

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 634 651**

51 Int. Cl.:

C12N 9/02 (2006.01)

C12N 15/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.09.2012** **PCT/FI2012/050884**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.03.2013** **WO13038062**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2012** **E 12831162 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017** **EP 2756076**

54 Título: **Variantes de enzima con propiedades mejoradas**

30 Prioridad:

15.09.2011 US 201161535032 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.09.2017

73 Titular/es:

METGEN OY (100.0%)
Rakentajantie 26
20780 Kaarina, FI

72 Inventor/es:

BIRIKH, KLARA y
AZHAYEV, ALEXEY

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 634 651 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

Variantes de enzima con propiedades mejoradas

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a variantes de lacasa y a usos de las mismas como biocatalizadores respetuosos con el medioambiente en diversos procesos industriales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Las lacasas (EC 1.10.3.2) son enzimas que tienen una amplia distribución taxonómica y que pertenecen al grupo de las oxidasas multicobre. Las lacasas son catalizadores respetuosos con el medioambiente, que usan oxígeno molecular del aire para oxidar diversos compuestos relacionados con lignina fenólicos y no fenólicos, además de contaminantes medioambientales altamente persistentes, y producen agua como el único producto secundario. Estos catalizadores "verdes" naturales se usan para diversas aplicaciones industriales que incluyen la desintoxicación de efluentes industriales, principalmente de las industrias del papel y la pulpa, textiles y petroquímicas, se usan como agente de biorremediación para limpiar herbicidas, pesticidas y ciertos explosivos en la tierra. Las lacasas también se usan como agentes de limpieza para ciertos sistemas de purificación de agua. 15 Además, su capacidad para eliminar sustancias xenobióticas y producir productos poliméricos hace que sean una herramienta útil para fines de biorremediación. Otra gran área de aplicación de las lacasas es el pretratamiento de biomasa en la industria del biocombustible y la pulpa y el papel.

20 Las lacasas tienen especificidad de sustrato y pueden oxidar muchos compuestos de sustrato diferentes. Debido a las propiedades químicas de los sustratos, llegan a oxidarse más fácilmente a diferentes condiciones de pH, bien alcalino o bien ácido. Por otra parte, el ventajoso intervalo de pH de acción de las diferentes lacasas puede variar, que significa que tienen una preferencia por sustratos dentro de ese intervalo. Por ejemplo, se sabe que parientes de CotA lacasa funcionan mejor en condiciones ácidas.

25 Un intervalo de pH operativo más amplio sería una característica importante en las lacasas, especialmente en agua residual y aplicaciones de remediación, ya que la acidez de estos entornos puede variar significativamente. Esta característica también es crítica para los procesos de pre-tratamiento de biomasa, que en ciertos casos se llevan a cabo bajo condiciones alcalinas. Así, existe una necesidad identificada en la materia de desarrollar variantes de lacasa que tengan un intervalo de acción de pH más ancho.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

30 En un aspecto, la presente divulgación se refiere a variantes de lacasa, que comprenden un resto de glutamina situado dentro de la distancia de 6 Angstrom (Å) al ión de cobre de tipo 1 en la estructura tridimensional de la variante de lacasa.

35 Como se describe en el presente documento, la variante de lacasa puede comprender una secuencia de aminoácidos que muestra al menos el 50 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, y SEQ ID NO:5, que comprende al menos una variante de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en glutamina (Q) en una posición que se corresponde con la posición 386 de la secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID NO:3 y una secuencia de prolina-triptófano-fenilalanina (PWF) en una posición que se corresponde con la posición 487-489 de la secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID NO:3.

40 Como se muestra en el presente documento, las presentes variantes de lacasa tienen una elevada actividad enzimática en condiciones alcalinas en comparación con la de una enzima de control correspondiente que carece de dichas variantes de aminoácidos.

La presente invención también se refiere a moléculas de ácidos nucleicos que codifican las presentes variantes de lacasa, vectores que comprenden dichas moléculas de ácidos nucleicos, y células hospedadoras recombinantes que comprenden dicho vector.

45 Como también se describió en el presente documento, la invención se refiere a un método de producción de las presentes variantes de lacasa. El método comprende las etapas de i) cultivar una célula hospedadora recombinante según la presente invención en condiciones adecuadas para la producción de la variante de lacasa, y ii) recuperar la variante de lacasa obtenida.

50 En otros aspectos, la invención se refiere a diversos usos de las presentes variantes de lacasa, especialmente en la designificación de pulpa, blanqueamiento de tintes textiles, purificación de agua residual y desintoxicación xenobiótica.

Otras realizaciones específicas, objetivos, detalles y ventajas de la invención se exponen en las reivindicaciones dependientes, siguientes dibujos, descripción detallada y ejemplos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

A continuación, la invención se describirá en mayor detalle por medio de realizaciones preferidas con referencia a los dibujos adjuntos, en los que

5 La Figura 1 es una representación esquemática de sitios de cobre T1 (Cu1) y T2/T3 (Cu4/Cu2-Cu3) de lacasa CotA de *Bacillus subtilis* con distancias indicadas entre los átomos más importantes (adoptado de Enguita et al., "Crystal Structure of a Bacterial Endospore Coat Component", J. Biol. Chem., 278, 19416-19425, 2003). El área de la mutación MUT1 se indica por el óvalo discontinuo.

10 La Figura 2 muestra la estructura tridimensional del entorno del ligando del sitio de Cu1 en el radio de 6Å elucidado de estructuras cristalinas de cuatro lacasas evolutivamente distantes (proteína COTA de *Bacillus Subtilis*, lacasa de *Streptomyces coelicolor*, lacasa CuEO de *E. coli* y lacasa de *Trametes trogii*). Números de acceso respectivos en Structure Data Base 1 UVW, 3KW8, 2FQD y 1KYA. La numeración de restos en la estructura cristalina de lacasa de *B. subtilis* es 9 restos menos que la proteína de tamaño completo (faltaba un fragmento pequeño del extremo N de la proteína cristalizada). Un resto correspondiente a la glutamina 368 se representa en negro.

15 La Figura 3 muestra un alineamiento de las dos regiones conservadas que contiene ligandos de cobre T1 derivados de lacasas evolutivamente distantes (proteína COTA de *Bacillus Subtilis*, lacasa de *Streptomyces coelicolor*, lacasa CuEO de *E. coli* y lacasa de *Trametes trogii*). Estructuras cristalinas correspondientes de Cu1 de alrededor se presentan en la Fig. 2. Flechas vacías indican las posiciones de ligandos Cu-1, la flecha negra indica ligando axial. El panel C muestra solo una lista de las secuencias que rodean la sustitución Q386 (M1) identificada a partir de las estructuras 3D. La posición M1 está enmarcada.

20 La Figura 4 muestra un alineamiento múltiple de secuencias de aminoácidos que están relacionadas con COT1 (SEQ ID NO:1) y COT2 (SEQ ID NO:2) y se identificaron en una búsqueda de Blast.

25 La Figura 5 muestra una representación esquemática de introducir MUT1 en el gen de lacasa de tipo 2 de *Bacillus pseudomycolides*. Los Cebadores 1 y 2 representan regiones terminales del gen recombinante. Los Cebadores 3 y 4 representan fragmentos de las hebras superior e inferior del gen mutado que rodea el sitio de mutación (X en los cebadores representa la mutación). Las reacciones de PCR (1) y (2) producen dos fragmentos de solapamiento del gen (Fragmento 1 y Fragmento 2), ambos de los cuales llevan la mutación. La tercera PCR reensambla el gen de longitud completa con mutación (barra negra) en la posición deseada.

30 La Figura 6 ilustra mediciones de la actividad relativa de las presentes lacasas a pH diferentes. El panel A demuestra la selección del intervalo de tiempo de tasa inicial para las reacciones. Como este tiempo depende de la cantidad de enzima en la reacción, necesita obtenerse una dilución adecuada de la enzima para la medición conveniente. En los presentes ejemplos, el tiempo de 10 min estuvo dentro del intervalo lineal en todas las condiciones de pH. El panel B ilustra la medición fotométrica de la absorbancia de ABTS; tasas iniciales máximas de las presentes lacasas (con y sin mutación - WT y Mutante, respectivamente).

35 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de que ciertas sustituciones de aminoácidos producen elevada actividad de lacasa, especialmente en condiciones alcalinas.

40 El término "sustitución de aminoácidos" se usa en el presente documento de la misma forma que se usa comúnmente, es decir, el término se refiere a una sustitución de uno o más aminoácidos en una proteína con otro. Sustituciones artificiales de aminoácidos también pueden denominarse mutaciones.

Como se usa en el presente documento, el término "alcalino" es un sinónimo del término "básico". Así, el término "condiciones alcalinas" se refiere a condiciones que tienen un valor de pH superior a 7.

45 El término "actividad de lacasa" se usa en el presente documento para significar velocidad inicial máxima de la reacción de oxidación. La actividad de lacasa puede determinarse por ensayos de oxidación estándar conocidos en la técnica que incluyen, pero no se limitan a, medición de la oxidación de siringaldazina por lacasa según el protocolo en línea de Sigma, o según Cantarella et al. ("Determination of laccase activity in mixed solvents: Comparison between two chromogens in a spectrophotometric assay", Biotechnology and Bioengineering V. 82 (4), pp 395-398, 2003). Un ejemplo de determinación de la actividad de lacasa relativa a diferentes pH se presenta en el Ejemplo 2. Cualquier sustrato adecuado para la enzima en cuestión puede usarse en las mediciones de actividad.

50 Un ejemplo no limitante de un sustrato adecuado para su uso en evaluar la actividad enzimática de las presentes variantes de lacasa es 2,6-dimetoxifenol (2,6-DMP).

55 Como se usa en el presente documento, el término "actividad de lacasa elevada (o mejorada)" se refiere a una actividad de lacasa superior a la de una enzima lacasa no mutada correspondiente bajo las mismas condiciones. Es decir, por ejemplo, si las enzimas A y B tienen actividad igual a pH 5, mientras que a pH 9 la misma preparación de enzima A tiene una actividad más alta que la de la enzima B, entonces se indica la enzima A como una variante de

lacasa que tiene "una actividad de lacasa elevada en condiciones alcalinas". Ciertas variantes de aminoácidos en ciertas posiciones de la proteína lacasa desvelada en el presente documento producen elevada actividad de lacasa a pH alcalino al menos del 50 % en comparación con las enzimas de lacasa correspondientes que omiten esta variante de aminoácido. En algunas realizaciones, una actividad de lacasa elevada en condiciones alcalinas significa actividad de lacasa aproximadamente 2 veces, y preferentemente 5 veces, más alta en comparación con la de una variante no mutada correspondiente.

Las moléculas de lacasa son normalmente monómeros que consisten en tres dominios de tipo cupredoxina consecutivamente conectados retorcidos en un glóbulo apretado. El sitio activo de las lacasas contiene cuatro iones cobre: un ión cobre "azul" mononuclear (sitio T1) y una agrupación de cobre trinuclear (sitio T2/T3) que consiste en un ión cobre T2 y dos iones cobre T3 (Fig. 1).

Las lacasas aisladas de diferentes fuentes son muy diversas en secuencias primarias; sin embargo, tienen algunas regiones conservadas en las secuencias y ciertas características comunes en sus estructuras tridimensionales. Una comparación de secuencias de más de 100 lacasas ha revelado cuatro regiones conservativas cortas (no más largas de 10 aa cada una) que son específicas para todas las lacasas (Kumar et al., "Combined sequence and structure analysis of the fungal laccase family", *Biotechnol. Bioeng.*, 83, 386-394, 2003; Morozova et al., "Blue laccases", *Biochemistry (Moscow)*, 72, 1136-1150, 2007). Una cisteína y diez restos de histidina forman un entorno de ligando de iones cobre del sitio activo de lacasa presente en estas cuatro secuencias de aminoácidos conservativas.

El sitio T1 de la enzima es el aceptor primario de electrones de sustratos reductores. El potencial del sitio T1 de enzima también determina la eficiencia de la catálisis en la oxidación de la mayoría de los sustratos de lacasa, y por tanto el sitio T1 es la diana primaria para la ingeniería de proteínas lacasa. El sitio T1 tiene como ligandos dos imidazoles de histidina y el grupo sulfhidrilo de cisteína, que forman una estructura trigonal (Fig. 1). El cuarto resto en la proximidad inmediata del cobre 1 es el denominado ligando axial - metionina o fenilalanina (Met502 en la Fig. 1). Estos ligandos en la secuencia primaria están situados en las dos regiones conservadas (tercera y cuarta) en el extremo distal de la proteína.

La mayoría de los restos que forman el entorno del ligando del ión cobre de tipo 1 están relativamente conservados y estructuras tridimensionales de los dominios de unión de cobre de lacasas remotamente relacionadas pueden ser muy similares. Como un ejemplo, la Fig. 2 muestra el entorno del átomo de cobre 1 en el radio de 6 Å de cuatro lacasas evolutivamente muy distantes (identidad de secuencia no superior al 20 %, la longitud de la cadena de proteína varía de 273 a 503 aa). Todos los restos que comprenden el entorno de cobre 1 en estas lacasas son adyacentes o proximales en la secuencia primaria a los ligandos de cobre (dos histidinas y la cisteína) y pertenecen a las regiones conservadas, con una excepción. Un resto (marcado oscuro en la Fig. 2, normalmente hidrófobo, en los casos representados leucina o fenilalanina) está sobresaliendo en el entorno del átomo de cobre 1 de una parte distante de la secuencia primaria.

Se ha encontrado ahora sorprendentemente que cuando el aminoácido que sobresale se sustituye con glutamina (Q), el resultado es un rendimiento de lacasa mejorado a condiciones alcalinas. Esta sustitución se denomina en lo sucesivo MUT1, o M1. Esta posición está situada en la parte de la secuencia primaria que no está conservada entre lacasas distantes. La Fig. 3 muestra fragmentos de secuencias primarias alineadas de las lacasas de la Fig. 2. Todos los restos representados en las estructuras cristalinas en gris claro están situados en las regiones representadas en los paneles A y B (regiones conservadas). Mientras que el resto representado en las estructuras cristalinas de negro (Fig. 2, posición M1) está situado en las regiones representadas en el panel C. El panel C no se generó por protocolos de alineamiento debido a la falta de homología suficiente en esta parte de las secuencias), pero el panel es solo una lista de secuencias que rodean la posición MUT1 elucidada a partir de la estructura 3D (marcada en negro en la Fig. 2).

En otros ejemplos donde las lacasas en cuestión son más homólogas, esta región puede estar secuencialmente conservada, y así la posición MUT1 puede ser elucidada a partir de un alineamiento de secuencias. Tanto si está secuencialmente conservado como si no, este resto puede ser inequívocamente identificado en prácticamente cualquier lacasa estando presente en un radio de aproximadamente 5-6 Å del cobre 1 en proximidad al ligando axial del átomo de cobre 1. A nuestro leal saber, no hay glutamina en el entorno de 5-6 Å del cobre-1 en ninguna de las lacasas con una estructura tridimensional conocida.

A propósito de la presente invención, se clonaron dos secuencias de proteínas de lacasa COT1 (SEQ ID NO:1) y COT2 (SEQ ID NO:2) ausentes de las bases de datos públicamente disponibles de cepas de laboratorio de *Bacillus subtilis*. Los análisis *in silico* de las estructuras de proteína, junto con la intensa investigación experimental usando métodos combinatorios de biología molecular, confirmaron que una sustitución de leucina artificial (L) a glutamina (Q) en la posición 386 de tanto SEQ ID NO:1 como SEQ ID NO:2 mejoró el rendimiento de lacasa en condiciones alcalinas. El rendimiento mejorado también se logró por otra mutación, es decir, sustitución triple de arginina (R) adyacente 487 a prolina (P), tirosina (Y) 488 a triptófano (W) y valina (V) 489 a fenilalanina (F), tanto sola como en combinación con la sustitución L386Q. La secuencia de aminoácidos de una variante de lacasa que comprende ambas de estas mutaciones se representa en SEQ ID NO:3, mientras que las secuencias de aminoácidos representadas en SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO:5 representan variantes de lacasa que comprenden solo la sustitución L386Q o la sustitución triple, respectivamente.

Las variantes de aminoácidos presentadas por estas mutaciones parecen ser únicas en posiciones correspondientes entre secuencias de polipéptidos relacionadas, ya que no se identificaron en una búsqueda de proteína en BLAST, un servicio de internet público que compara la secuencia de búsqueda con todas las secuencias depositadas en el dominio público. La búsqueda reveló algunas secuencias estrechamente relacionadas solo algunos aminoácidos diferentes de las búsquedas y un intervalo completo de secuencias homólogas con diferente grado de similitud (Tabla 1).

Tabla 1. Los resultados de la búsqueda con Blast

Las secuencias (números de acceso) se enumeran en el orden de similitud decreciente.

Acceso	Descripción	% de identidad	% de similitud	M1-3ple Q...PWF
YP_004206641.1	Lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis BSn5] bjlBAI84141.1 proteína A de la cubierta de espora [Bacillus subtilis subsp. natto BEST195] >gb ADV95614.1 lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis BSn5] lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. 168] >ref ZP_03590314.1 proteína de la cubierta de espora (externa) [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. 168] >ref ZP_03594593.1 proteína de la cubierta de espora (externa) [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. NCIB 3610] >ref ZP_03599005.1 proteína de la cubierta de espora (externa) [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. JH642] >ref ZP_03603283.1 proteína de la cubierta de espora (externa) [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. SMY] >sp P07788.4 COTA_BACSU NombreRec: Completo=Proteína A de la cubierta de espora >pdb 1GSK Una cadena A, estructura cristalina de Cota, Una	98	99	L...RYV
NP_388511.1	Endoproteína de la cubierta de espora de Bacillus Subtilis >pdb 1OF0 Una cadena A, estructura cristalina de Cota de Bacillus subtilis después de 1 h de remojo con Ebs>pdb 1UVW Una cadena A, aducto de lacasa Cota de Bacillus subtilis con Abts>pdb 1W6L Una cadena A, estructura 3D de Cota incubada con CuCl2 >pdb 1W6W Una cadena A, estructura 3D de Cota incubada con azida de sodio>pdb 1W8E Una cadena A, estructura 3D de Cota incubada con peróxido de hidrógeno >pdb 2BHF Una cadena A, estructura 3D de la forma reducida de Cota >pdb 2X88 Una cadena A, estructura cristalina de Holocota>emb CAB12449.1 lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. 168]	98	99	L...RYV
BAA22774.1	Proteína A de la cubierta de espora [Bacillus subtilis]	98	99	L...RYV
ACS44284.1	Proteína de la cubierta de espora [Bacillus subtilis]	98	98	L...RYV
2X87_A	Cadena A, estructura cristalina de Cota reconstituida	98	99	L...RYV
2WSD_A	Cadena A, mutaciones proximales en el sitio de Cu de tipo 1 de Cota-Lacasa: mutante I494a	97	98	L...RYV
ACM46021.1	lacasa [Bacillus sp. HR03] lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis subsp. spizizenii ATCC 6633] >ref YP_003865004.1 lacasa dependiente de cobre de espora (cubierta externa) [Bacillus subtilis subsp.	97	98	L...RYV
ZP_06872569.1	spizizenii str. W23] >gb EFG93543.1 lacasa 1031 dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis subsp. spizizenii ATCC 6633] >gb ADM36695.1 lacasa dependiente de cobre de espora (cubierta externa) [Bacillus subtilis subsp. spizizenii str. W23]	96	97	L...RYV

ES 2 634 651 T3

Acceso	Descripción	% de identidad	% de similitud	M1-3ple Q...PWF
AAB62305.1	CotA [Bacillus subtilis] lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus atrophaeus 1942]	91	94	L...RYV
YP_003972023.1	>gb ADP31092.1 lacasa dependiente de cobre de espora (cubierta externa) [Bacillus atrophaeus 1942] lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus amyloliquefaciens DSM 7] >emb CBI41748.1 lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus amyloliquefaciens DSM 7] >gb AEB22768.1 espora	82	91	L...RYV
YP_003919218.1	lacasa dependiente de cobre [Bacillus amyloliquefaciens TA208] >gb AEB62213.1 lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus amyloliquefaciens LL3] >gb AEK87755.1 lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus amyloliquefaciens XH7]	77	89	L...RYV
YP_001420286.1	CotA [Bacillus amyloliquefaciens FZB42] >gb ABS73055.1 CotA Bacillus amyloliquefaciens FZB42] proteína A de la cubierta de espora [Bacillus pumilus ATCC 7061]	77	89	L...RYV
ZP_03054403.1	>gb EDW21710.1 proteína A de la cubierta de espora [Bacillus pumilus ATCC 7061]	69	79	L...RYV
YP_001485796.1	proteína A de la cubierta de espora externa [Bacillus pumilus SAFR-032] >gb ABV61236.1 proteína A de la cubierta de espora externa [Bacillus pumilus SAFR-032]	68	79	L...RYV
ZP_08001338.1	proteína CotA [Bacillus sp. BT1B_CT2] >gb EFV71562.1 proteína CotA [Bacillus sp. BT1B_CT2]	65	77	L...RYV
YP_077905.1	<i>proteína de la cubierta de espora [Bacillus licheniformis ATCC 14580]>ref YP_090310.1 CotA [Bacillus licheniformis ATCC 14580]>gb AAU22267.1 proteína de la cubierta de espora (externa) [Bacillus licheniformis ATCC 14580]>gb AAU39617.1 CotA [Bacillus licheniformis ATCC 14580]</i>	65	77	L...RYV
NP_692267.1	proteína de la cubierta externa de espora [Oceanobacillus iheyensis HTE831] >dbj BAC13302.1 proteína de la cubierta de espora (externa) [Oceanobacillus iheyensis HTE831]	60	74	L...DYV
YP_176145.1	proteína de la cubierta de espora [Bacillus clausii KSM-K16] >dbj BAD65184.1 proteína de la cubierta de espora [Bacillus clausii KSM-K16]	59	75	L...YYV
ZP_04432136.1	Bilirrubina oxidasa [Bacillus coagulans 36D1] >gb EEN93171.1 Bilirrubina oxidasa [Bacillus coagulans 36D1]	60	74	L...DYV
YP_004569824.1	Bilirrubina oxidasa [Bacillus coagulans 2-6] >gb AEH54438.1 Bilirrubina oxidasa [Bacillus coagulans 2-6]	59	73	L...DYV
ZP_04217826.1	Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus cereus Rock3-44] >gb EEL50489.1 Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus cereus Rock3-44]	52	71	L...DYV
ZP_04295322.1	Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus cereus AH621] >gb EEK73233.1 Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus cereus AH621]	53	70	L...DYV

Acceso	Descripción	% de identidad	% de similitud	M1-3ple Q...PWF
ZP_04201013.1	Proteína A de la cubierta de espora [Bacillus cereus AH603] >gb EEL67287.1 Proteína A de la cubierta de espora [Bacillus cereus AH603]	53	70	L...DYV
ZP_04180582.1	Proteína A de la cubierta de espora [Bacillus cereus AH1272] >gb EEL87731.1 Proteína A de la cubierta de espora [Bacillus cereus AH 1272]	53	70	L...DYV
ZP_04150084.1	Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus pseudomycoides DSM 12442] >gb EEM18231.1 Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus pseudomycoides DSM 12442]	51	67	L...TYP
YP_003639715.1	Bilirrubina oxidasa [Thermincola sp. JR] >gb ADG81814.1 Bilirrubina oxidasa [Thermincola potens JR]	53	68	L...VFP
ZP_04155855.1	Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus mycoides Rock3-17] >gb EEM12426.1 Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus mycoides Rock3-17]	52	67	L...TYP
ZP_04161675.1	Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus mycoides Rock1-4] >gb EEM06612.1 Oxidasa multicobre, tipo 2 [Bacillus mycoides Rock1-4]	52	67	L...TYP
ZP_08642538.1	proteína A de la cubierta de espora [Brevibacillus laterosporus LMG 15441] >gb EGP32769.1 proteína A de la cubierta de espora [Brevibacillus laterosporus LMG 15441]	51	68	L...TYV
ZP_08679639.1	proteína A de la cubierta de espora [Sporosarcina newyorkensis 2681] >gb EGQ24147.1 proteína A de la cubierta de espora [Sporosarcina newyorkensis 2681]	50	65	L...RYV
YP_001697777.1	proteína A de la cubierta de espora [Lysinibacillus sphaericus C3-41] >gb ACA39647.1 Proteína A de la cubierta de espora [Lysinibacillus sphaericus C3-41]	52	67	L...NYM
ZP_05132033.1	proteína de la cubierta de espora [Clostridium sp. 7_2_43FAA] >gb EEH98927.1 proteína de la cubierta de espora [Clostridium sp.7_2_43FAA]	51	65	L...NYV
ZP_01723401.1	proteína de la cubierta de espora (externa) [Bacillus sp. B14905] >gb EAZ86095.1 proteína de la cubierta de espora (externa) B14905]	52	66	L...NYM
ZP_07051936.1	proteína A de la cubierta de espora [Lysinibacillus fusiformis ZC1] >gb EFI66832.1 proteína A de la cubierta de espora [Lysinibacillus fusiformis ZC1]	50	66	L...NYM

Con el fin de crear una imagen más general de la estructura de las secuencias relacionadas, se realizaron alineamientos múltiples de las secuencias reveladas. Se descendieron más de las 30 secuencias más similares que oscilaban del 98 al 50 % de identidad con las secuencias de búsqueda al software VectorNTI® (Invitrogen) y se dispusieron en un alineamiento múltiple en el mismo orden que en la lista de BLAST (Figura 4). El alineamiento confirmó la naturaleza única de las presentes sustituciones de aminoácidos.

Pueden introducirse mutaciones correspondientes a la mutación Q386 y/o la mutación triple P487/W488/F489 mostrada en SEQ ID NO:3 a cualquiera de las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento, u otras secuencias homólogas, por métodos convencionales conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio, con el fin de mejorar su actividad de lacasa en condiciones alcalinas. Kits para realizar la mutagénesis dirigida al sitio están comercialmente disponibles en la técnica (por ejemplo, kit de mutagénesis dirigida al sitio QuikChange® II XL por Agilent Technologies). Métodos adecuados adicionales para introducir las mutaciones anteriores en un gen recombinante se desvelan, por ejemplo, en Methods in Molecular Biology, Vol 182, "In vitro mutagenesis protocols", Eds Jeff Braman, Humana Press 2002). Así, en el presente documento, se proporcionan variantes de lacasa o mutantes que comprenden glutamina (Q) en una posición que se corresponde con la posición

386 de la secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID NO:3 (indicada como MUT1) que opcionalmente también comprende una mutación triple de prolina-triptófano-fenilalanina (PWF) en una posición que se corresponde con la posición 487-489 de la secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID NO:3 (MUT2), y tienen una elevada actividad de lacasa en condiciones alcalinas en comparación con la de una variante de control no mutada correspondiente (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de las mutaciones MUT1 y la mutación triple (MUT2) sobre actividades relativas de proteínas lacasa a diferentes pH. Todas las mutaciones fueron beneficiosas para la actividad incluso a pH ácido; sin embargo, se observó un efecto mucho más grande a valores de pH elevados.

	% de act a pH 5	% de act a pH 7	% de act a pH 9
SEQ ID NO:1	100	60	23
SEQ ID NO:1 + MUT1	140	170	220
SEQ ID NO:1 + MUT2	120	130	150
SEQ ID NO:1 + MUT1 + MUT2	180	210	300

	% de act a pH 5	% de act a pH 7	% de act a pH 9
SEQ ID NO:2	100	60	25
SEQ ID NO:2 + MUT1	130	160	200
SEQ ID NO:2 + MUT 2I	120	130	150
SEQ ID NO:2 + MUT 1 + MUT2	160	200	300

Las secuencias de aminoácidos reveladas en la búsqueda de Blast pueden representarse como una secuencia consenso. La SEQ ID NO:6 representa una secuencia consenso de 33 secuencias de aminoácidos muy estrechamente relacionadas con las secuencias de búsqueda de COT1 y COT2. Así, en el presente documento se describen variantes de lacasa que comprenden una secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID NO:6 introducida con una mutación MUT1 y/o MUT2.

También se describen en el presente documento variantes de lacasa, es decir, homólogos, que tienen una elevada actividad enzimática en condiciones alcalinas que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 50 % de identidad de secuencia con las variantes que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:3 (que comprende MUT1 + MUT2); SEQ ID NO:4 (que comprende MUT1) y SEQ ID NO:5 (que comprende MUT2). También se desvelan en el presente documento variantes en las que dicha secuencia de aminoácidos está seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:6, y cualquiera de las secuencias mostradas en la Figura 4, que comprenden además una mutación correspondiente a MUT1 y/o MUT2. También se describen en el presente documento variantes de lacasa que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene un grado de identidad con cualquiera de las secuencias de referencia anteriormente mencionadas de al menos aproximadamente el 55 %, preferentemente aproximadamente el 65 %, más preferentemente aproximadamente el 75 %, todavía más preferentemente aproximadamente el 85 %, e incluso más preferentemente aproximadamente el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o el 99 %, y que retienen elevada actividad de lacasa en condiciones alcalinas. En algunas variantes, el grado de identidad se corresponde con cualquier valor entre los números enteros anteriormente mencionados.

Como se usa en el presente documento, el grado de identidad entre dos o más secuencias de aminoácidos es equivalente a una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, % de identidad = $N.^{\circ}$ de posiciones idénticas / $N.^{\circ}$ total de posiciones x 100), excluyendo huecos, que necesitan introducirse para el alineamiento óptimo de las dos secuencias, y nucleótidos protuberantes. La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos o más secuencias pueden llevarse a cabo usando métodos convencionales conocidos en la técnica.

Las presentes variantes de lacasa pueden comprender sustituciones de aminoácidos conservativas en comparación con cualquiera de las secuencias representadas en SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, y la Figura 4. El término "sustitución de aminoácidos conservativa" se refiere a una sustitución de un aminoácido con un aminoácido similar como se conoce en la técnica. Las sustituciones de aminoácidos conservativas no afectan significativamente el plegamiento y/o la actividad de una variante de

secuencia de proteínas. Ejemplos no limitantes típicos de tales sustituciones de aminoácidos conservativas incluyen sustitución de glutamato por aspartato o viceversa.

Las presentes variantes de lacasa pueden comprender además delecciones y/o adiciones de aminoácidos, en tanto que retengan su elevada actividad de lacasa en condiciones alcalinas. En este contexto, el término "fragmento funcional" se refiere a un polipéptido de lacasa truncado que retiene dicha actividad enzimática elevada en condiciones alcalinas.

Como se usa en el presente documento, el término "variante conservativa" se refiere a polipéptidos que comprenden sustituciones, delecciones y/o adiciones de aminoácidos conservativas, y que retienen sus propiedades enzimáticas, especialmente actividad de lacasa elevada en condiciones alcalinas.

Los presentes polipéptidos o proteínas de lacasa pueden fusionarse con secuencias adicionales, por unión o inserción, que incluyen, pero no se limitan a, marcas de afinidad, que facilitan la purificación de proteínas (S-tag, dominio de unión de maltosa, dominio de unión de quitina), dominios o secuencias que ayudan en el plegamiento (tales como dominio de tiorredoxina, proteína SUMO), secuencias que afectan la localización de proteínas (señales de localización periplásmica, etc.), proteínas que llevan función adicional, tales como la proteína verde fluorescente (GFP), o secuencias que representan otra actividad enzimática. Otros componentes de fusión adecuados para las presentes lacasas son conocidos para aquellos expertos en la materia.

La presente divulgación también proporciona polinucleótidos aislados que codifican cualquiera de las variantes de lacasa desveladas en el presente documento. Medios y métodos de clonación y aislamiento de tales polinucleótidos son muy conocidos en la técnica.

Además, la presente divulgación también proporciona vectores que comprenden los presentes polinucleótidos operativamente unidos a una o más secuencias de control. Secuencias de control adecuadas están fácilmente disponibles en la materia e incluyen, pero no se limitan a, secuencias de promotor, conductor, poliadenilación y señal.

Pueden obtenerse variantes de lacasa según diversas realizaciones de la presente invención por métodos recombinantes estándar conocidos en la técnica. Brevemente, un método tal puede comprender las etapas de i) cultivar una célula hospedadora recombinante deseada en condiciones adecuadas para la producción de una presente variante de polipéptido de lacasa, y ii) recuperar la variante de polipéptido obtenida. Puede usarse un gran número de sistemas de vector-hospedador conocidos en la técnica para la producción recombinante de variantes de lacasa. Posibles vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos o virus modificados que se mantienen en la célula hospedadora como molécula de ADN autónoma o integrada en ADN genómico. El sistema de vector debe ser compatible con la célula hospedadora usada, como es muy conocido en la técnica. Ejemplos no limitantes de células hospedadoras adecuadas incluyen bacterias (por ejemplo, *E. coli*, bacilos), levadura (por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*), hongos (por ejemplo, hongos filamentosos), células de insecto (por ejemplo, Sf9).

La recuperación de una variante de lacasa producida por una célula hospedadora puede realizarse por cualquier técnica conocida para aquellos expertos en la materia. Posibles técnicas incluyen, pero no se limitan a, secreción de la proteína en el medio de expresión, y purificación de la proteína de biomasa celular.

El método de producción puede comprender además una etapa de purificar la variante de lacasa obtenida. Para lacasas termoestables, ejemplos no limitantes de tales métodos incluyen calentar las células desintegradas y eliminar las proteínas termolábiles coaguladas de la disolución. Para proteínas secretadas, ejemplos no limitantes de tales métodos incluyen cromatografía de intercambio iónico, y ultra-filtración del medio de expresión. Es importante que el método de purificación de elección sea tal que la proteína purificada retenga su actividad de lacasa.

Las presentes variantes de lacasa pueden usarse en una amplia variedad de diferentes procesos industriales y aplicaciones, tales como en la deslignificación de pulpa, blanqueamiento de tintes textiles, purificación de agua residual, desintoxicación xenobiótica y fabricación de detergentes. El aumento del intervalo de pH operativo de las variantes de lacasa desveladas hace que sean particularmente adecuadas para los procesos de tratamiento de aguas residuales industriales.

Será obvio para un experto en la materia que, a medida que avance la tecnología, el concepto inventivo puede implementarse de diversas formas. La invención y sus realizaciones no se limitan a los ejemplos descritos a continuación, sino que pueden variar dentro del alcance de las reivindicaciones.

Ejemplo 1. Construcción de variantes de lacasa que llevan MUT1

Se introdujeron mutaciones como se describe en el presente documento en diversos genes recombinantes por mutagénesis dirigida al sitio estándar. Por ejemplo, se introdujo MUT1 (sustitución L386Q) en el gen de oxidasa multicobre, tipo 2 de *Bacillus pseudomycolides* (ZP_04150084), que tiene aproximadamente el 50 % de identidad de secuencia con las lacasas COT1 (SEQ ID NO:1) y COT2 (SEQ ID NO:2), amplificando por PCR la secuencia codificante de este gen (número de acceso NZ_ACMX01000022) de ADN genómico de *Bacillus pseudomycolides* y clonándolo en un vector plasmídico pET20.

Para este fin, se llevaron a cabo dos series de reacciones de PCR separadas: (1) con Cebador 1 (5'-CGCCGTCTCACATGTCTTTTAAAAAATTTGTC-GATGCATTACC-3'; SEQ ID NO:7) y Cebador 4 (5'-ATAGTT-TTGGACGCCCTATGCCATTATTAATAACATGG-AGT-3'; SEQ ID NO:8), y (2) con Cebador 2 (5'-CGCGGATCCGATGATTTCTCTTCTTTTTTATTTTT-CCGTTG-3'; SEQ ID NO:9) y Cebador 3 (5'-ACTCCA-TGTTATTTAATAA-TGGCATAGGGCGTCCAAAATAT-3'; SEQ ID NO:10).

En ambas series de PCR, se usó gen no mutante recombinante como molde. Se combinaron alícuotas de 1 µl de las reacciones (1) y (2) y se usaron como molde para la reacción de PCR con Cebador 1 y Cebador 2 (véase anteriormente). El producto de esta reacción que contiene la secuencia mutante del gen se clonó en un vector plasmídico para la expresión en *E. coli*. La representación esquemática de esta estrategia de mutagénesis se presenta en la Figura 5.

Ejemplo 2. Medición de actividad relativa de variantes de lacasa a diferentes pH usando 2,6-DMP

En los presentes experimentos, se eligió 2,6-dimetoxifenol (2,6-DMP), que puede ser oxidado por las lacasas COT1 y COT2 no mutantes fácilmente a pH 5, pero mucho más lentamente a pH 9, como sustrato.

Se probaron dos formas de cada enzima – una que posee la mutación (Mut) y una sin la mutación (llamada adicionalmente no mutante, WT) en reacciones de oxidación con 2,6-dimetoxifenol (2,6-DMP) a diversos pH. Se monitorizó el transcurso de la reacción por absorbancia a 500 nM.

Se midieron velocidades iniciales de las reacciones en DO (500)/min. La velocidad inicial (V) es la velocidad de la reacción en el intervalo de tiempo cuando el color se desarrolla linealmente con el tiempo. Se llevaron a cabo reacciones similares a diferentes concentraciones de sustrato (2,6-DMP) (véase el protocolo a continuación). Entonces se determinó la velocidad inicial máxima (V_{máx}) a cada pH (esta velocidad se observó a concentraciones de sustrato saturantes).

Con el fin de determinar la actividad alcalina relativa, para cada enzima se tomó su V_{máx} a pH 5 para el 100 %, y se determinó la actividad relativa a pH 7 o pH 9 como una fracción de esta actividad.

Como un ejemplo, la concentración de 2,6-DMP de 0,5 mM era saturante para tanto enzimas WT como MUT a pH 5 a pH 9. Se usó tampón MOPS (ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico, Sigma) como un medio de reacción. Se determinó V_{máx} de estas dos enzimas según el protocolo:

• MOPS 100 mM pH (5-9)	90 µl,
• 2,6-DMP 5 mM	10 µl,
Lacasa (WT o MUT)	2 µl,

Incubación 10 min a 60 °C

Se midió la absorbancia a 500 nm por lector de placas de titulación.

Como se demuestra en la Figura 6, el introducir MUT1 en el polipéptido de lacasa aumenta su actividad relativa a pH 9 aproximadamente 7 veces en comparación con la enzima no mutada.

Como es muy conocido para un experto en la materia, la actividad relativa de lacasa a diferentes pH puede medirse por cualquier otro sustrato adecuado para la variante de lacasa en cuestión en tanto que el otro sustrato pueda oxidarse al mismo intervalo de pH (preferentemente pH 5 a pH 9). También pueden ajustarse otros parámetros tales como temperatura a la variante de lacasa particular en cuestión.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> MetGen Oy

<120> Variantes de enzima con propiedades mejoradas

<130> 2111324Pc

<160> 6

<170>PatentIn versión 3.5

<210> 1

5 <211> 513

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 1

10

```

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
          20              25              30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
          35              40              45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
 50              55              60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65              70              75              80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
          85              90              95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
          100              105              110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
          115              120              125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
          130              135              140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145              150              155              160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Asp Tyr Ile Ile His Asp
          165              170              175

```

ES 2 634 651 T3

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

ES 2 634 651 T3

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 2

<211> 539

5

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 2

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

10

ES 2 634 651 T3

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

ES 2 634 651 T3

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Ile Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala His Tyr Gln Glu Ser Gly Ala Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys Ser Asp Pro Asn Ser Ser Ser Val Asp Lys Leu His Arg Thr Arg
515 520 525

Ala Pro Pro Pro Pro Pro Leu Arg Ser Gly Cys
530 535

<210> 3

<211> 513

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> COT1 introducida con Q386 y P487/W488/F489

10

<400> 3

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

ES 2 634 651 T3

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

ES 2 634 651 T3

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

Lys

<210> 4

<211> 513

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> COT1 introducida con Q386

ES 2 634 651 T3

<400> 4

```

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
          20           25           30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
          35           40           45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50           55           60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65           70           75           80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
          85           90           95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
          100          105          110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
          115          120          125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
          130          135          140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145           150           155           160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Asp Tyr Ile Ile His Asp
          165          170          175

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

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
          195          200          205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
          210          215          220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225           230           235           240

```

ES 2 634 651 T3

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Glu
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Asn Ser Phe Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Gln Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 5

<211> 513

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> COT1 introducida con P487/W488/F489

<400> 5

10

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

ES 2 634 651 T3

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

ES 2 634 651 T3

	420		425		430
Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser					
435		440		445	
Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys					
450		455		460	
Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr					
465		470		475	480
Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Pro Trp Phe Trp His Cys His Ile Leu Glu					
485		490		495	
His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His					
500		505		510	
Lys					

<210> 6

<211> 451

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia consenso

10

<400> 6

ES 2 634 651 T3

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

ES 2 634 651 T3

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

ES 2 634 651 T3

355		360		365
His Leu His Leu Val Gln Phe Arg Val Leu Asp Arg Arg Pro Phe Asp				
370		375		380
Ile Arg Tyr Gln Glu Gly Glu Leu Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro				
385		390		400
Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys Asp Thr Val Gln Ala Ala Gly Glu Val				
		405		410
Leu Arg Ile Ile Ala Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His				
		420		425
Cys His Ile Leu Glu His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp				
		435		440
Ile Ile Asp				
450				

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que tiene actividad de lacasa que comprende una secuencia de aminoácidos que muestra al menos el 50 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 y SEQ ID NO:5, en el que un resto de glutamina está en una posición que se corresponde con la posición 386 de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO:3.
2. El polipéptido según la reivindicación 1 que comprende además una secuencia de prolina-triptófano-fenilalanina (PWF) en una posición que se corresponde con la posición 487-489 de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO:3.
3. El polipéptido según la reivindicación 1 o 2, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:2, que comprende al menos una variante de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en glutamina (Q) en una posición que se corresponde con la posición 386 de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO:3 y una secuencia de prolina-triptófano-fenilalanina (PWF) en una posición que se corresponde con la posición 487-489 de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO:3.
4. Una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
5. Un vector que comprende una molécula de ácido nucleico según la reivindicación 4.
6. Una célula hospedadora recombinante que comprende un vector según la reivindicación 5.
7. Un método de producción de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende las etapas de:
 - i. cultivar una célula hospedadora recombinante según la reivindicación 6 en condiciones adecuadas para la producción del polipéptido, y
 - ii. recuperar el polipéptido obtenido.
8. El método según la reivindicación 7 que comprende además una etapa de purificar dicho polipéptido.
9. Uso de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la designificación de pulpa.
10. Uso de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el blanqueamiento de tintes textiles.
11. Uso de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la purificación de agua residual.
12. Uso de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la desintoxicación xenobiótica.
13. Un método de aumento de la actividad de lacasa de un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que muestra al menos el 50 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 y SEQ ID NO:5, en el que el aminoácido que se corresponde con la posición 386 de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO:3 está sustituido con un resto de glutamina.
14. El método según la reivindicación 13, en el que los tres aminoácidos que se corresponden con las posiciones 487-489 de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO:3 están sustituidos con una secuencia de prolina-triptófano-fenilalanina (PWF).

Figura 1

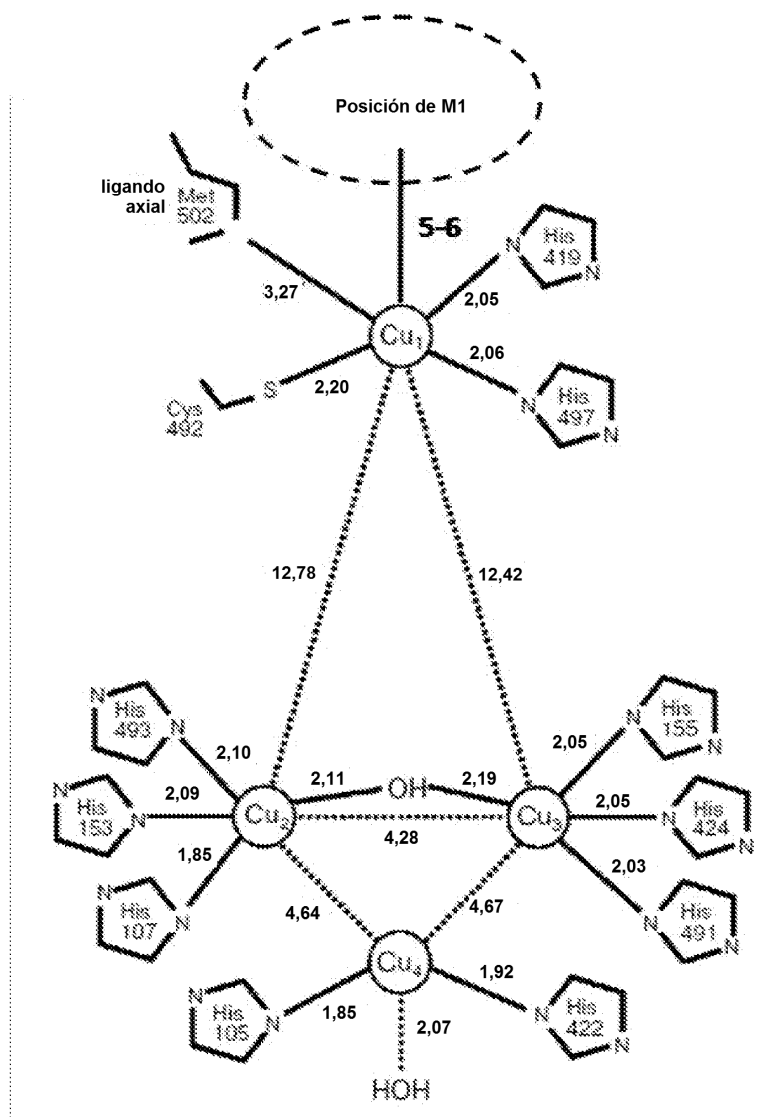


Figura 2

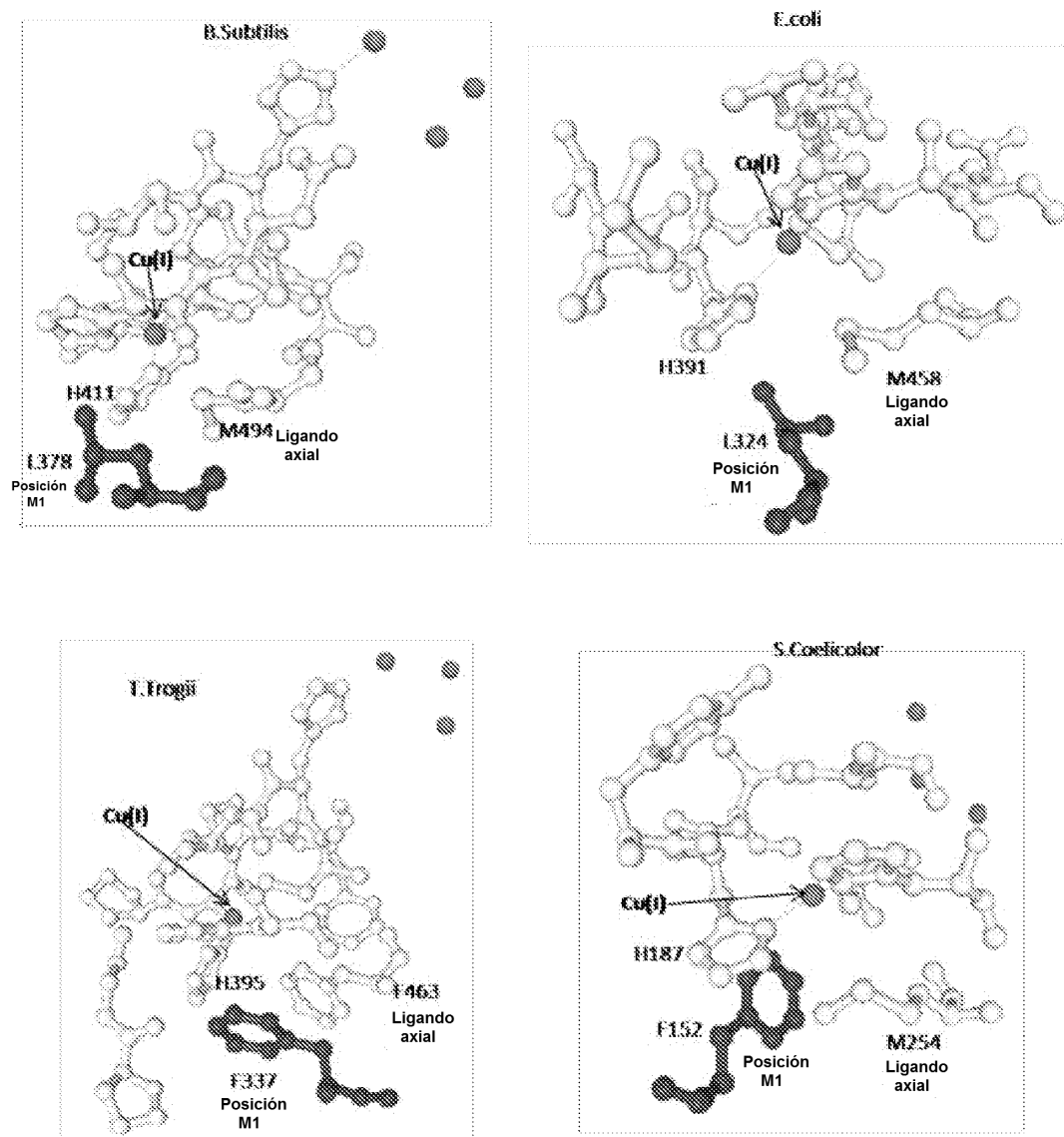


Figura 3

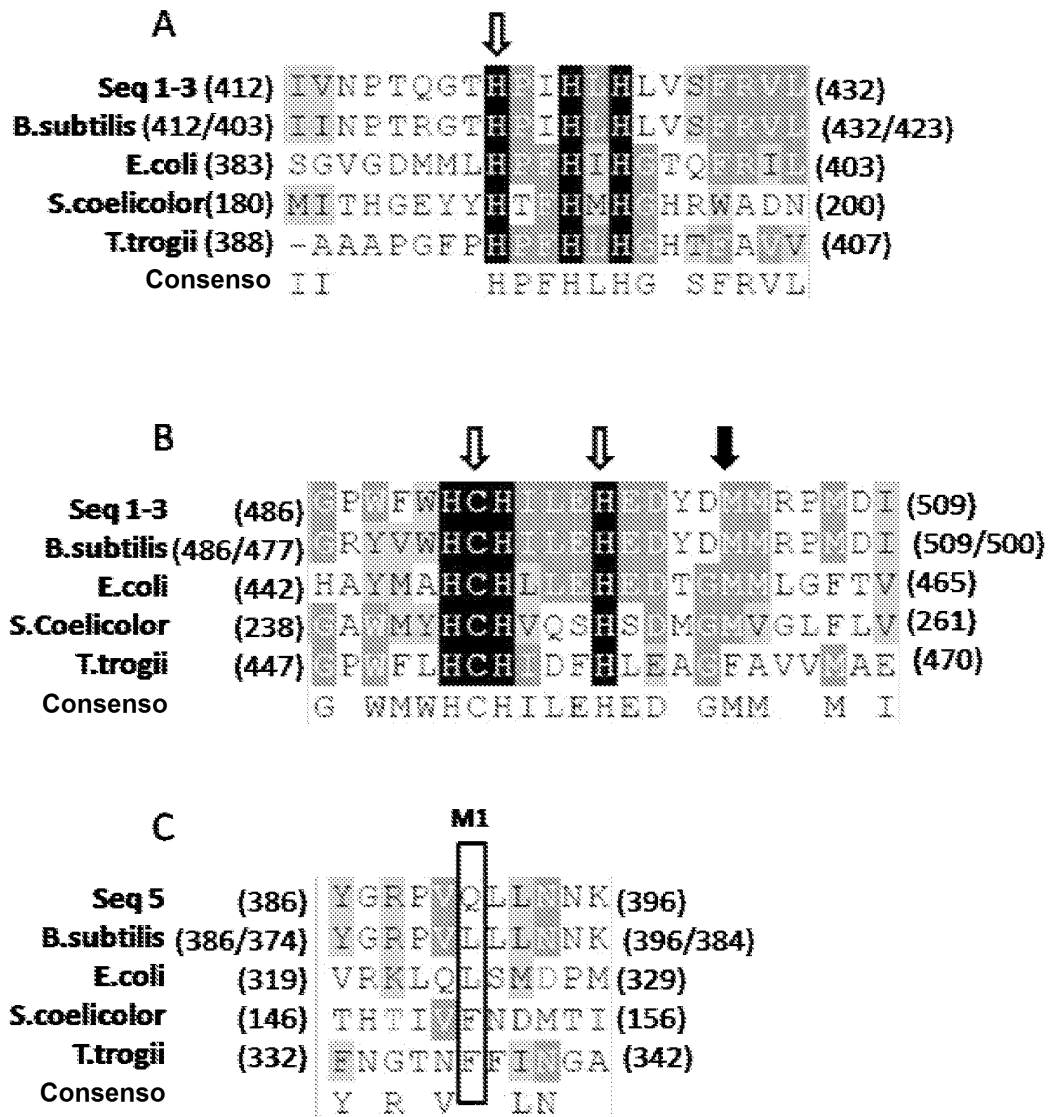


Figura 4

	(1)	1	10	20	30	40	53
2WSD_A	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
2X87_A	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
AAB62305	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ACM48021	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ACS44284	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
AEK80414	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
BAA22774	(1)	-----	-----	-----	-----	MY-----	MTLEKFVDALPI
NP_388511	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
NP_692267	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_001420286	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_001485796	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_001697777	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_003639715	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_003919218	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_003972023	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_004205641	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_004569824	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_077905	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
YP_178146	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_01723401	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_03054403	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04150084	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04155855	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04161675	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04180582	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04201013	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04217826	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04295322	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_04432136	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_05132033	(1)	MVSSEPNEKASKIELEENAE	DKVEVKCCNDNICFIVN	PSDFEPI	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_06872569	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_07061936	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_08001338	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_08642538	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
ZP_08679639	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
MG COT2	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
MG mutante	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
MG COT1	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI
Consenso	(1)	-----	-----	-----	-----	-----	MTLEKFVDALPI

Figura 4 cont.

	(54)	54	60	70	80	90	106			
2WSD_A (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	MEEXT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
2X87_A (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	MEEXT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
AAB62305 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	MEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
ACM46021 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	MEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
ACS44284 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	MEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
AEK80414 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	DS	YYEV	TMELCY	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
BAA22774 (15)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	TMEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
NP_388511 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	TMEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
NP_692267 (13)	IQTH	HTEK----	S	NHL	YYEV	TMEEGW	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
YP_001420286 (13)	IEV	EQKKE	----	S	DGS	YYEV	TMKECF	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
YP_001485796 (13)	EEVAE	YKK	----	S	NRQ	YYE	IAMEEVFL	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
YP_001697777 (23)	EVIA	KYCRG----	S	PHD	YELV	MMGE	EFKHF	NLLWGYNGLFPGPTI		
YP_003639715 (13)	ECIL	YGF	----	S	NGV	LYR	IAMR	EFKQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI	
YP_003919218 (13)	IEV	EQK	----	S	NGS	YYEV	TMEECF	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
YP_003972023 (13)	EVIA	HQQ	----	S	ES	YYEV	TMKEFYQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
YP_004206641 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	TMEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
YP_004569624 (15)	AEKIE	YRE	----	S	EGCIA	YYEV	TMEEFRQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
YP_077905 (13)	QV	EQKKE	----	S	EM	YYEV	TMKEFQQ	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
YP_176145 (13)	MK	AIKKT	----	S	DGD	YYE	IEMKFSQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_01723401 (23)	EVIA	KYCRG----	S	PHD	YELV	MMGE	EFKHF	NLLWGYNGLFPGPTI		
ZP_03054403 (13)	EEVAE	YKK	----	S	NPQ	YYE	IAMEEVFL	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_04150084 (13)	EV	LAEGN	----	S	HDG	VPE	YELVMMQV	KLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_04155855 (13)	EV	LAEGT	----	S	HDG	VPE	YELVMMQV	KLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_04161675 (13)	EV	LAEGT	----	S	HDG	VPE	YELVMMQV	KLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_04180582 (13)	ESIL	KGT	----	S	YCK	PEY	ERMIE	TLMEF	ESILK	YWGYNGLFPGPTI
ZP_04201013 (13)	ESIL	KGT	----	S	YCK	PEY	ERMIE	TLMEF	ESILK	YWGYNGLFPGPTI
ZP_04217826 (13)	ESIL	KGT	----	S	YCK	PEY	ERMIE	TLMEF	ESILK	YWGYNGLFPGPTI
ZP_04295322 (13)	ESIL	KGT	----	S	YCK	PEY	ERMIE	TLMEF	ESILK	YWGYNGLFPGPTI
ZP_04432136 (15)	AERIE	YRE	----	S	EGCIA	YYEV	TMEEFWQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_05132033 (54)	EDTLKP	VQQ----	S	TER	YYEV	TMEECA	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
ZP_06872569 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	TER	YYEV	TMEECA	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
ZP_07051936 (21)	MIA	KYVRG----	S	QFND	YELV	MMGE	EFKHF	NLLWGYNGLFPGPTI		
ZP_08001338 (13)	QV	EQKKE	----	S	EM	YYEV	TMKEFQQ	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_08642538 (13)	EVIE	KGK	----	S	RDG	IE	YKMRQIQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
ZP_08679639 (19)	QYIS	KER	----	S	HTCF	YYE	IAMKEFYQ	HLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI		
MG COT2 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	EK	YYEV	TMEECT	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
MG mutante (13)	EDTLKP	VQQ----	S	TEK	YYEV	TMEECA	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
MG COT1 (13)	EDTLKP	VQQ----	S	TEK	YYEV	TMEECA	QLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI			
Consenso (54)	EDTLKP	V		S	K	YYEV	TM	E	HKLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTI	

Figura 4 cont.

		(107)	107	120	130	140	159																																										
2WSD_A	(61)	E	F	R	N	E	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T					
2X87_A	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
AAB62305	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
ACM46021	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
ACS44284	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
AEK60414	(61)	K	A	K	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	E	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
BAA22774	(63)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
NP_388511	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
NP_692267	(61)	E	S	E	R	M	I	E	V	V	K	M	N	L	P	P	-	K	L	M	L	A	L	D	T	S	I	S	H	L	-	-	-	Q	M	C	T	E	V	H	H	G	C	V	K				
YP_001420286	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	E	S	G	-	Q	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
YP_001485796	(61)	H	A	N	S	I	E	R	T	V	V	K	M	N	L	P	L	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	E	G	-	-	H	D	E	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
YP_001897777	(73)	E	A	T	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	L	-	Q	H	F	L	P	D	H	T	I	H	A	A	N	-	-	-	D	S	Q	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
YP_003639715	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	E	G	-	Q	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
YP_003919218	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	E	G	-	Q	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
YP_003972023	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	Q	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	E	G	H	-	Q	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
YP_004206641	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
YP_004589824	(63)	E	P	H	G	K	K	E	R	T	G	E	N	H	L	P	Q	-	R	H	F	L	P	D	H	T	I	L	D	E	M	G	-	T	O	F	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
YP_077905	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	R	H	F	L	P	D	H	T	I	H	E	D	G	-	-	H	D	E	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
YP_176145	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	E	G	-	Q	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
ZP_01723401	(73)	E	A	T	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	L	-	Q	H	F	L	P	D	H	T	I	H	A	A	N	-	-	-	D	S	Q	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
ZP_03054403	(61)	H	A	N	S	I	E	R	T	V	V	K	M	N	L	P	L	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	E	G	-	-	H	D	E	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
ZP_04150084	(61)	E	A	E	R	H	F	E	L	V	K	M	N	L	P	P	-	E	H	L	L	E	V	D	Q	T	V	H	G	A	E	S	-	-	S	I	S	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04155855	(61)	E	A	E	R	H	F	E	L	V	K	M	N	L	P	P	-	E	H	L	L	E	V	D	Q	T	V	H	G	A	E	S	-	-	S	I	S	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04161675	(61)	E	A	E	R	H	F	E	L	V	K	M	N	L	P	P	-	E	H	L	L	E	V	D	Q	T	V	H	G	A	E	S	-	-	S	I	S	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04180582	(61)	E	V	K	D	H	F	V	E	V	E	S	N	D	L	P	K	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	G	A	H	-	-	-	D	N	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04201013	(61)	E	V	K	D	H	F	V	E	V	E	S	N	D	L	P	E	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	G	A	H	-	-	-	D	N	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04217826	(61)	E	V	K	D	H	F	V	E	V	E	S	N	D	L	P	K	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	G	A	H	-	-	-	D	N	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04295322	(61)	E	V	K	D	H	F	V	E	V	E	S	N	D	L	P	E	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	G	A	H	-	-	-	D	N	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_04432136	(63)	E	P	H	G	K	K	E	R	T	G	E	N	H	L	P	Q	-	R	H	F	L	P	D	H	T	I	L	D	E	M	G	-	T	O	F	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T	
ZP_05132033	(107)	E	A	F	F	I	S	T	E	L	I	M	E	L	P	D	-	K	H	F	L	P	D	H	T	I	H	L	G	T	-	-	-	V	I	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T
ZP_06872569	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	E	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
ZP_07051936	(71)	E	A	S	K	U	K	T	E	V	K	M	N	L	P	L	-	Q	H	F	L	P	D	H	T	I	H	A	A	N	-	-	-	D	S	Q	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
ZP_08001338	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	D	-	R	H	F	L	P	D	H	T	I	H	E	D	G	-	-	H	D	E	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
ZP_08642538	(61)	N	E	R	R	F	E	L	V	K	M	N	L	P	P	-	Q	H	L	L	E	V	D	T	T	V	H	G	A	E	P	-	-	S	I	S	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
ZP_08679639	(67)	N	E	R	R	G	T	H	V	K	M	N	L	P	D	-	K	H	L	L	E	I	D	R	T	L	G	E	G	E	-	-	H	M	E	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T		
MG COT2	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	T	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
MG mutante	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	E	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
MG COT1	(61)	E	T	F	A	R	E	T	V	V	K	M	N	L	P	S	-	E	H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	I	S	Q	H	E	R	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T			
Consenso	(107)	E	V	R	N	E	V	V	K	M	N	L	P	E				H	F	L	P	D	H	T	I	H	S	D			H	D	E	P	E	V	K	T	V	H	H	G	C	V	T				

Figura 4 cont.

	(160)	160	170	180	190	200	212																																										
2WSD_A (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
2X87_A (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
AAB62305 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ACM46021 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ACS44284 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
AEK60414 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
BAA22774 (115)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
NP_388511 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
NP_692267 (110)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_001420286 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_001485796 (111)	A	S	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_001697777 (122)	W	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_003639715 (112)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_003919218 (113)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_003972023 (113)	Y	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_004206641 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_004569824 (114)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_077905 (111)	A	S	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
YP_176145 (110)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_01723401 (122)	W	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_03054403 (111)	A	S	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04150084 (111)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04155855 (111)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04161675 (111)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04180582 (110)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04201013 (110)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04217826 (110)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04295322 (110)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_04432136 (114)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_05132033 (156)	S	G	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_06872569 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_07051936 (120)	W	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_08001338 (111)	A	S	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_08642538 (111)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
ZP_08679639 (117)	P	E	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
MG COT2 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
MG mutante (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F	K	R	E	V	I	H	Y	P	N	Q	O	R	G	A	I	L	W	Y	H	D	H	A	M	A	L	T	R	L	N	V	Y
MG COT1 (113)	E	D	D	G	P	R	A	W	S	K	D	R	E	O	R	G	I	F																															

Figura 4 cont.

	(213)	213	220	230	240	250	265																															
2WSD_A (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
2X87_A (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
AAB82305 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ACM48021 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ACS44284 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ACK00414 (166)	AGLIGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
BAA22774 (168)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
NP_388511 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
NP_682267 (163)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_001420286 (166)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_001485796 (164)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_001697777 (175)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_003639715 (165)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_003919218 (166)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_003972023 (166)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_004206641 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_004569824 (167)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_077905 (164)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
YP_176145 (163)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_01723401 (175)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_03054403 (164)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04150084 (164)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04155855 (164)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04161675 (164)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04180582 (163)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04201013 (163)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04217826 (163)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04295322 (163)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_04432136 (167)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_05132033 (209)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_06872569 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_07051936 (173)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_08001338 (164)	AGLVGLY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_08942538 (164)	AGLVGFY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
ZP_08679639 (170)	AGLVGMY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
MG COT2 (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
MG mutante (166)	AGLVGAY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
MG COT1 (166)	AGLVGDY	EH	PEERF	KLPSE	DEYDV	PLL	TDRT	INR	G	L	Y	P	A	EN	---																							
Consenso (213)	AGLVG	Y	I	R	D	K	E	K	R	L	P	S	G	E	Y	D	I	P	L	L	I	D	R	F	N	E	D	G	S	L	F	V	P	S	P	E	N	E

Figura 4 cont.

	(266) 266	280	290	300	318
2WSD_A (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
2X87_A (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
AAB62305 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ACM46021 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ACS44284 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
AEK80414 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
BAA22774 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
NP_388511 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
NP_692267 (213)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_001420286 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_001485796 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_001697777 (225)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_003639715 (219)	F-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_003919218 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_003972023 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_004208641 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_004569824 (217)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_077805 (214)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
YP_178145 (213)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_01723401 (225)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_03054403 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04150084 (217)	APQPPPPPIE	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04155856 (217)	APQPPPPPIE	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04161675 (217)	APQPPPPPIE	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04180582 (213)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04201013 (213)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04217828 (213)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04295322 (213)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_04432136 (217)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_05132033 (259)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_06872569 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_07051936 (223)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_08001338 (214)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_08642538 (217)	APQPPPPPIE	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
ZP_08679639 (222)	----DLEPGLE	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
MG COT2 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
MG mutante (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
MG COT1 (216)	-----	SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT
Consenso (266)		SPSLP	PSIVEAF	CGETILVNGK	WPYLEVEPRKRYFRILNASNT

Figura 4 cont.

	(319)	319	330	340	350	360	371
2WSO_A (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
2X87_A (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
AAB62305 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ACM46021 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ACS44284 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
AEK80414 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
BAA22774 (263)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
NP_398511 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
NP_692267 (258)	RT	RIE	SLNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY
YP_001420286 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_001485796 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_001697777 (268)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_003839715 (264)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_003919218 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_003972023 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_004206641 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_004589824 (262)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_077905 (259)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
YP_176145 (258)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_01723401 (268)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_03054403 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04150084 (270)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04155855 (270)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04161675 (270)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04180582 (258)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04201013 (258)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04217826 (258)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04295322 (258)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_04432136 (262)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_05132033 (302)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_06872569 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_07051936 (266)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_08001338 (259)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_08642538 (270)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
ZP_08679639 (271)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
MG COT2 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
MG mutante (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
MG COT1 (261)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES
Consenso (319)	RT	ELSLDNGG	FIQIGSDGGLLP	RSVALN	FSLAP	ERY	DIIDFSAAYEGES

Figura 4 cont.

	(372)	372	380	390	400	410	424	
2WSD_A (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
2X87_A (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
AAB62305 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ACM46021 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ACS44284 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
AEK60414 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
BAA22774 (316)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
NP_388511 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
NP_692267 (311)	IN	N	DI	ED	---	ADPDQCTNHIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_001420286 (314)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_001485796 (314)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_001697777 (321)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_003639715 (317)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_003919218 (314)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_003972023 (314)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_004206641 (314)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_004569824 (315)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_077905 (312)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
YP_176145 (311)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_01723401 (321)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_03054403 (314)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_04150084 (323)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_04155855 (323)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_04161675 (323)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_04180582 (311)	V	V	C	SID	LEN	---	TGEVMEFQVTRPSCPKKIKL	CLGN
ZP_04201013 (311)	V	V	C	SID	LEN	---	TGEVMEFQVTRPSCPKKIKL	CLGN
ZP_04217826 (311)	V	V	C	SID	LEN	---	TGEVMEFQVTRPSCPKKIKL	CLGN
ZP_04295322 (311)	V	V	C	SID	LEN	---	TGEVMEFQVTRPSCPKKIKL	CLGN
ZP_04432136 (315)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_05132033 (355)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_06872569 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_07051936 (319)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_08001338 (312)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_08642538 (323)	IT	L	TD	DFID	---	GHNTNVIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
ZP_08679639 (324)	EV	V	I	ENT	ARS	PF	FDPPVGI	FDPPVGI
MG COT2 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
MG mutante (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
MG COT1 (314)	ILL	A	SA	---	G	VNPETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS	
Consenso (372)	I	I	L	N	CG	D	PETDANIMQFRVTKPLAQKDE	RYKYAS

Figura 4 cont.

	(425)	425	430	440	450	460	477
2WSD_A (358)	Y	SVQHEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
2X87_A (358)	Y	SVQHRE	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
AAB62305 (357)	H	TLRVEMKD	--TNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ACM46021 (358)	Y	SVQHEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ACS44284 (358)	Y	SVQHEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
AEK80414 (358)	Y	SVQHEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
BAA22774 (360)	Y	SVQHET	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
NP_388511 (358)	Y	SVQHEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
NP_892267 (354)	T	SLKQNS	--NTI	RM	KIV	SELKEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_001420286 (358)	M	NYTSKE	--HNI	RM	KIV	SELKEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_001485796 (358)	L	PLRPSA	--DQI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_001697777 (362)	T	MLHPHHA	--HIE	RC	ENT	ATQDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_003638715 (367)	L	RIKEEMA	--GVY	RD	CT	VEESTDEEGRLLELL	ENGLSDPVEIPKVGSTTEI
YP_003919218 (358)	M	DMTGER	--HNI	RM	KIV	SELKEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_003972023 (358)	L	PVTDEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_004206641 (358)	Y	SVQHEK	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_004589824 (358)	L	VPSSQNV	--SAR	RH	ENT	ATQDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_077905 (357)	R	FYRRHK	--NAR	RM	KIV	SELKEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
YP_176145 (349)	L	SEQQNL	--KRI	RM	KIV	SELKEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_01723401 (362)	T	MLHPHHA	--HIE	RC	ENT	ATQDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_03054403 (358)	L	PERPCA	--DKI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_04150084 (370)	L	EQNPQDA	--VIT	RNT	LEA	ISFGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04155855 (370)	L	EQNPQDA	--VIT	RNT	LEA	ISFGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04161675 (370)	L	EQNPQDA	--VIT	RNT	LEA	ISFGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04180582 (350)	I	DFIPEKV	--KKV	RP	ENT	NDSEDEEGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04201013 (350)	I	DFIPEKV	--KKV	RP	ENT	NDSEDEEGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04217826 (350)	I	DFIPEKV	--KKV	RP	ENT	NDSEDEEGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04295322 (350)	I	DFIPEKV	--KKV	RP	ENT	NDSEDEEGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
ZP_04432136 (358)	L	VESSHNV	--SAR	RH	ENT	ATQDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_05132033 (386)	V	HLNKSLV	--ENR	KV	SFG	EMTORYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_06872569 (358)	Y	SVQNER	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_07051936 (360)	S	MDLHPHHA	--HIE	RC	ENT	ATQDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_08001338 (357)	R	FYRRHK	--NAR	RM	KIV	SELKEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_08642538 (370)	L	KLDPKDA	--ITV	RKN	VEE	STQDEGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
ZP_08679639 (376)	I	KLKACDA	--ERT	RD	CT	VEESTDEEGRLMELNNME	NQITPTPYNSTTEI
MG COT2 (358)	Y	SVQNER	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
MG mutante (358)	Y	SVQNER	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
MG COT1 (358)	Y	SVQNER	--QNI	RT	AKA	QDEYGRPVLLNNKRWHD	PVTEIPKVGSTTEI
Consenso (425)	I	P	L	R	I	I	R
	L	K	L	G	T	D	E
	Y	G	R	P	V	L	L
	N	N	K	R	W	H	D
	P	V	T	E	I	P	K
	V	G	S	T	T	E	I

Figura 4 cont.

	(478)	478	490	500	510	520	530
2WSD_A (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
2X87_A (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
AAB62305 (408)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ACM48021 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ACS44284 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
AEK80414 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
BAA22774 (411)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
NP_388511 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
NP_682267 (405)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_001420286 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_001485796 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_001687777 (413)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_003639715 (418)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_003919218 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_003972023 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_004206641 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_004569824 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_077905 (408)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
YP_176145 (400)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_01723401 (413)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_03054403 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04150084 (421)	WEI	NT	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04155855 (421)	WEI	NT	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04161675 (421)	WEI	NT	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04180582 (401)	WEI	NL	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04201013 (401)	WEI	NL	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04217826 (403)	WEI	NL	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04285322 (401)	WEI	NL	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_04432136 (409)	WEI	NT	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_05132033 (447)	WEI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_06872569 (409)	WEI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_07051936 (411)	WEI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_08001338 (408)	WEI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_08642538 (421)	WEI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
ZP_08679639 (427)	WEI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
MG COT2 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
MG mutante (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
MG COT1 (409)	WSI	NP	PTTHPIHHL	SFFVLDKRRPFDIAP	YQ	SELS	YTGPAVPP
Consenso (478)	WSI	IN	T	GTHPIHLHLVQ	FRVLDKRRPFDI	RYQE	GEL YTGPAVPP PSEK

Figura 4 cont.

	(531)	531	540	550	560	570	583	
2WSD_A (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
2X87_A (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
AAB82305 (460)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
ACM48021 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
ACS44294 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
AEK80414 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
BAA22774 (464)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
NP_388511 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
NP_692267 (458)	GWKDT	EL	APGAH	TD	AMRE	EGGIVWHCH	LEHEDYMMRPFTVAKEEE	
YP_001420286 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK--	
YP_001485796 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK----	
YP_001897777 (466)	GWKDT	KVD	KIT	IMHKKDHVGN	WHCH	FLEHED	YMMRPFLVMKDVHA	
YP_003639715 (471)	GWKDT	RTNP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPYEVVAEEEE	
YP_003919218 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK--	
YP_003972023 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK--	
YP_004288641 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
YP_004589824 (462)	GWKDT	AL	PG	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPFOVDPDLP	
YP_077905 (481)	GLKDT	EV	PP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPLEVTVVRHQ
YP_176145 (453)	GWKDT	IT	PG	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPFVVVSPETE	
ZP_01723401 (466)	GWKDT	EV	DA	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPFLVMKDVHA
ZP_03054403 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK----	
ZP_04150084 (471)	GWKDT	FP	NP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPYEVVIANPSF
ZP_04155855 (471)	GWKDT	FP	NP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPYEVVIANPSF
ZP_04161675 (471)	GWKDT	FP	NP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPYEVVIANPSF
ZP_04180582 (441)	GLKDT	LV	AGE	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPKIPSSSLI	
ZP_04201013 (441)	GLKDT	LV	AGE	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPKIPSSSLN	
ZP_04217826 (443)	GLKDT	LV	AGE	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPKIPSSSLN	
ZP_04285322 (441)	GLKDT	LV	AGE	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPKIPSSSLN	
ZP_04432136 (462)	GWKDT	AL	PG	QIT	IMMR	SGRYVWHCH	LEHEDYMMRPFOVDPDLP	
ZP_05132033 (500)	GWKDT	DE	EP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPKIPSSSLN
ZP_06872569 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
ZP_07051936 (464)	GWKDT	KVD	KIT	IMHKKDHVGN	WHCH	FLEHED	YMMRPFLVMKDVHA	
ZP_08001338 (461)	GLKDT	KV	PP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPLEVTVVRHQ
ZP_08642538 (471)	GWKDT	FP	NP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPYEVVIANPSF
ZP_08679639 (480)	GWKDT	FP	NP	ST	AI	RV	SGYVWHCH	LEHEDYMMRPYEVVIANPSF
MG COT2 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK3	
MG mutante (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
MG COT1 (462)	GWKDT	IQ	HAGGV	EL	AVT	GGYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK-	
Consenso (531)	GWKDT	VQA	AGEVLRITA	FGPYSGRYVWHCH	LEHEDYMMRPMDITPHK			

Figura 4 cont.

	(584)	584	590	600	610	620	636
2WSD_A (514)	-----						
2X87_A (514)	-----						
AAB62305 (512)	-----						
ACM46021 (514)	-----						
ACS44284 (514)	-----						
AEK80414 (514)	-----						
BAA22774 (516)	-----						
NP_388511 (514)	-----						
NP_692267 (511)	ETL-----						
YP_001420286 (513)	-----						
YP_001495796 (510)	-----						
YP_001697777 (519)	VQQPHAEIEPSSHQEVTTTTTSTPTTNTSTTHHNESFVPLNLSQIPSTEESE						
YP_003639715 (524)	-----						
YP_003918218 (513)	-----						
YP_003972023 (514)	-----						
YP_004206641 (514)	-----						
YP_004569824 (515)	ESDSPLSD-----						
YP_077905 (514)	-----						
YP_176145 (506)	KERR-----						
ZP_01723401 (519)	VQQPHAEIEGPTHHEATITSTTTAPTPTTNTTSTTHHNESFAPLLNASQIPFT						
ZP_03054403 (511)	-----						
ZP_04160084 (524)	NP CERDPEGCSDNAPSQCFGCYQQRKNKKEEK8-----						
ZP_04155855 (524)	NPCE-----						
ZP_04161675 (524)	NPCE-----						
ZP_04180582 (494)	KYEK-----						
ZP_04201013 (494)	KHKK-----						
ZP_04217826 (492)	-----						
ZP_04295322 (494)	RHKLN-----						
ZP_04432136 (515)	ASDQPLD-----						
ZP_05132033 (553)	K-----						
ZP_06872569 (514)	-----						
ZP_07051936 (517)	VQQPHAAVEHPVTHQESTAPTNTSTTNTSTTTHHSESSAPLLNEVEHSEVLEE						
ZP_08001338 (514)	-----						
ZP_08642538 (524)	DP CIPIRGVCRDSDSFTQCCHEDDENCKCKERNPKK-----						
ZP_08679639 (533)	CNQNCSEHKCTCKCECKKTCTCTGQCKCICKQPDCKCECKFTCKCHEKKPSQPPK						
MG COT2 (515)	DPN36SVDRKLHRTAPPFPFPLRSGC-----						
MG mutante (514)	-----						
MG COT1 (514)	-----						
Consenso (584)	-----						

Figura 4 cont.

	(637) 637	650	660	670	685
2WSD_A (514)	-----	-----	-----	-----	-----
2X87_A (514)	-----	-----	-----	-----	-----
AAB62305 (512)	-----	-----	-----	-----	-----
ACM46021 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
ACS44284 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
AEK80414 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
BAA22774 (516)	-----	-----	-----	-----	-----
NP_388511 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
NP_692267 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_001420286 (513)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_001495796 (510)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_001687777 (572)	IKESLVEESVHIGNNVQHRPILLFPTKSTPACTSRPRRRGHRF----	-----	-----	-----	-----
YP_003639715 (524)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_003919218 (513)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_003972023 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_004206641 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_004569824 (523)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_077905 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
YP_176145 (510)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_01723401 (572)	EEEEIVDSLAEETTHIGNNDQHRPILLFPTSTRTDTNRPRPRRRPRF-	-----	-----	-----	-----
ZP_03054403 (511)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04150084 (557)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04155855 (528)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04161675 (528)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04180582 (498)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04201013 (498)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04217826 (492)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04295322 (499)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_04432136 (523)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_05132033 (554)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_06872569 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_07051936 (570)	EKEALPNEEESITIHKGDNTRHMPDLLLPTLPTNTPTNRQPRRRTRRF	-----	-----	-----	-----
ZP_08001338 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_08642538 (559)	-----	-----	-----	-----	-----
ZP_08679839 (586)	DVECSQKCPKCPFCSETYRCECE-----	-----	-----	-----	-----
MG COT2 (540)	-----	-----	-----	-----	-----
MG mutante (514)	-----	-----	-----	-----	-----
MG COT1 (514)	-----	-----	-----	-----	-----
Consenso (637)	-----	-----	-----	-----	-----

Figura 5

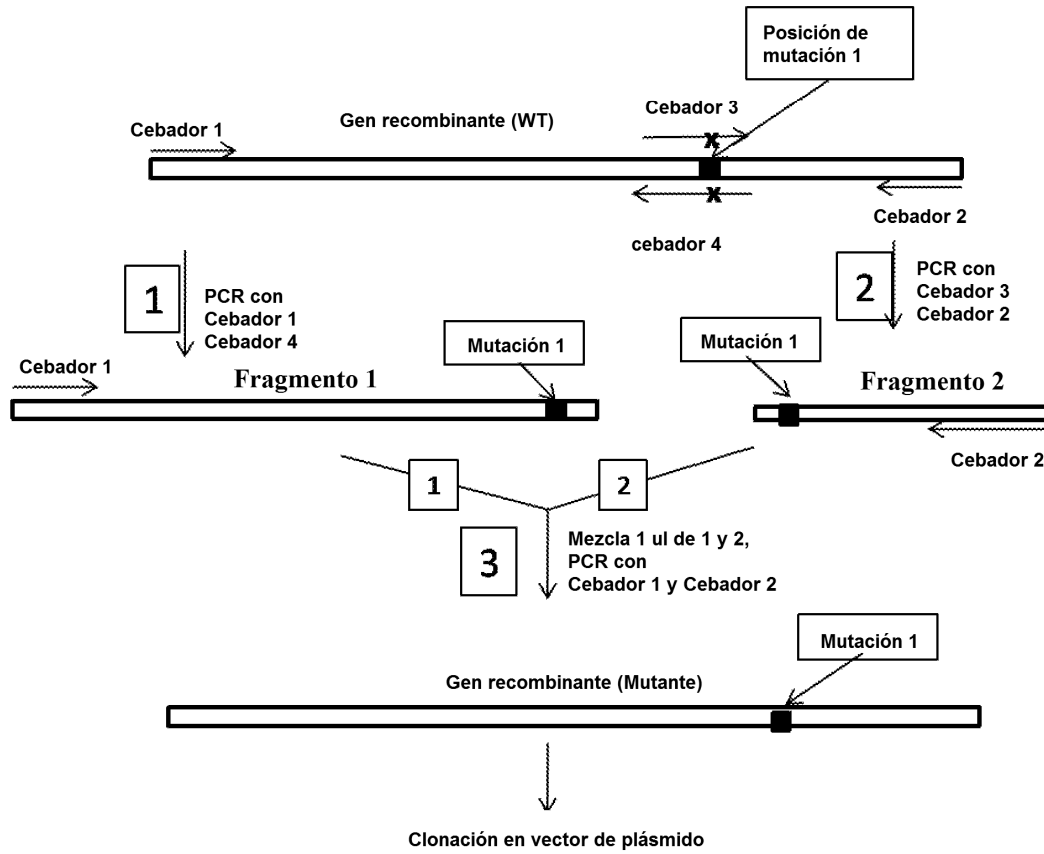


Figura 6

