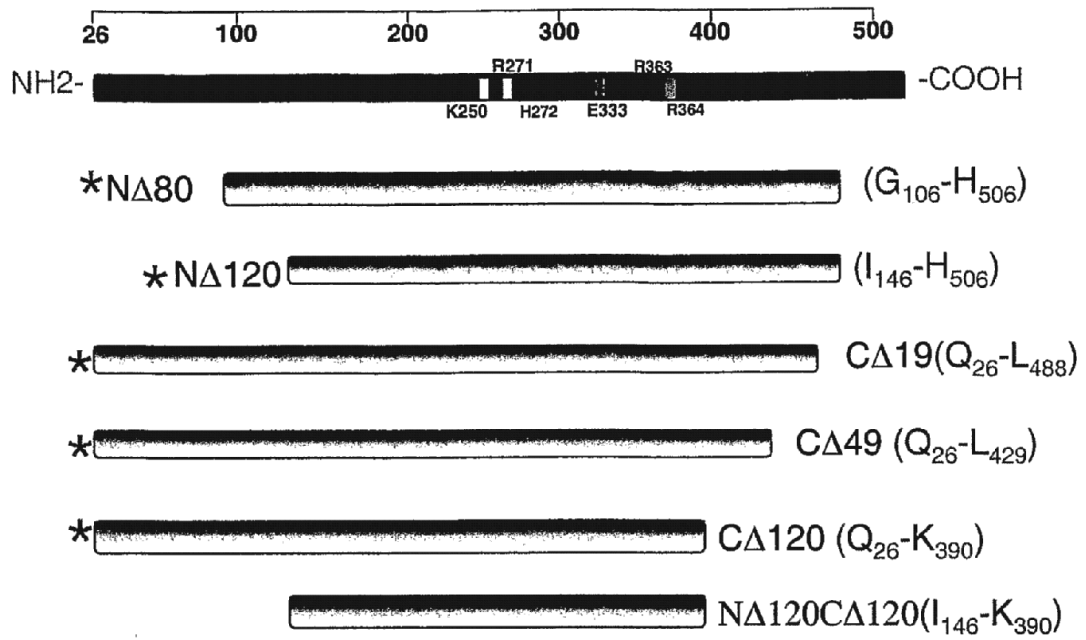


FIG. 5

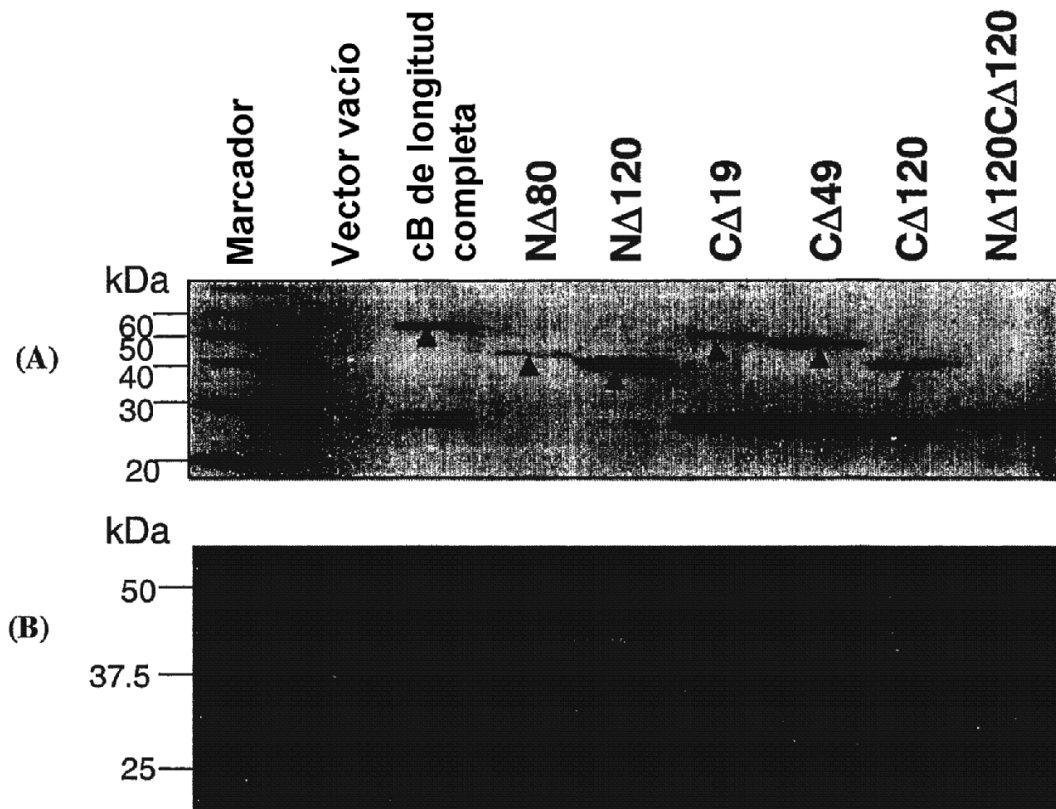


FIG. 6

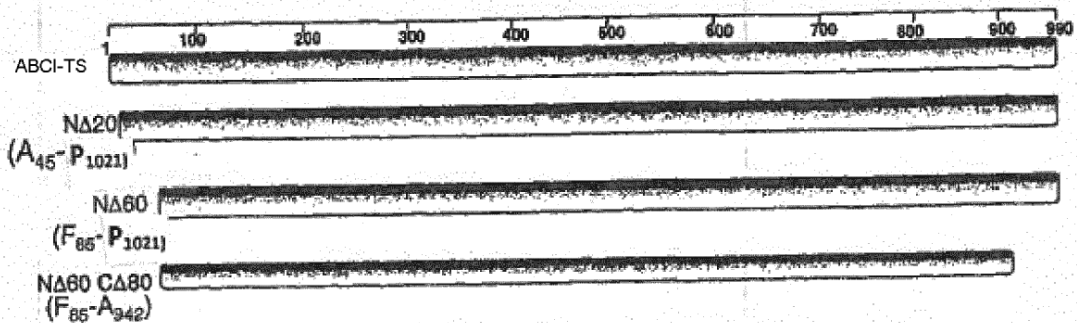


FIG. 7