

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 342**

51 Int. Cl.:

C12N 15/86 (2006.01)
C07K 14/005 (2006.01)
C12Q 1/70 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 15/115 (2010.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2012 PCT/US2012/034413**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2012 WO12145601**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2012 E 12774323 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2017 EP 2699270**

54 Título: **Viriones de virus adenoasociado con cápside variante y métodos para su uso**

30 Prioridad:

22.04.2011 US 201161478355 P

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

19.10.2017

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US**

72 Inventor/es:

**SCHAFFER, DAVID V.;
KLIMCZAK, RYAN R.;
KOERBER, JAMES T.;
FLANNERY, JOHN G.;
DALKARA MOURROT, DENIZ;
VISEL, MEIKE y
BYRNE, LEAH C.T.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 638 342 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

Viriones de virus adenoasociado con cápside variante y métodos para su uso

5 Declaración según la investigación federalmente financiada

Esta invención se realizó con apoyo del gobierno bajo las subvenciones N° EY016994-02 y EY1018241 otorgadas por el "National Eye Institute of the National Institutes of Health". El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

10 Antecedentes

Los fotorreceptores son las primeras neuronas en la retina para recibir y procesar la información visual, convirtiendo la radiación electromagnética visible en respuestas hiperpolarizadas a través de fototransducción. La mayoría aplastante de enfermedades de la retina hereditarias dan como resultado la pérdida de estas células, o bien directamente, tal como en mutaciones dominantes que afectan al plegamiento de la proteína rodopsina, o indirectamente, tal como en mutaciones recesivas que afectan a las rutas de reciclado de la retina en el epitelio pigmentario de la retina (EPR).

VAA pertenece a la familia *Parvoviridae* y al género *Dependovirus*, cuyos miembros requieren infección conjunta con un virus auxiliar tal como adenovirus para fomentar la replicación, VAA establece una infección latente en ausencia de un auxiliar. Los viriones están compuestos de una cápside icosaédrica de 25 nm que rodea un genoma de ADN de cadena sencilla de 4,9 kb con dos marcos de lectura abiertos; *rep* y *cap*. El gen *rep* no estructural codifica cuatro proteínas reguladoras esenciales para la replicación vírica, mientras que *cap* codifica tres proteínas estructurales (VP1-3) que se ensamblan en una cubierta de la cápside 60-mer. Esta cápside viral media la capacidad de los vectores de VAA de superar muchas de las barreras biológicas de la transducción viral incluyendo unión a receptor superficial celular, endocitosis, tráfico intracelular, y desempaquetamiento en el núcleo.

Bibliografía

Publicación de Patente americana N° 2005/0053922; Publicación de Patente americana N° 2009/0202490; Allocca y col. (2007) *J. Virol.* 81:11.372; Boucas y col. (2009) *J. Gene Med.* 11:1.103. Los viriones de VAA se describieron en el documento WO 2010/093784; Petrs-Silva y col., *Molecular Therapy*, vol. 17, n° 3, marzo 2009 páginas 463-471; Park y col., *Gene Therapy*, vol. 16 n° 7, julio 2009, páginas 916-926; y Watanabe y col., *PLoS ONE*, 8 (1), e54146 (2013).

Compendio de la invención

La presente invención proporciona un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr), o una composición farmacéutica que comprende dicho virión, para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad ocular en un individuo que lo necesite, en donde la composición comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable, y en el que el virión de virus adenoasociado recombinante comprende: a) una proteína de la cápside de VAA variante, en el que la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en el que la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO: 16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60); y b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos codificante de un producto génico; en el que la proteína de la cápside variante infecta una célula retiniana.

La presente descripción también presenta un número de otras realizaciones tratadas más adelante en el presente documento. Estas realizaciones de la descripción se proporcionan a modo de referencia a la presente invención, cuyo alcance se define en las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 proporciona un modelo tridimensional representativo de VAA2 que contiene un heptámero aleatorio después del aminoácido 587.

La Figura 2 representa niveles mayores de transducción intravítrea por la variante 7M8 de VAA2 (derecha), en relación con VAA2 (izquierda).

La Figura 3 proporciona imágenes de fluorescencia representativas de criocortes de la retina que muestran la expresión de la proteína verde fluorescente (GFP) que resulta de 7M8 que lleva el gen GFP bajo el control del promotor CAG ubicuo (izquierda) o un promotor de Rho específico a fotorreceptor (derecha).

La Figura 4 representa células fotorreceptoras GFP⁺ por millón de células retinianas contadas por citometría de flujo, después de transducción por 7M8 o por 7M8 que porta 4 mutaciones de tirosina (7m8.4YF).

La Figura 5 proporciona una secuencia de aminoácidos de VP1 de VAA2 (SEQ ID NO:1).

La Figura 6 proporciona secuencias de aminoácidos que corresponden a los aminoácidos 570 a 610 de VAA2

(Figura 5) de la proteína VP1 de la cápside de VAA de diversos serotipos de VAA.

Las Figuras 7A-I representan mejoras estructurales en la retina de ratón *Rslh/-* después de la transferencia génica.

Las Figuras 8A-D representan rescate funcional de las ondas A y B de electroretinograma después de la administración del gen de RS1.

Las Figuras 9A-E representan mejoras constantes en el grosor de la retina medido a los 10 meses después del tratamiento con 7m8-rho-RS1.

La Figura 10 proporciona una secuencia de aminoácidos de retinosquisina.

La Figura 11 proporciona una secuencia de aminoácidos del factor neurotrófico derivado del cerebro.

La Figura 12 proporciona una secuencia de aminoácidos de EPR65.

Las Figuras 13A-C proporcionan la secuencia de nucleótidos de la construcción 7m8-rho-RS1.

La Figura 14 proporciona una secuencia de aminoácidos de periferina-2.

La Figura 15 proporciona una secuencia de aminoácidos de periferina.

La Figura 16 proporciona una secuencia de aminoácidos de la proteína 1 que interactúa con el regulador de la GTPasa de la retinitis pigmentosa.

Las Figuras 17A-C proporcionan un alineamiento de secuencias de aminoácidos de regiones de bucle IV (bucle GH) de la proteína de la cápside de VAA. Los sitios de inserción se muestran en negrita y subrayados.

Las Figuras 18A-C proporcionan un alineamiento de secuencias de aminoácidos de regiones de bucle GH de la proteína de la cápside de VAA, con inserciones peptídicas heterólogas.

La Figura 19 proporciona una imagen de fluorescencia del fondo que muestra la expresión de GFP en retina central de primate 9 semanas después de la administración de 7m8 que lleva GFP bajo el control de un promotor de conexina 36.

Definiciones

En el presente documento el término “célula retiniana” puede referirse a cualquiera de los tipos celulares que comprenden la retina, tales como células ganglionares de la retina, células amacrinas, células horizontales, células bipolares y células fotorreceptoras incluyendo los bastones y conos, células gliales de Müller, y epitelio pigmentario de la retina.

“VAA” es una abreviación para virus adenoasociado, y se puede usar para referirse al propio virus o a sus derivados. El término cubre todos los subtipos y tanto formas de origen natural como recombinantes, excepto cuando se requiere otra cosa. La abreviación “VAAr” se refiere a virus adenoasociado recombinante, también se refiere a un vector de VAA recombinante (o “vector de VAAr”). El término “VAA” incluye VAA tipo 1 (VAA-1), VAA tipo 2 (VAA-2), VAA tipo 3 (VAA-3), VAA tipo 4 (VAA-4), VAA tipo 5 (VAA-5), VAA tipo 6 (VAA-6), VAA tipo 7 (VAA-7), VAA tipo 8 (VAA-8), VAA aviar, VAA bovino, VAA canino, VAA equino, VAA primate, VAA no primate y VAA ovino. “VAA primate” se refiere a VAA que infecta primates, “VAA no primate” se refiere a VAA que infecta mamíferos no primates, “VAA bovino” se refiere a VAA que infecta animales bovinos, etc.

Las secuencias genómicas de diversos serotipos de VAA, así como las secuencias de las repeticiones terminales (RT) nativas, proteínas Rep, y subunidades de la cápside son conocidas en la técnica. Tales secuencias se pueden encontrar en la bibliografía o en bases de datos públicas tales como GenBank. Véase, por ejemplo, Números de acceso GenBank NC_002077 (VAA-1), AF063497 (VAA-1), NC_001401 (VAA-2), AF043303 (VAA-2), NC_001729 (VAA-3), NC_001829 (VAA-4), U89790 (VAA-4), NC_006152 (VAA-5), AF513851 (VAA-7), AF513852 (VAA-8), y NC_006261 (VAA-8); cuyas descripciones enseñan secuencias de ácidos nucleicos de VAA y de aminoácidos. Véase también, por ejemplo, Srivastava y col. (1983) *J. Virology* 45:555; Chiorini y col. (1998) *J. Virology* 71:6.823; Chiorini y col. (1999) *J. Virology* 73:1.309; Bantel-Schaal y col. (1999) *J. Virology* 73:939; Xiao y col. (1999) *J. Virology* 73:3.994; Muramatsu y col. (1996) *Virology* 221:208; Shade y col., (1986) *J. Virol.* 58:921; Gao y col. (2002) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 99:1.1854; Moris y col. (2004) *Virology* 33:375-383; publicaciones de patente internacional WO 00/28061, WO 99/61601, WO 98/11244; y documento de Patente americana N° 6.156.303.

El “vector de VAAr” usado en el presente documento se refiere a un vector de VAA que comprende una secuencia de polinucleótidos no de origen VAA (es decir, un polinucleótido heterólogo a VAA), generalmente una secuencia de interés para la transformación genética de una célula. En general, el polinucleótido heterólogo está flanqueado por al menos una, y generalmente por dos, secuencias de repetición terminal invertida (RT) de VAA. El término vector de VAAr abarca tanto partículas de vector de VAAr como plásmidos de vector de VAAr. Un vector de VAAr puede ser o bien de cadena sencilla (VAAcs) o autocomplementario (VAAac).

Un “virus VAA” o “partícula vírica VAA” o “partícula vector de VAAr” se refiere a una partícula viral compuesta de al menos una proteína de la cápside de VAA (generalmente por todas las proteínas de la cápside de un VAA tipo natural) y un vector de VAAr de polinucleótido sometido a encapsidación. Si la partícula comprende un polinucleótido heterólogo (es decir, un polinucleótido distinto de un genoma de VAA de tipo natural tal como un transgen a administrar a una célula mamífera), generalmente se refiere a una “partícula vector de VAAr” o simplemente un “vector de VAAr”. Por tanto, la producción de partícula de VAAr necesariamente incluye la producción del vector de VAAr, ya que tal vector está contenido dentro de una partícula de VAAr.

“Empaquetamiento” se refiere a una serie de sucesos intracelulares que dan como resultado el ensamblaje y la encapsidación de una partícula de VAA.

Los genes “*rep*” y “*cap*” de VAA se refieren a secuencias de polinucleótidos codificantes de proteínas de replicación y encapsidación de virus adenoasociados. En el presente documento *rep* y *cap* de VAA se refieren como “genes de empaquetamiento” de VAA.

Un “virus auxiliar” para VAA se refiere a un virus que permite que VAA (por ejemplo, VAA de tipo natural) sea replicado y empaquetado por una célula mamífera. En la técnica se conocen una gran diversidad de tales virus auxiliares para VAA, incluyendo adenovirus, herpesvirus y poxvirus tales como vaccinia. El adenovirus abarca un número de diferentes subgrupos, aunque se usa más comúnmente el Adenovirus tipo 5 del subgrupo C. Se conocen numerosos adenovirus de origen humano, mamífero no humano y aviar y están disponibles en depósitos tales como ATCC. Los virus de la familia herpes incluyen, por ejemplo, virus del herpes simple (VHS) y virus de Epstein-Barr (VEB), así como citomegalovirus (CMV) y virus de la pseudorrabia (VPR); los cuales están también disponibles en depósitos tales como ATCC.

“Función(es) del virus auxiliar” se refiere a la(s) función(es) codificada(s) en un genoma de virus auxiliar que permite la replicación y empaquetamiento de VAA (junto con otros requerimientos para la replicación y empaquetamiento descritos en el presente documento). Tal como se describe en el presente documento, “función del virus auxiliar” se puede proporcionar en un número de modos, incluyendo proporcionando virus auxiliar o proporcionando, por ejemplo, secuencias de polinucleótidos codificantes de la(s) función(es) requisito(s) para una célula productora en trans. Por ejemplo, un plásmido u otro vector de expresión que comprende secuencias de nucleótidos codificantes de una o más proteínas adenovíricas se somete a transfección en una célula productora junto con un vector de VAAr.

Un virus o partícula viral “infecciosa” es uno que comprende una cápside viral competentemente ensamblada y es capaz de administrar un componente de polinucleótido en una célula para la cual la especie viral es trópica. El término no necesariamente implica cualquier capacidad de replicación del virus. Los ensayos para recuento de partículas virales infecciosas se describen en otra parte en esta descripción y en la técnica. La infección viral se puede expresar como la relación de partículas virales infecciosas y partículas virales totales. En la técnica se conocen métodos de determinación de la relación de partícula viral infecciosa y partícula viral total. Véase, por ejemplo, Grainger y col. (2005) *Mol. Ther.* 11:S337 (que describe un ensayo de titulación infecciosa de TCID₅₀); y Zolotukhin y col. (1999) *Gene Ther.* 6:973. Véanse también los Ejemplos.

Un virus “competente para replicación” (por ejemplo, VAA competente para replicación) se refiere a un virus fenotípicamente de tipo natural que es infeccioso, y también es capaz de ser replicado en una célula infectada (es decir, en presencia de un virus auxiliar o funciones de virus auxiliar). En el caso de VAA, la competencia de replicación generalmente requiere la presencia de genes funcionales de empaquetamiento de VAA. En general, los vectores de VAAr descritos en el presente documento son incompetentes para replicación en células mamíferas (especialmente en células humanas) debido a la falta de uno o más genes de empaquetamiento de VAA. Generalmente, tales vectores de VAAr carecen de alguna secuencia de gen de empaquetamiento de VAA para minimizar la posibilidad de que el VAA competente para replicación se genere por recombinación entre genes de empaquetamiento de VAA y un vector de VAAr entrante. En muchas realizaciones, las preparaciones del vector de VAAr descritas en el presente documento son aquellas que contienen pocos si algún VAA competente para replicación (VAAcr, también se refiere como RCA) (por ejemplo, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10² partículas de VAAr, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10⁴ partículas de VAAr, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10⁸ partículas de VAAr, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10¹² partículas de VAAr, o no VAAcr).

El término “polinucleótido” se refiere a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, incluyendo desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, o análogos de los mismos. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótido, y se pueden interrumpir por componentes no nucleótidos. Si está presente, se pueden impartir modificaciones a la estructura de nucleótidos antes o después del ensamblaje del polímero. El término polinucleótido, como se usa en el presente documento, se refiere intercambiamente a moléculas de cadena doble y sencilla. A menos que se especifique o requiera lo contrario, cualquier realización de la invención descrita en el presente documento que es un polinucleótido abarca tanto la forma de doble cadena como cada una de las dos formas complementarias de cadena sencilla conocidas o previstas para componer la forma de doble cadena.

Las reacciones de hibridación del ácido nucleico se pueden realizar bajo condiciones de diferente “rigor”. Condiciones que incrementan el rigor de una reacción de hibridación se conocen ampliamente y están publicadas en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y col. “Molecular Cloning, A Laboratory Manual”, 2^o Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989. Por ejemplo, véase la página 7.52 de Sambrook y col. Ejemplos de condiciones relevantes incluyen (en orden de rigor creciente): temperaturas de incubación de 25 °C, 37 °C, 50 °C y 68 °C; concentraciones tampón de 10xSCC, 6xSSC, 1xSSC, 0,1xSSC (donde 1xSSC es NaCl 0,15 M y tampón citrato 15 mM) y sus equivalentes usando otro sistemas tampón; concentraciones de formamida de 0 %, 25 %, 50 %, y 75 %; tiempos de incubación desde 5 minutos a 24 horas; 1, 2 o más etapas de lavado; tiempos de

incubación de lavado de 1, 2 o 15 minutos; y soluciones de lavado de 6xSSC, 1xSSC, 0,1xSSC, o agua desionizada. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosa es la hibridación a 50 °C o más y 0,1xSSC (cloruro de sodio 15 mM/citrato de sodio 1,5 mM). Otro ejemplo de condiciones de hibridación rigurosa es incubación durante la noche a 42 °C en una solución: formamida al 50 %; 1xSSC (NaCl 150 mM, citrato de sodio 15 mM), fosfato de sodio 50 mM (pH 7,6), 5x solución de Denhardt, sulfato de dextrano al 10 %, y 20 µg/ml de ADN de esperma de salmón partido desnaturalizado, seguido de lavado de los filtros en 0,1xSSC a aproximadamente 65 °C. Como otro ejemplo, las condiciones de hibridación rigurosa comprenden: hibridación previa durante 8 horas durante la noche a 65 °C en una solución que comprende 6x citrato de potencia sencilla (SSC) (1xSSC es NaCl 0,15 M, citrato de Na 0,015 M; pH 7,0), 5x solución de Denhardt, pirofosfato de sodio al 0,05 % y 100 µg/ml de ADN de esperma de arenque; hibridación durante 18 a 20 horas a 65 °C en una solución que contiene 6xSSC, 1x solución de Denhardt, 100 µg/ml de ARNt de levadura y pirofosfato de sodio al 0,05 %; y lavado de los filtros a 65 °C durante 1 h en una solución que contiene 0,2xSSC y SDS al 0,1 % (dodecil sulfato de sodio).

Condiciones de hibridación rigurosa son condiciones de hibridación que son al menos tan rigurosa como las anteriores condiciones representativas. En la técnica se conocen otras condiciones de hibridación rigurosa y también se pueden emplear para identificar ácidos nucleicos de esta realización particular de la invención.

“T_m” es la temperatura en grados Celsius a la cual el 50 % de un polinucleótido bicatenario hecho de hidrógeno de cadenas complementarias unido en dirección antiparalela por emparejamiento de bases Watson-Crick se disocia en cadenas sencillas bajo condiciones del experimento. T_m se puede predecir según una fórmula estándar, tal como:

$$T_m = 81,5 + 16,6 \log[X^+] + 0,41 (\%G/C) - 0,61 (\%F) - 600/L$$

donde [X⁺] es la concentración catiónica (normalmente ion de sodio, Na⁺) en mol/l (%G/C) es el número de restos G y C como porcentaje de restos totales en la doble cadena; (%F) es el porcentaje de formamida en solución (p/vol); y L es el número de nucleótidos en cada cadena de la doble cadena.

Un polinucleótido o polipéptido tiene un cierto porcentaje de “identidad de secuencia” a otro polinucleótido o polipéptido, significando que, cuando se alinean, ese porcentaje de bases o aminoácidos es el mismo cuando se comparan las dos secuencias. La similitud de secuencia se puede determinar en un número de diferentes maneras. Para determinar la identidad de secuencia, las secuencias se pueden alinear usando los métodos y programas informáticos, incluyendo BLAST, disponibles en internet en ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/. Otro algoritmo de alineamiento es FASTA, disponible en los paquetes del “Genetics Computing Group” (GCG), de Madison, Wisconsin, USA, una sucursal completamente admitida del “Oxford Molecular Group”, Inc. Otras técnicas para alineamiento están descritas en *Methods in Enzymology*, vol. 266: “Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis” (1996), ed. Doolittle, Academic Press, Inc., una división de Harcourt Brace & Co., San Diego, California, USA. Un interés particular son los programas de alineamiento que permiten huecos (*gaps*) en la secuencia. El Smith-Waterman es un tipo de algoritmo que permite huecos en alineamientos de secuencia. Véase *Meth. Mol. Biol.* 70:173-187 (1997). También, el programa GAP que usa el método de alineamiento de Needleman y Wunsch se puede utilizar para alinear secuencias. Véase *J. Mol. Biol.* 48:443-453 (1970).

De interés es el programa BestFit que usa el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (*Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981)) para determinar la identidad de secuencia. La penalización de la generación de hueco generalmente oscilará desde 1 a 5, normalmente 2 a 4 y en muchas realizaciones será 3. La penalización de extensión de hueco generalmente oscilará desde aproximadamente 0,01 a 0,20 y en muchos ejemplos será de 0,10. El programa tiene parámetros por defecto determinados por las secuencias introducidas a comparar. Preferentemente, la identidad de secuencia se determina usando los parámetros por defecto determinados por el programa. Este programa está disponible también en el paquete de Genetics Computing Group (GCG), de Madison, Wisconsin, USA.

Otro programa de interés es el algoritmo FastDB, FastDB está descrito en “Current Methods in Sequence Comparison and Analysis, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications”, pp. 127-149, 1988, Alan R. Liss, Inc. La identidad de porcentaje de secuencia se calcula por FastDB basándose en los siguientes parámetros:

Penalización de desapareamiento:	1,00;
Penalización de hueco:	1,00;
Penalización de tamaño de hueco:	0,33; y
Penalización de unión:	30,0.

Un “gen” se refiere a un polinucleótido que contiene al menos un marco de lectura abierto que es capaz de codificar una proteína particular después de ser sometido a transcripción y traducción.

Un “producto génico” es una molécula que resulta de la expresión de un gen particular. Los productos génicos incluyen, por ejemplo, un polipéptido, un aptámero, un ARN interferente, un ARNm y similares.

Un “ARN interferente corto” o “interferente pequeño” o ARNic es un ARN bicatenario de nucleótidos que se dirige a un gen de interés (un “gen diana”). Un “ARN bicatenario” se refiere a la estructura formada por el emparejamiento complementario entre dos regiones de una molécula de ARN. ARNic está “dirigido” a un gen en el que la secuencia de nucleótidos de la parte bicatenaria del ARNic es complementaria a una secuencia de nucleótidos del gen dirigido.

En algunas realizaciones, la longitud de la doble cadena de ARNic es menor de 30 nucleótidos. En algunas realizaciones, la doble cadena puede ser de 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11 o 10 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la longitud de la doble cadena es de 19 a 25 nucleótidos de longitud. La parte de ARN bicatenario del ARNic puede ser parte de una estructura horquilla. Además de la parte bicatenaria, la estructura horquilla puede contener una parte bucle colocada entre las dos secuencias que forman la doble cadena. El bucle puede variar en longitud. En algunas realizaciones el bucle es de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 13 nucleótidos de longitud. La estructura horquilla también puede contener partes salientes 3' o 5'. En algunas realizaciones, el saliente es un saliente 3' o 5' de 0, 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos de longitud.

Un “ARN de horquilla corta” o ARNhc, es una construcción de polinucleótido que se puede hacer para expresar un ARN interferente tal como ARNic.

“Recombinante”, cuando se aplica a un polinucleótido significa que el polinucleótido es el producto de diversas combinaciones de etapas de clonación, restricción o ligación, y otros procedimientos que dan como resultado una construcción que es distinta de un polinucleótido encontrado en la naturaleza. Un virus recombinante es una partícula viral que comprende un polinucleótido recombinante. Los términos incluyen respectivamente réplicas de la construcción de polinucleótido original y progenie de la construcción de virus original.

Un “elemento control” o “secuencia control” es una secuencia de nucleótidos implicada en una interacción de moléculas que contribuyen a la regulación funcional de un polinucleótido, incluyendo replicación, duplicación, transcripción, ajuste (*splicing*), traducción o degradación del polinucleótido. La regulación puede afectar a la frecuencia, velocidad o especificidad del proceso, y puede ser favorecedora o inhibidora en la naturaleza. Los elementos control conocidos en la técnica incluyen, por ejemplo, secuencias reguladoras transcripcionales tales como promotores o potenciadores. Un promotor es una región de ADN capaz bajo ciertas condiciones de unirse a ARN polimerasa e iniciar la transcripción de una región codificante normalmente localizada corriente abajo (en la dirección 3') desde el promotor.

“Operativamente ligado” o “operablemente ligado” se refiere a una yuxtaposición de elementos genéticos, en la que los elementos están en una relación que los permite funcionar de la manera esperada. Por ejemplo, un promotor está operativamente ligado a una región codificante si el promotor ayuda a iniciar la transcripción de la secuencia codificante. Puede haber restos intermedios entre el promotor y la región codificante siempre que se mantenga esta relación funcional.

Un “vector de expresión” es un vector que comprende una región que codifica un polipéptido de interés, y se usa para efectuar la expresión de la proteína en una célula diana prevista. Un vector de expresión también puede comprender elementos control operativamente ligados a la región codificante para facilitar la expresión de la proteína en la diana. La combinación de elementos control y un gen o genes a los cuales están operativamente ligados para la expresión a veces se refiere como un “casete de expresión”, un gran número de los cuales se conocen y están disponibles en la técnica o se pueden construir fácilmente a partir de los componentes que están disponibles en la técnica.

“Heterólogo” significa derivado de una entidad genotípicamente distinta del resto de la entidad con la cual se compara. Por ejemplo, un polinucleótido introducido por técnicas de ingeniería genética en un plásmido o vector derivado de una especie diferente es un polinucleótido heterólogo. Un promotor separado de su secuencia codificante nativa y operativamente ligado a una secuencia codificante con la cual no se encuentra ligado de manera natural es un promotor heterólogo. Por tanto, por ejemplo, un VAAr que incluye un ácido nucleico heterólogo codificante de un producto génico heterólogo es un VAAr que incluye un ácido nucleico no incluido normalmente en un VAA de origen natural, de tipo natural, y el producto génico heterólogo codificado es un producto génico no codificado normalmente por un VAA de tipo natural, de origen natural.

Los términos “alteración genética” y “modificación genética” (y variantes gramaticales de los mismos), se usan intercambiamente en el presente documento para referirse a un proceso en el que un elemento genético (por ejemplo, un polinucleótido) se introduce en una célula distinta por mitosis o meiosis. El elemento puede ser heterólogo a la célula, o puede ser una copia adicional o versión mejorada de un elemento ya presente en la célula. La alteración genética se puede efectuar, por ejemplo, sometiendo a transfección una célula con un plásmido recombinante u otro polinucleótido a través de cualquier proceso conocido en la técnica, tal como electroporación, precipitación de fosfato de calcio, o poniendo en contacto con un complejo de polinucleótido-liposoma. La alteración genética también se puede efectuar, por ejemplo, por transducción o infección con un virus de ADN o ARN o vector viral. Generalmente, el elemento genético se introduce en un cromosoma o minicromosoma en la célula; pero cualquier alteración que cambia el fenotipo y/o genotipo de la célula y su progenie está incluido en este término.

Se dice que una célula se altera, somete a transducción, modifica genéticamente o transforma con una secuencia

genética “de manera estable” si la secuencia puede realizar su función durante el cultivo prolongado de la célula *in vitro*. Generalmente, dicha célula está “hereditariamente” alterada (genéticamente modificada) en el sentido de que se introduce una alteración genética que es también heredable por la progenie de la célula alterada.

- 5 Los términos “polipéptido”, “péptido” y “proteína” se usan intercambiamente en el presente documento para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. Los términos también incluyen un polímero de aminoácidos que se ha modificado; por ejemplo, formación de enlace disulfuro, glicosilación, lipidación, fosforilación o conjugación con un componente de marcación. Los polipéptidos tales como polipéptidos antiangiogénicos, polipéptidos neuroprotectores y similares, cuando se tratan en el contexto de administración de un producto génico a un sujeto mamífero, y composiciones de los mismos, se refieren al respectivo polipéptido intacto, o cualquier fragmento o derivado genéticamente modificado del mismo, que conserva la función bioquímica deseada de la proteína intacta. Igualmente, las referencias a ácidos nucleicos codificantes de polipéptidos antiangiogénicos, ácidos nucleicos codificantes de polipéptidos neuroprotectores, y otros ácidos nucleicos para su uso en la administración de un producto génico a un sujeto mamífero (que pueden referir como “transgenes” a administrar a una célula receptora), incluyen polinucleótidos codificantes del polipéptido intacto o cualquier fragmento o derivado genéticamente modificado que procesa la función bioquímica deseada.

- 20 Un plásmido, ácido nucleico, vector, virus, virión, célula hospedadora u otra sustancia “aislada” se refiere a una preparación de sustancia desprovista de al menos alguno de los otros componentes que también pueden estar presentes donde la sustancia o una sustancia similar se da de manera natural o está inicialmente preparada de la misma. Por tanto, por ejemplo, una sustancia aislada se puede preparar usando una técnica de purificación para enriquecerla a partir de una mezcla fuente. El enriquecimiento se puede medir sobre una base absoluta, tal como peso por volumen de solución, o se puede medir en relación con una segunda sustancia potencialmente interferente presente en la mezcla fuente. Los enriquecimientos crecientes de las realizaciones de esta descripción son cada vez más aislados. Un plásmido, ácido nucleico, vector, virus, célula hospedadora u otra sustancia aislada está en algunas realizaciones purificadas, por ejemplo, desde aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 % puro, al menos aproximadamente 90 % puro, al menos 95 % puro, al menos 98 % puro, o al menos aproximadamente 99 % o más, puro.

- 30 Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratamiento”, “tratar” y similares, se refieren a obtener un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevenir completamente o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de una cura parcial o completa de una enfermedad y/o efecto adverso atribuible a la enfermedad. “Tratamiento”, como se usa en el presente documento, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, particularmente en un humano, e incluye: (a) prevenir la enfermedad de que se de en un sujeto el cual puede estar predispuesto a la enfermedad o en riesgo de adquirir la enfermedad, pero aún no se ha diagnosticado que la tiene; (b) inhibir la enfermedad, es decir, frenar su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, causar regresión de la enfermedad.

- 40 Los términos “individual”, “hospedadora”, “sujeto” y “paciente” se usan intercambiamente en el presente documento, y se refieren a un mamífero, incluyendo, pero no limitándose a, primates humanos y no humanos, incluido simios y humanos; animales mamíferos de deporte (por ejemplo, caballos), animales mamíferos de granja (por ejemplo, ovejas, cabras, etc.); mamíferos mascotas (perros, gatos, etc.); y roedores (por ejemplo, ratones, ratas, etc.).

- 45 Antes de que se describa más la presente invención, hay que entender que esta invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que tales, por supuesto, pueden variar. También hay que entender que la terminología usada en el presente documento es con el fin de describir solamente realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante, puesto que el alcance de la presente invención estará limitado solamente por las reivindicaciones adjuntas.

- 50 Cuando se proporciona un intervalo, se entiende que cada valor intermedio, al decimal de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor señalado o intermedio en ese intervalo señalado, está incluido dentro de la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos independientemente en los intervalos más pequeños, y también están incluidos dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo señalado. Cuando el intervalo señalado incluye uno o ambos de los límites, los intervalos que excluyen uno o ambos de aquellos límites incluidos también están incluidos en la invención.

- 60 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por los expertos en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque también se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o el ensayo de la presente invención, los métodos y materiales preferidos se describen más adelante. Todas las publicaciones mencionadas en el presente documento revelan y describen los métodos y/o materiales con respecto a las publicaciones en las que se citan.

- 65 Se debe indicar que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones anexas, las formas del

singular “un”, “una” y “el”, “la” incluyen referentes del plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a “un virión de VAA recombinante” incluye una pluralidad de tales viriones y la referencia a “la célula fotorreceptora” incluye referencia a una o más células fotorreceptoras y equivalentes de la misma conocidos por los expertos en la técnica, etc. Además, se indica que las reivindicaciones se pueden redactar para excluir cualquier elemento opcional. De por sí, esta declaración pretende servir como base antecedente para el uso de tal terminología exclusiva como “solo” “solamente” y similares en relación con la relación de los elementos de la reivindicación, o el uso de una limitación “negativa”.

Se aprecia que ciertas características de la invención, las cuales, para mayor claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también se pueden proporcionar en combinación en una realización única. A la inversa, diversas características de la invención, las cuales, para mayor brevedad, se describen en el contexto de una realización única, también se pueden proporcionar por separado en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones que conciernen a la invención son abarcadas específicamente por la presente invención y se describen en el presente documento justo como si cada una y todas las combinaciones estuvieran descritas individualmente y explícitamente. Además, todas las subcombinaciones de las diversas realizaciones y elementos de las mismas también están abarcados por la presente invención y están descritos en el presente documento justo como si cada una y todas tales subcombinaciones estuvieran individualmente y explícitamente descritas en el presente documento.

Las publicaciones tratadas en el presente documento se proporcionan solamente para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente aplicación. Nada en el presente documento es ser interpretado como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a preceder tal publicación debido a la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales que pueden necesitar ser confirmadas independientemente.

Descripción detallada

La presente descripción proporciona viriones de virus adenoasociados (VAA) con proteína de cápside alterada, donde los viriones de VAA presentan mayor infectividad de una célula retiniana, cuando se administran por inyección intravítrea, en comparación con VAA de tipo natural cuando se administra por inyección intravítrea. La presente descripción proporciona además métodos de administración de un producto génico a una célula retiniana en un individuo, y métodos de tratamiento de enfermedad ocular.

La célula retiniana puede ser un fotorreceptor (por ejemplo, bastones; conos), una célula ganglionar de la retina (CGR), una célula de Müller (una célula glial de Müller), una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal, o una célula de epitelio pigmentario de la retina (EPR).

POLIPÉPTIDOS DE PROTEÍNA DE LA CÁPSIDE DE VAA VARIANTE

La presente descripción proporciona una proteína de la cápside de VAA variante, donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en un sitio de inserción en el bucle GH o bucle IV de la proteína de la cápside, en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, y donde la proteína de la cápside variante, cuando está presente en un virión de VAA, confiere infectividad incrementada de una célula retiniana en comparación con la infectividad de la célula retiniana por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. En algunos casos, la célula retiniana es una célula fotorreceptora (por ejemplo, bastones; conos). En otros casos, la célula retiniana es una CGR. En otros casos, la célula retiniana es una célula de EPR. En otros casos, la célula retiniana es una célula de Müller. Otras células retinianas incluyen células amacrinas, células bipolares y células horizontales. En el presente documento, una “inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos” también se refiere como una “inserción peptídica” (por ejemplo, una inserción peptídica heteróloga). Una “correspondiente proteína de la cápside de VAA parental” se refiere a una proteína de la cápside de VAA del mismo serotipo de VAA, sin la inserción peptídica.

El sitio de inserción está en el bucle GH, o bucle IV, de la proteína de la cápside de VAA, por ejemplo, en una parte accesible por disolvente del bucle GH, o bucle IV, de la proteína de la cápside de VAA. Para el bucle GH/bucle IV de la cápside de VAA, véase, por ejemplo, Vliet y col. (2006) *Mol. Ther.* 14:809; Padron y col. (2005) *J. Virol.* 79:5.047; y Shen y col. (2007) *Mol. Ther.* 15:1.955. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar dentro de los aminoácidos 411 a 650 de una proteína de la cápside de VAA, como se representa en las Figuras 17A y 17B. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar dentro de los aminoácidos 570 a 611 de VAA2, dentro de los aminoácidos 571 a 612 de VAA1, dentro de los aminoácidos 560 a 601 de VAA5, dentro de los aminoácidos 571 a 612 de VAA6, dentro de los aminoácidos 572 a 613 de VAA7, dentro de los aminoácidos 573 a 614 de VAA8, dentro de los aminoácidos 571 a 612 de VAA9, o dentro de los aminoácidos 573 a 614 de VAA10, como se representa en la Figura 6.

En algunos casos, desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos están insertados en un sitio de inserción en el bucle GH o bucle IV de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 587 a

588 de VAA2, o las correspondientes posiciones de la subunidad de la cápside de otro serotipo de VAA. Se debería indicar que el sitio de inserción 587/588 se basa en una proteína de la cápside de VAA2. Desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos pueden estar insertados en un sitio correspondiente en un serotipo de VAA distinto de VAA2 (por ejemplo, VAA8, VAA9, etc.). Los expertos en la técnica sabrán, basándose en una comparación de las secuencias de aminoácidos de proteínas de la cápside de diversos serotipos de VAA, donde un sitio de inserción “correspondiente a los aminoácidos 587 a 588 de VAA2” sería una proteína de la cápside de cualquier serotipo de VAA dado. Las secuencias que corresponden a los aminoácidos 570 a 611 de la proteína de la cápside VP1 de VAA2 (véase Figura 5) en diversos serotipos de VAA se muestran en la Figura 6. Véase, por ejemplo, N° de Acceso de GenBank NP_049542 para VAA1; N° de Acceso de GenBank AAD13756 para VAA5; N° de Acceso de GenBank AAB95459 para VAA6; N° de Acceso de GenBank YP_077178 para VAA7; N° de Acceso de GenBank YP_077180 para VAA8; N° de Acceso de GenBank AAS99264 para VAA9 y N° de Acceso de GenBank AAT46337 para VAA10.

En algunas realizaciones, el sitio de inserción es un sitio de inserción único entre dos aminoácidos adyacentes localizados entre los aminoácidos 570 a 614 de VP1 de cualquier serotipo de VAA, por ejemplo, el sitio de inserción está entre dos aminoácidos adyacentes localizados en los aminoácidos 570 a 610, aminoácidos 580 a 600, aminoácidos 570 a 575, aminoácidos 575 a 580, aminoácidos 580 a 585, aminoácidos 585 a 590, aminoácidos 590 a 600, o aminoácidos 600 a 614, de VP1 de cualquier serotipo de VAA o variante. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 580 y 581, aminoácidos 581 y 582, aminoácidos 583 y 584, aminoácidos 584 y 585, aminoácidos 585 y 586, aminoácidos 586 y 587, aminoácidos 587 y 588, aminoácidos 588 y 589, o aminoácidos 589 y 590. El sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 575 y 576, aminoácidos 576 y 577, aminoácidos 577 y 578, aminoácidos 578 y 579, o aminoácidos 579 y 580. El sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 590 y 591, aminoácidos 591 y 592, aminoácidos 592 y 593, aminoácidos 593 y 594, aminoácidos 594 y 595, aminoácidos 595 y 596, aminoácidos 596 y 597, aminoácidos 597 y 598, aminoácidos 598 y 599, o aminoácidos 599 y 600.

Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 587 y 588 de VAA2, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA1, entre los aminoácidos 575 y 576 de VAA5, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA6, entre los aminoácidos 589 y 590 de VAA7, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA8, entre los aminoácidos 588 y 589 de VAA9, o entre los aminoácidos 588 y 589 de VAA10.

Como otro ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 450 y 460 de una proteína de la cápside de VAA, como se muestra en la Figura 17A. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar en (por ejemplo, inmediatamente N-terminal a) el aminoácido 453 de VAA 2, en el aminoácido 454 de VAA1, en el aminoácido 454 de VAA6, en el aminoácido 456 de VAA7, en el aminoácido 456 de VAA8, en el aminoácido 454 de VAA9, o en el aminoácido 456 de VAA10, como se muestra en la Figura 17A.

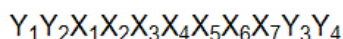
En algunas realizaciones, una proteína de la cápside objeto incluye un bucle GH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o 100%, de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de aminoácidos expuesta en la Figura 18A-C.

Péptidos de inserción

Como se indicó anteriormente, un péptido de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos de longitud está insertado en el bucle GH de una cápside de VAA. El péptido de inserción tiene una longitud de 5 aminoácidos, 6 aminoácidos, 7 aminoácidos, 8 aminoácidos, 9 aminoácidos, 10 aminoácidos o 11 aminoácidos.

El péptido de inserción puede comprender una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las fórmulas expuestas a continuación.

Por ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el sitio de inserción es de Fórmula I:

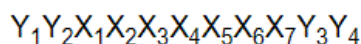


donde:

- cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser, y Thr;
- X_1 , si está presente, se selecciona de Leu, Asn, y Lys;
- X_2 se selecciona de Gly, Glu, Ala, y Asp;
- X_3 se selecciona de Glu, Thr, Gly, y Pro;
- X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gln, y Lys;
- X_5 se selecciona de Thr y Ala;

X₆ se selecciona de Arg, Asn, y Thr;
X₇, si está presente, se selecciona de Pro y Asn.

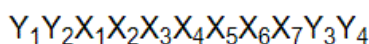
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIa:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
cada uno de X₁-X₄ es cualquier aminoácido;
X₅ es Thr;
X₆ es Arg; y
X₇ es Pro.

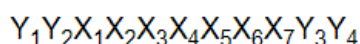
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIb:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
X₁, si está presente, se selecciona de Leu y Asn;
X₂, si está presente, se selecciona de Gly y Glu;
X₃ se selecciona de Glu y Thr;
X₄ se selecciona de Thr y Ile;
X₅ es Thr;
X₆ es Arg; y
X₇ es Pro.

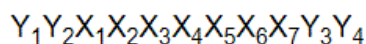
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula III:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
X₁, si está presente, es Lys;
X₂ se selecciona de Ala y Asp;
X₃ se selecciona de Gly y Pro;
X₄ se selecciona de Gln y Lys;
X₅ se selecciona de Thr y Ala;
X₆ se selecciona de Asn y Thr;
X₇, si está presente, es Asn.

Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IV:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
X₁, si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Leu, Asn, Arg, Ala, Ser y Lys;
X₂ es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Gly, Glu, Ala, Val, Thr y Asp;
X₃ es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Glu, Thr, Gly, Asp o Pro;

X₄ se selecciona de Thr, Ile, Gly, Lys, Asp y Gln;

X₅ es un aminoácido polar, un alcohol (un aminoácido que tiene un grupo hidroxilo libre), o un aminoácido hidrófobo; o se selecciona de Thr, Ser, Val y Ala;

X₆ es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Arg, Val, Lys, Pro, Thr y Asn; y

X₇, si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Pro, Gly, Phe, Asn y Arg.

Como ejemplos no limitantes, el péptido de inserción puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60).

En algunos casos, el péptido de inserción tiene desde 1 a 4 aminoácidos espaciadores (Y₁-Y₄) en el terminal amino y/o en el terminal carboxilo de una cualquiera de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60). Los aminoácidos espaciadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, leucina, alanina, glicina y serina.

Por ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), LAKDTDTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LVAADTTKFA (SEQ ID NO:63), y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64). Como otro ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: AALGETTRPA (SEQ ID NO:49); AANETITRPA (SEQ ID NO:50), AAKAGQANNA (SEQ ID NO:51), y AAKDPKTTNA (SEQ ID NO:52). Como otro ejemplo más, en algunos casos, el péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: GLGETTRPA (SEQ ID NO:53); GNETITRPA (SEQ ID NO:54), GKAGQANNA (SEQ ID NO:55), y GKDPKTTNA (SEQ ID NO:56). Como otro ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción comprende una de KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60), flanqueada en el terminal C por AA y en el terminal N por A; o comprende una de KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60) flanqueada en el terminal C por G y en el terminal N por A.

En algunas realizaciones, una cápside de VAA variante objeto no incluye ninguna otra sustitución, inserción o delección de aminoácido, aparte de una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. En otras realizaciones, una cápside de VAA variante objeto incluye inserciones, delecciones o sustituciones de desde 1 a aproximadamente 25 aminoácidos, en comparación con la proteína de la cápside de VAA parental, además de una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un cápside de VAA variante objeto incluye inserciones, delecciones o sustituciones de desde 1 a aproximadamente 5, desde aproximadamente 5 a aproximadamente 10, desde aproximadamente 10 a aproximadamente 15, desde aproximadamente 15 a aproximadamente 20, o desde aproximadamente 20 a aproximadamente 25 aminoácidos, en comparación con la proteína de la cápside de VAA parental, además de una inserción de desde 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

En algunas realizaciones, un polipéptido de la cápside variante objeto no incluye una, dos, tres o cuatro, de las siguientes sustituciones de aminoácidos: Y273F, Y444F, Y500F y Y730F.

En algunas realizaciones, un polipéptido de la cápside variante objeto comprende, además de un péptido de inserción anteriormente descrito, uno, dos, tres o cuatro de las siguientes sustituciones de aminoácidos: Y273F, Y444F, Y500F y Y730F.

En algunas realizaciones, un polipéptido de la cápside de VAA variante es una cápside quimérica, por ejemplo, la cápside comprende una parte de una cápside de VAA de un primer serotipo de VAA y una parte de una cápside de VAA de un segundo serotipo; y comprende una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

En algunas realizaciones, una proteína de cápside variante objeto comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 98%, o al menos aproximadamente 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos proporcionada en la Figura 5; y una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

En algunas realizaciones, se aísla una proteína de la cápside variante objeto, por ejemplo, se purifica. En algunos casos, una proteína de la cápside variante objeto está incluida en un vector de VAA, que también se proporciona. Tal como se describe a continuación en detalle, una proteína de la cápside variante objeto puede estar incluida en un virión de VAA recombinante.

5

VIRIÓN DE VAA RECOMBINANTE

La presente descripción proporciona un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr) que comprende: a) una proteína de la cápside de VAA variante, donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en un sitio de inserción en el bucle GH o bucle IV de la proteína de la cápside, en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, y donde la proteína de la cápside variante confiere infectividad incrementada de una célula retiniana en comparación con la infectividad de la célula retiniana por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental; y b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos codificante de un producto génico. En algunos casos, la célula retiniana es una célula fotorreceptora (por ejemplo, bastones y/o conos). En otros casos, la célula retiniana es una célula CGR. En otros casos, la célula retiniana es una célula de EPR. En otros casos, la célula retiniana es una célula de Müller. En otros casos, las células retinianas pueden incluir células amacrinas, células bipolares y células horizontales. Una “inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos” también se refiere en el presente documento a una “inserción peptídica” (por ejemplo, una inserción peptídica heteróloga). Una “correspondiente proteína de la cápside de VAA parental” se refiere a una proteína de la cápside de VAA del mismo serotipo de VAA, sin la inserción peptídica.

El sitio de inserción está en el bucle GH, o bucle IV, de la proteína de la cápside de VAA, por ejemplo, en una parte accesible por disolvente del bucle GH, o bucle IV, de la proteína de la cápside de VAA. Para el bucle GH, véase, por ejemplo, van Vliet y col. (2006) *Mol. Ther.* 14:809; Padron y col. (2005) *J. Virol.* 79:5.047; y Shen y col. (2007) *Mol. Ther.* 15:1.955. Por ejemplo, el sitio de inserción está dentro de los aminoácidos 570 a 611 de VAA2, dentro de los aminoácidos 571 a 612 de VAA1, dentro de los aminoácidos 560 a 601 de VAA5, dentro de los aminoácidos 571 a 612 de VAA6, dentro de los aminoácidos 572 a 613 de VAA7, dentro de los aminoácidos 573 a 614 de VAA8, dentro de los aminoácidos 571 a 612 de VAA9, o dentro de los aminoácidos 573 a 614 de VAA10

Desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos están insertados en un sitio de inserción en el bucle GH o bucle IV de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 587 y 588 de VAA2, o las correspondientes posiciones de la subunidad de la cápside de otro serotipo de VAA. Se debería indicar que el sitio de inserción 587/588 se basa en una proteína de la cápside de VAA2. Desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos pueden estar insertados en un sitio correspondiente en un serotipo de VAA distinto del VAA2 (por ejemplo, VAA8, VAA9, etc.). Los expertos en la técnica sabrán, basándose en una comparación de las secuencias de aminoácidos de proteínas de la cápside de diversos serotipos de VAA, dónde un sitio de inserción “correspondiente a los aminoácidos 587 a 588 de VAA2” estará en una proteína de la cápside de cualquier serotipo de VAA dado. Las secuencias correspondientes a los aminoácidos 570 a 611 de proteína de la cápside VP1 de VAA2 (véase la Figura 5) en diversos serotipos de VAA se muestran en la Figura 6.

En algunas realizaciones, el sitio de inserción está en un sitio de inserción único entre dos aminoácidos adyacentes localizados entre los aminoácidos 570 y 614 de VP1 de cualquier serotipo de VAA, por ejemplo, el sitio de inserción está entre dos aminoácidos adyacentes localizados en los aminoácidos 570 a 614, aminoácidos 580 a 600, aminoácidos 570 a 575, aminoácidos 575 a 580, aminoácidos 580 a 585, aminoácidos 585 a 590, aminoácidos 590 a 600, o aminoácidos 600 a 610, de VP1 de cualquier serotipo o variante de VAA. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 580 y 581; aminoácidos 581 y 582, aminoácidos 583 y 584, aminoácidos 584 y 585, aminoácidos 585 y 586, aminoácidos 586 y 587, aminoácidos 587 y 588, aminoácidos 588 y 589, o aminoácidos 589 y 590. El sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 575 y 576, aminoácidos 576 y 577, aminoácidos 577 y 578, aminoácidos 578 y 579, o aminoácidos 579 y 580. El sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 590 y 591, aminoácidos 591 y 592, aminoácidos 592 y 593, aminoácidos 593 y 594, aminoácidos 594 y 595, aminoácidos 595 y 596, aminoácidos 596 y 597, aminoácidos 597 y 598, aminoácidos 598 y 599, o aminoácidos 599 y 600.

Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 587 y 588 de VAA2, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA1 entre los aminoácidos 575 y 576 de VAA5, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA6, entre los aminoácidos 589 y 590 de VAA7, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA8, entre los aminoácidos 588 y 589 de VAA9, o entre los aminoácidos 589 y 590 de VAA10.

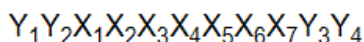
Péptidos de inserción

Como se indicó anteriormente, un virión de VAAr objeto comprende un péptido de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos de longitud insertado en el bucle GH de la cápside de VAA. El péptido de inserción tiene una longitud de 5 aminoácidos, 6 aminoácidos, 7 aminoácidos, 8 aminoácidos, 9

aminoácidos, 10 aminoácidos o 11 aminoácidos.

El péptido de inserción puede comprender una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las fórmulas expuestas a continuación.

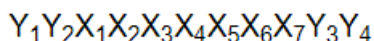
- 5 Por ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula I:



- 10 donde:

- 15 cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser, y Thr;
 X_1 , si está presente, se selecciona de Leu, Asn, y Lys;
 X_2 se selecciona de Gly, Glu, Ala, y Asp;
 X_3 se selecciona de Glu, Thr, Gly, y Pro;
 X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gln, y Lys;
 X_5 se selecciona de Thr y Ala;
 X_6 se selecciona de Arg, Asn, y Thr;
 X_7 , si está presente, se selecciona de Pro y Asn.

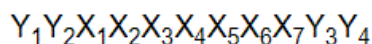
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIa:



- 25 donde:

- 30 cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 cada uno de X_1 - X_4 es cualquier aminoácido;
 X_5 es Thr;
 X_6 es Arg; y
 X_7 es Pro.

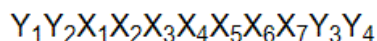
- 35 Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIb:



- 40 donde:

- 45 cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, se selecciona de Leu y Asn;
 X_2 , si está presente, se selecciona de Gly y Glu;
 X_3 se selecciona de Glu y Thr;
 X_4 se selecciona de Thr y Ile;
 X_5 es Thr;
 X_6 es Arg; y
 X_7 es Pro.

- 50 Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula III:

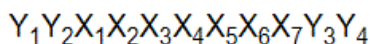


- 55 donde:

- 60 cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, es Lys;
 X_2 se selecciona de Ala y Asp;
 X_3 se selecciona de Gly y Pro;
 X_4 se selecciona de Gln y Lys;
 X_5 se selecciona de Thr y Ala;

X₆ se selecciona de Asn y Thr;
X₇, si está presente, es Asn.

Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IV:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
X₁, si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Leu, Asn, Arg, Ala, Ser y Lys;
X₂ es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Gly, Glu, Ala, Val, Thr y Asp;
X₃ es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Glu, Thr, Gly, Asp o Pro;
X₄ se selecciona de Thr, Ile, Gly, Lys, Asp y Gln;
X₅ es un aminoácido polar, un alcohol (un aminoácido que tiene un grupo hidroxilo libre), o un aminoácido hidrófobo; o se selecciona de Thr, Ser, Val y Ala;
X₆ es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Arg, Val, Lys, Pro, Thr y Asn; y
X₇, si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Pro, Gly, Phe, Asn y Arg.

Como ejemplos no limitantes, el péptido de inserción puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60).

En algunos casos, el péptido de inserción tiene desde 1 a 4 aminoácidos espaciadores (Y₁-Y₄) en el terminal amino y/o en el terminal carboxilo de una cualquiera de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60). Aminoácidos espaciadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, leucina, alanina, glicina y serina.

Por ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), LAKDTDTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LVAADTTKFA (SEQ ID NO:63), y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64). Como otro ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: AALGETTRPA (SEQ ID NO:49); AANETITRPA (SEQ ID NO:50), AAKAGQANNA (SEQ ID NO:51), y AAKDPKTTNA (SEQ ID NO:52). Como otro ejemplo más, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: GLGETTRPA (SEQ ID NO:53); GNETITRPA (SEQ ID NO:54), GKAGQANNA (SEQ ID NO:55), y GKDPKTTNA (SEQ ID NO:56). Como otro ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción comprende una de KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60), flanqueadas en el terminal C por AA y en el terminal N por A; o comprende una de KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60) flanqueada en el terminal C por G y en el terminal N por A.

En algunas realizaciones, una cápside de virión de VAAr objeto no incluye cualquier otra sustitución, inserción o delección de aminoácidos, aparte de una inserción de desde aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 10 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. En otras realizaciones, una cápside de virión de VAAr objeto incluye inserciones, delecciones o sustituciones de desde 1 a aproximadamente 25 aminoácidos, en comparación con la proteína de la cápside de VAA parental, además de una inserción de desde aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 10 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una cápside de virión de VAAr objeto incluye inserciones, delecciones o sustituciones de desde 1 a aproximadamente 5, desde aproximadamente 5 a aproximadamente 10, desde aproximadamente 10 a aproximadamente 15, desde aproximadamente 15 a aproximadamente 20, o desde aproximadamente 20 a aproximadamente 25 aminoácidos, en comparación con la proteína de la cápside de VAA parental, además de una inserción de desde aproximadamente 7 aminoácidos a aproximadamente 10 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

En algunas realizaciones, una cápside de virión de VAAr objeto no incluye una, dos, tres o cuatro, de las siguientes sustituciones de aminoácidos: Y273F, Y444F, Y500F y Y730F.

En algunas realizaciones, un polipéptido de cápside variante objeto comprende, además de un péptido de inserción como se describió anteriormente, una, dos, tres o cuatro, de las siguientes sustituciones de aminoácidos: Y273F, Y444F, Y500F y Y730F.

5 En algunas realizaciones, una cápside de virión de VAAr objeto es una cápside quimérica, por ejemplo, la cápside comprende una parte de una cápside de VAA de un primer serotipo de VAA y una parte de una cápside de VAA de un segundo serotipo; y comprende una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

10 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto comprende una proteína de la cápside que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 98%, o al menos aproximadamente 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos proporcionada en la Figura 5; y una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

15 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto comprende una proteína de la cápside que incluye un bucle GH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de aminoácidos expuesta en la Figura 18A-C.

20 Un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula retiniana, en comparación con la infectividad de la célula retiniana por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

30 En algunos casos, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula retiniana, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula retiniana por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.

35 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula fotorreceptora (bastón o cono), en comparación con la infectividad de la célula fotorreceptora por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

40 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula fotorreceptora (bastón o cono), cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula fotorreceptora por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.

45 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una CGR, en comparación con la infectividad de la CGR por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

50 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una CGR, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la CGR por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.

55 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula de EPR, en comparación con la infectividad de la célula de EPR por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

60 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula de EPR, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula de EPR por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.

65

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula de Müller, en comparación con la infectividad de la célula de Müller por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.

5 En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula de Müller, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula de Müller por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por
10 inyección intravítrea.

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula bipolar, en comparación con la infectividad de la célula bipolar por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.
15

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula bipolar, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula bipolar por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por
20 inyección intravítrea.

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula amacrina, en comparación con la infectividad de la célula amacrina por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.
25

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula amacrina, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula amacrina por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por
30 inyección intravítrea.

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula horizontal, en comparación con la infectividad de la célula horizontal por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.
35

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula horizontal, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula horizontal por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por
40 inyección intravítrea.

45 En algunos casos, un virión de VAAr objeto presenta capacidad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de atravesar la membrana limitante interna (MLI), en comparación con la capacidad de un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental de atravesar la MLI.

50 En algunos casos, un virión de VAAr objeto presenta capacidad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, cuando se administra por inyección intravítrea, de atravesar la membrana limitante interna (MLI), en comparación con la capacidad de un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental de atravesar la MLI cuando se administra por inyección intravítrea.
55

Un virión de VAAr objeto puede cruzar la MLI, y también puede atravesar capas celulares, incluyendo células de Müller, células amacrinas, etc., para alcanzar las células fotorreceptoras y/o células de EPR. Por ejemplo, un virión de VAAr objeto, cuando se administra por inyección intravítrea, puede atravesar la MLI, y también puede atravesar capas celulares, incluyendo las células de Müller, células amacrinas, etc., para alcanzar las células fotorreceptoras o
60 células de EPR.

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto infecta selectivamente una célula retiniana, por ejemplo, un virión de VAAr objeto infecta una célula retiniana con 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más de 50 veces más de especificidad que una célula no retiniana, por ejemplo, una célula fuera del ojo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto infecta selectivamente una célula retiniana, por ejemplo, un virión de VAAr infecta una célula fotorreceptora con 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más de 50 veces
65

más de especificidad que una célula no retiniana, por ejemplo, una célula fuera del ojo.

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto infecta selectivamente una célula fotorreceptora, por ejemplo, un virión de VAAr objeto infecta una célula fotorreceptora con 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más de 50 veces más de especificidad que una célula no fotorreceptora presente en el ojo, por ejemplo, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, etc.

En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más de 50 veces, de una célula fotorreceptora, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula fotorreceptora por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.

Productos génicos

Un virión de VAAr objeto comprende un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico. En algunas realizaciones, el producto génico es un ARN interferente. En algunas realizaciones, el producto génico es un aptámero. En algunas realizaciones, el producto génico es un polipéptido. En algunas realizaciones, el producto génico es una nucleasa específica a sitio que proporciona el silenciamiento (*knock-down*) específico a sitio de la función del gen.

ARN interferente

Cuando el producto génico es un ARN interferente (ARNi), el ARNi adecuado incluye ARNi que disminuye el nivel de un factor apoptótico o angiogénico en una célula. Por ejemplo, un ARNi puede ser un ARNh_c o ARNic que reduce el nivel de un producto génico que induce o fomenta la apoptosis en una célula. Los genes cuyos productos génicos inducen o fomentan la apoptosis se refieren, en el presente documento, como “genes pro-apoptóticos” y los productos de esos genes (ARNm; proteína) se refieren como “productos génicos pro-apoptóticos”. Los productos génicos pro-apoptóticos incluyen, por ejemplo, productos del gen *Bax*, *Bid*, *Bak*, y *Bad*. Véase, por ejemplo, el documento de patente americana N° 7.846.730.

Los ARN interferentes también podrían ser frente a un producto angiogénico, por ejemplo, VEGF (por ejemplo, Cand5; véase, por ejemplo, la publicación de Patente americana N° 2011/0143400; Publicación de Patente americana N°. 2008/0188437; y Reich y col. (2003) *Mol. Vis.* 9:210), VEGFR1 (por ejemplo, Sirna-027; véase, por ejemplo, Kaiser y col. (2010) *Am. J. Ophthalmol.* 150:33; y Shen y col. (2006) *Gene Ther.* 13:225), o VEGFR2 (Kou y col. (2005) *Biochem.* 44:15.064). Véase también, los documentos de Patente Americana N° 6.649.596, 6.399.586, 5.661.135, 5.639.872, y 5.639.736; y los documentos de Patente americana N° 7.947.659 y 7.919.473.

Aptámeros

Cuando el producto génico es un aptámero, aptámeros ilustrativos de interés incluyen un aptámero frente a factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Véase, por ejemplo, Ng y col. (2006) *Nat. Rev. Drug Discovery* 5:123; y Lee y col. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:18.902. Por ejemplo, un aptámero de VEGF puede comprender la secuencia de nucleótidos 5'-cgaaucagugaaucauacauccg-3' (SEQ ID NO:17). También adecuado para su uso es un aptámero específico a PDGF, por ejemplo, E10030; véase, por ejemplo, Ni y Hui (2009) *Ophthalmologica* 223:401; y Akiyama y col. (2006) *J. Cell Physiol.* 207:407).

Polipéptidos

Cuando el producto génico es un polipéptido, el polipéptido generalmente es un polipéptido que aumenta la función de una célula retiniana, por ejemplo, la función de una célula fotorreceptora bastón o cono, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal o una célula del epitelio pigmentario de la retina. Polipéptidos ilustrativos incluyen polipéptidos neuroprotectores (por ejemplo, GDNF, CNTF, NT4, NGF, y NTN); polipéptidos anti-angiogénicos (por ejemplo, un receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) soluble; un anticuerpo de unión a VEGF; un fragmento del anticuerpo de unión a VEGF (por ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF de cadena sencilla); endostatina, tumstatina, angiostatina; un polipéptido Flt soluble (Lai y col. (2005) *Mol. Ther.* 12:659); una proteína de fusión Fc que comprende un polipéptido Flt soluble (véase, por ejemplo, Pechan y col. (2009) *Gene Ther.* 16:10); factor derivado de epitelio pigmentario (PEDF); un receptor Tie-2 soluble; etc.); tejido inhibidor de metaloproteínasa-3 (TIMP-3); una opsina sensible a la luz, por ejemplo, una rodopsina; polipéptidos anti-apoptóticos (por ejemplo, Bcl-2, Bcl-X1); y similares. Polipéptidos adecuados incluyen, pero no se limitan a, factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF); factor 2 de crecimiento de fibroblastos; neurturina (NTN); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor de crecimiento de nervio (NGF); neurotrofina-4 (NT4); factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF; por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos a una tramo contiguo de desde aproximadamente 200 aminoácidos a 247 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 11 (SEQ ID NO:11)); factor de crecimiento epidérmico; rodopsina; inhibidor

de apoptosis ligado a X; y gen erizo Sonic.

Opsinas sensibles a la luz adecuadas incluyen, por ejemplo, una opsina sensible a la luz como se describe en la Publicación de Patente americana N° 2007/0261127 (por ejemplo, ChR2; Chop2); Publicación de Patente americana N° 2001/0086421; Publicación de Patente americana N° 2010/0015095; y Diester y col. (2011) *Nat. Neurosci.* 14:387.

Polipéptidos adecuados también incluyen retinosquisina (por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con un tramo contiguo de desde aproximadamente 200 aminoácidos a 224 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 10 (SEQ ID NO:10). Polipéptidos adecuados incluyen, por ejemplo, proteína 1 que interactúa con el regulador de GTPasa de retinitis pigmentosa (RGPR) (véase, por ejemplo, los N° de acceso de GenBank Q96KN7, Q9EPQ2, y Q9GLM3) (por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con un tramo contiguo de desde aproximadamente 1.150 aminoácidos a aproximadamente 1.200 aminoácidos, o desde aproximadamente 1.200 aminoácidos a 1.286 aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 16 (SEQ ID NO:21); periferina-2 (Prph2) (véase, por ejemplo, N° de acceso de GenBank NP_000313 (por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con un tramo contiguo de desde aproximadamente 300 aminoácidos a 346 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 14 (SEQ ID NO:19); y Travis y col. (1991) *Genomics* 10:733); periferina (por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos a un tramo contiguo de desde aproximadamente 400 aminoácidos a aproximadamente 470 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 15 (SEQ ID NO:20); una proteína específica a epitelio pigmentario de la retina (EPR65), (por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos a un tramo contiguo de desde aproximadamente 200 aminoácidos a 247 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 12 (SEQ ID NO:12)) (véase, por ejemplo, GenBank AAC39660; y Morimura y col. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3.088); y similares.

Polipéptidos adecuados también incluyen: CHM (coroideremia (proteína 1 acompañante Rab)), un polipéptido que, cuando es defectuoso o está perdido, causa coroideremia (véase, por ejemplo, Donnelly y col. (1994) *Hum. Mol. Genet.* 3:1.017; y van Bokhoven y col. (1994) *Hum. Mol. Genet.* 3:1.041); y homólogo de Crumbs 1 (CRB1), un polipéptido que, cuando es defectuoso o está perdido, causa amaurosis congénita de Leber y retinitis pigmentosa (véase, por ejemplo, den Hollander y col. (1999) *Nat. Genet.* 23:217; y N° de Acceso de GenBank CAM23328).

Polipéptidos adecuados también incluyen polipéptidos que, cuando son defectuosos o están perdidos, conducen a acromatopsia, donde tales polipéptidos incluyen, por ejemplo, subunidad alfa del canal regulado de GMPc del cono fotorreceptor (CNGA3) (véase, por ejemplo, N° de acceso de GenBank NP_001289; y Booi y col. (2011) *Ophthalmology* 118:160-167); subunidad beta del canal catiónico regulado de GMPc del cono fotorreceptor (CNGB3) (véase, por ejemplo, Kohl y col. (2005) *Eur. J. Hum. Genet.* 13(3):302); proteína de unión a nucleótido de guanina (G proteína), polipéptido 2 de actividad de transducción alfa (GNAT2) (ACHM4); y ACHM5; y polipéptidos que, cuando son defectuosos o deficientes, conducen a diversas formas de daltonismo (por ejemplo, L-opsina, M-opsina y S-opsina). Véase, Mancuso y col. (2009) *Nature* 461(7.265):784-787.

Endonucleasas específicas a sitio

En algunos casos, un producto génico de interés es una endonucleasa específica a sitio que proporciona silenciamiento específico a sitio de la función del gen, por ejemplo, cuando la endonucleasa desactiva un alelo asociado con una enfermedad de la retina. Por ejemplo, cuando un alelo dominante codifica una copia defectuosa de un gen que, cuando es de tipo natural, es una proteína estructural de la retina y/o proporciona función de la retina normal, una endonucleasa específica a sitio se puede dirigir al alelo defectuoso y e desactivar el alelo defectuoso.

Además de la desactivación de un alelo defectuoso, también se puede usar una endonucleasa específica a sitio para estimular la recombinación homóloga con un ADN donante que codifica una copia funcional de la proteína codificada por el alelo defectuoso. Por tanto, por ejemplo, un virión de VAAr objeto tanto se puede usar para administrar una endonucleasa específica a sitio que desactiva un alelo defectuoso, como se puede usar para administrar una copia funcional del alelo defectuoso, dando como resultado la reparación del alelo defectuoso, proporcionando de ese modo la producción de una proteína retiniana funcional (por ejemplo, retinosquisina funcional, EPR65 funcional, periferina funcional, etc.). Véase, por ejemplo, Li y col. (2011) *Nature* 475:217. En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una endonucleasa específica a sitio; y una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una copia funcional de un alelo defectuoso, donde la copia

funcional codifica una proteína retiniana funcional. Las proteínas retinianas funcionales incluyen, por ejemplo, retinosquisina, EPR65, proteína 1 que interactúa con el regulador de GTPasa de retinitis pigmentosa (RGPR), periferina, periferina-2 y similares.

- 5 Endonucleasas específicas a sitios que son adecuadas para su uso incluyen, por ejemplo, nucleasas de dedo de zinc (ZFN); y nucleasas efectoras similares a activador de transcripción (TALEN), donde tales endonucleasas específicas a sitio no son de origen natural y están modificadas para dirigir un gen específico. Tales nucleasas específicas a sitios se pueden modificar por ingeniería para cortar localizaciones específicas dentro de un genoma, y, a continuación, uniéndose a extremo no homólogo puede reparar la rotura mientras inserta o deleta diversos nucleótidos. Tales endonucleasas específicas a sitio (también referidas como "INDEL") a continuación echan la proteína fuera del marco e desactivan eficazmente el gen. Véase, por ejemplo, la Publicación de Patente americana N° 2011/0301073.

Secuencias reguladoras

- 15 En algunas realizaciones, una secuencia de nucleótidos codificante de un producto genético de interés está operativamente ligada a un promotor constitutivo. En otras realizaciones, una secuencia de nucleótidos codificante de un producto genético de interés está operativamente ligada a un promotor inducible. En algunos ejemplos, una secuencia de nucleótidos codificante de un producto genético de interés está operativamente ligada a un elemento regulador específico a tejido o específico a tipo celular. Por ejemplo, en algunos ejemplos, una secuencia de nucleótidos codificante de un producto genético de interés está operativamente ligada a un elemento regulador específico a fotorreceptor (por ejemplo, un promotor específico a fotorreceptor), por ejemplo, un elemento regulador que confiere expresión selectiva del gen operativamente ligado en una célula fotorreceptora. Los elementos reguladores específicos a fotorreceptor adecuados incluyen, por ejemplo, un promotor de rodopsina, un promotor de rodopsina quinasa (Young y col. (2003) *Ophthalmol. Vis. Sci.* 44:4.076); un promotor del gen de beta fosfodiesterasa (Nicoud y col. (2007) *J. Gene Med.* 9:1.015); un promotor del gen de retinitis pigmentosa (Nicoud y col. (2007) *supra*); un potenciador del gen de la proteína interfotorreceptora de unión a retinoide (IRBP) (Nicoud y col. (2007) *supra*); un promotor del gen de IRBP (Yokoyama y col. (1992) *Exp. Eye Res.* 55:225).

30 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

- La presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende: a) un virión de VAAr objeto, como se describió anteriormente; y b) un vehículo, diluyente, excipiente o tampón farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el vehículo, diluyente, excipiente o tampón farmacéuticamente aceptable es adecuado para su uso en un ser humano.

- Tales excipientes, vehículos, diluyentes y tampones incluyen cualquier agente farmacéutico que se pueda administrar sin toxicidad indebida. Excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir en las mismas, por ejemplo, sales de ácido mineral tales como clorhidratos, bromohidratos, fosfatos, sulfatos y similares; y las sales de los ácidos orgánicos tales como acetatos, propionatos, malonatos, benzoatos y similares. Además, sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes y emulsionantes, sustancias de tamponamiento de pH y similares pueden estar presentes en tales vehículos. En la técnica se conocen una amplia diversidad de excipientes farmacéuticamente aceptables y no necesitan ser tratados en detalle en el presente documento. Excipientes farmacéuticamente aceptables han sido ampliamente descritos en diversas publicaciones, incluyendo, por ejemplo, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," 20ª edición, Lippincott, Williams, & Wilkins; "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems" (1999) H.C. Ansel y col., eds., 7ª ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; y "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (2000) A.H. Kibbe y col., eds., 3ª ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

50 MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN DE UN PRODUCTO GÉNICO A UNA CÉLULA RETINIANA Y TRATAMIENTO

MÉTODOS

- 55 La presente descripción proporciona un método de administración de un producto genético a una célula retiniana en un individuo, comprendiendo el método la administración al individuo de un virión de VAAr objeto como se describió anteriormente. El producto genético puede ser un polipéptido o un ARN interferente (por ejemplo, un ARNhc, un ARNic y similares), un aptámero, o una endonucleasa específica a sitio como se describió anteriormente. La administración de un producto genético a una célula retiniana puede proporcionar tratamiento de una enfermedad de la retina. La célula retiniana puede ser un fotorreceptor, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal o una célula de epitelio pigmentario de la retina. En algunos casos, la célula retiniana es una célula fotorreceptora, por ejemplo, una célula bastón o cono.

- La presente descripción proporciona un método de tratamiento de una enfermedad de la retina, comprendiendo el método la administración a un individuo que lo necesite de una cantidad eficaz de un virión de VAAr objeto como se describió anteriormente. Un virión de VAAr objeto se puede administrar por inyección intraocular, por inyección

intravítrea, o por cualquier otro modo conveniente o vía de administración. Otros modos convenientes o vías de administración incluyen, por ejemplo, intravenoso, intranasal, etc.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" caerá en un intervalo relativamente amplio que se puede determinar a través de la experimentación y/o los ensayos clínicos. Por ejemplo, por inyección *in vivo*, es decir, inyección directamente en el ojo, una dosis terapéuticamente eficaz estará en el orden de desde aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{15} de los viriones de VAAr, por ejemplo, desde aproximadamente 10^8 a 10^{12} viriones de VAAr. Para la transducción *in vitro*, una cantidad eficaz de viriones de VAAr a administrar a células estará en el orden de desde aproximadamente 10^8 a aproximadamente 10^{13} de los viriones de VAAr. Otras dosis eficaces fácilmente pueden ser establecidas por un experto en la técnica a través de pruebas rutinarias que establecen curvas de respuesta de dosis.

En algunas realizaciones, más de una administración (por ejemplo, dos, tres, cuatro o más administraciones) se pueden emplear para alcanzar el nivel deseado de la expresión génica durante un periodo de diversos intervalos, por ejemplo, diario, semanal, mensual, anual, etc.

Enfermedades oculares que se pueden tratar usando un método objeto incluyen, pero no se limitan a, neuroretinopatía macular aguda; enfermedad de Behcet; neovascularización coroidea, uveitis diabética; histoplasmosis; degeneración macular, tal como degeneración macular aguda, degeneración macular relacionada con la edad no exudativa y degeneración macular relacionada con la edad exudativa; edema, tal como edema macular, edema macular cistoide y edema macular diabético; coroiditis multifocal; trauma ocular que afecta a un sitio o localización ocular posterior; tumores oculares; trastornos de la retina, tales como oclusión de la vena central de la retina, retinopatía diabética (incluyendo retinopatía diabética proliferativa), vitreorretinopatía proliferativa (VRP), enfermedad oclusiva de la arteria de la retina, desprendimiento de retina, enfermedad de retina uveítica; oftalmia simpática; síndrome de Vogt Koyanagi-Harada (VKH); difusión de la úvea; una afección ocular posterior causada por o influida por un tratamiento con láser ocular; afecciones oculares posteriores causadas por o influidas por una terapia fotodinámica; fotocoagulación, retinopatía por radiación; trastornos de la membrana epirretiniana; oclusión de la vena ramificada de la retina; neuropatía óptica isquémica anterior; disfunción diabética de la retina no retinopatía; retinosquiasis; retinitis pigmentosa; glaucoma; síndrome de Usher; distrofia cono-bastón; enfermedad de Stargardt (fundus flavimaculatus); degeneración macular hereditaria; degeneración coriorretiniana; amaurosis congénita de Leber; ceguera nocturna estacionaria congénita; coroideremia; síndrome de Bardet-Biedl; telangiectasia macular; neuropatía óptica hereditaria de Leber; retinopatía de prematuridad; y trastornos de visión de color; incluyendo acromatopsia, protanopia, deuteranopia y tritanopia.

ÁCIDOS NUCLEICOS Y CÉLULAS HOSPEDADORAS

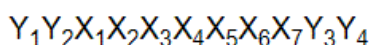
La presente descripción proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside de virus adenoasociado (VAA) variante objeto como se describió anteriormente, donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos en el bucle GH o bucle IV en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, y donde la proteína de la cápside variante, cuando está presente en un virión de VAA, proporciona infectividad incrementada de una célula retiniana en comparación con la infectividad de la célula retiniana por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. Un ácido nucleico aislado objeto puede ser un vector de VAA, por ejemplo, un vector de VAA recombinante.

Péptidos de inserción

Una proteína de la cápside de VAA variante codificada por un ácido nucleico objeto tiene un péptido de inserción de desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos de longitud insertado en el bucle GH de una cápside de VAA. El péptido de inserción tiene una longitud de 5 aminoácidos, 6 aminoácidos, 7 aminoácidos, 8 aminoácidos, 9 aminoácidos, 10 aminoácidos o 11 aminoácidos.

El péptido de inserción puede comprender una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las fórmulas expuestas a continuación.

Por ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula I:

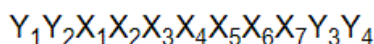


donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser, y Thr;
 X_1 , si está presente, se selecciona de Leu, Asn, y Lys;
 X_2 se selecciona de Gly, Glu, Ala, y Asp;

X₃ se selecciona de Glu, Thr, Gly, y Pro;
 X₄ se selecciona de Thr, Ile, Gln, y Lys;
 X₅ se selecciona de Thr y Ala;
 X₆ se selecciona de Arg, Asn, y Thr;
 X₇, si está presente, se selecciona de Pro y Asn.

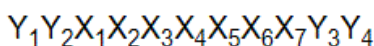
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIa:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 cada uno de X₁-X₄ es cualquier aminoácido;
 X₅ es Thr;
 X₆ es Arg; y
 X₇ es Pro.

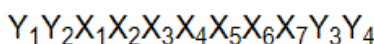
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIb:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X₁, si está presente, se selecciona de Leu y Asn;
 X₂, si está presente, se selecciona de Gly y Glu;
 X₃ se selecciona de Glu y Thr;
 X₄ se selecciona de Thr y Ile;
 X₅ es Thr;
 X₆ es Arg; y
 X₇ es Pro.

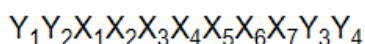
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula III:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X₁, si está presente, es Lys;
 X₂ se selecciona de Ala y Asp;
 X₃ se selecciona de Gly y Pro;
 X₄ se selecciona de Gln y Lys;
 X₅ se selecciona de Thr y Ala;
 X₆ se selecciona de Asn y Thr;
 X₇, si está presente, es Asn.

Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IV:



donde:

cada uno de Y₁-Y₄, si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X₁, si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Leu, Asn, Arg, Ala, Ser y Lys;
 X₂ es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Gly, Glu, Ala, Val, Thr y Asp;

X₃ es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Glu, Thr, Gly, Asp o Pro;

X₄ se selecciona de Thr, Ile, Gly, Lys, Asp y Gln;

5 X₅ es un aminoácido polar, un alcohol (un aminoácido que tiene un grupo hidroxilo libre), o un aminoácido hidrófobo; o se selecciona de Thr, Ser, Val y Ala;

X₆ es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Arg, Val, Lys, Pro, Thr y Asn; y

X₇, si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Pro, Gly, Phe, Asn y Arg.

10 Como ejemplos no limitantes, el péptido de inserción puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60).

15 En algunos casos, el péptido de inserción tiene desde 1 a 4 aminoácidos espaciadores (Y₁-Y₄) en el terminal amino y/o en el terminal carboxilo de una cualquiera de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60). Aminoácidos espaciadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, leucina, alanina, glicina y serina.

20 Por ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), LAKDTDTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LVAADTTKFA (SEQ ID NO:63), y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64). Como otro ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: AALGETTRPA (SEQ ID NO:49); AANETITRPA (SEQ ID NO:50), AAKAGQANNA (SEQ ID NO:51), y AAKDPKTTNA (SEQ ID NO:52). Como otro ejemplo más, en algunos casos, un péptido de inserción tiene una de las siguientes secuencias de aminoácidos: GLGETTRPA (SEQ ID NO:53); GNETITRPA (SEQ ID NO:54), GKAGQANNA (SEQ ID NO:55), y GKDPKTTNA (SEQ ID NO:56). Como otro ejemplo, en algunos casos, un péptido de inserción comprende una de KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60), flanqueada en el terminal C por AA y en el terminal N por A; o comprende una de KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60) flanqueada en el terminal C por G y en el terminal N por A.

35 Un vector de VAA recombinante objeto se puede usar para generar un virión de VAA recombinante objeto, como se describió anteriormente. Por tanto, la presente descripción proporciona un vector de VAA recombinante que, cuando se introduce en una célula adecuada, puede proporcionar la producción de un virión de VAA recombinante objeto.

40 La presente invención proporciona además células hospedadoras, por ejemplo, células hospedadoras aisladas (genéticamente modificadas), que comprenden un ácido nucleico objeto. Una célula hospedadora objeto puede ser una célula aislada, por ejemplo, una célula en cultivo *in vitro*. Una célula hospedadora objeto es útil para producir un virión de VAAr objeto, como se describe más adelante. Cuando una célula hospedadora objeto se usa para producir un virión de VAAr objeto, se refiere como "célula empaquetadora". En algunas realizaciones, una célula hospedadora objeto está genéticamente modificada de manera estable con un ácido nucleico objeto. En otras realizaciones, una célula hospedadora objeto están genéticamente modificada de manera transitoria con un ácido nucleico objeto.

50 Un ácido nucleico objeto se introduce de manera estable o transitoria en una célula hospedadora, usando técnicas establecidas, que incluyen, pero no se limitan a, electroporación, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada por liposoma y similares. Para transformación estable, un ácido nucleico objeto generalmente incluirá además un marcador seleccionable, por ejemplo, cualquiera de los diversos marcadores seleccionables bien conocidos tales como resistencia a neomicina, y similares.

55 Una célula hospedadora se genera introduciendo un ácido nucleico objeto dentro de alguna de diversas células, por ejemplo, células mamíferas, incluyendo, por ejemplo, células murinas y células primates (por ejemplo, células humanas). Células mamíferas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células primarias y líneas celulares, donde las líneas celulares adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células 293, células COS, células HeLa, células Vero, fibroblastos de ratón 3T3, fibroblastos C3H10T1/2, células CHO y similares. Ejemplos no limitantes de células hospedadoras adecuadas incluyen, por ejemplo, células HeLa (por ejemplo, "American Type Culture Collection" (ATCC) N° CCL-2), células CHO (por ejemplo, ATCC N° CRL9618, CCL61, CRL9096), células 293 (por ejemplo, ATCC N° CRL-1573), células Vero, células NIH 3T3 (por ejemplo, ATCC N° CRL-1658), células Huh-7, células BHK (por ejemplo, ATCC N° CCL10), células PC12 (ATCC No. CRL1721), células COS, células COS-7 (ATCC N° CRL1651), células RAT1, células L de ratón (ATCC N° CCL1.3), células de riñón embrionario humano (HEK) (ATCC N° CRL1573), células HLHepG2, y similares. Una célula hospedadora objeto también se puede producir usando un baculovirus para infectar células de insecto tales como células Sf9, que producen VAA (véase, por ejemplo, el documento de Patente N° 7.271.002; Publicación de Patente americana 12/297.958).

En algunas realizaciones, una célula hospedadora genéticamente modificada objeto incluye, además de un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos codificante de una proteína de la cápside de VAA variante, como se describió anteriormente, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos codificante de una o más proteínas rep de VAA. En otras realizaciones, una célula hospedadora objeto comprende además un vector de VAAr. Un virión de VAAr se puede generar usando una célula hospedadora objeto. Métodos de generación de un virión de VAAr están descritos en, por ejemplo, la Publicación de Patente americana N° 2005/0053922 y Publicación de Patente americana 2009/0202490.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proponen para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción completa y una descripción de cómo producir y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni pretenden representar que los experimentos de más adelante son todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.) pero algunos errores experimentales y desviaciones se deberían tener en cuenta. A menos que se indique lo contrario, partes son partes en peso, peso molecular es el peso molecular promedio, temperatura es en grados Celsius, y la presión está en o cerca de la atmosférica. Se pueden usar abreviaciones estándar, por ejemplo, pb, par(es) de bases; kb, kilobase(s), pl, picolitro(s); s o seg, segundo(s), min, minuto(s); h o hr, hora(s); aa, aminoácido(s); kb, kilobase(s); pb, par(es) de bases; nt, nucleótido(s); i.m., intramuscular(mente); i.p., intraperitoneal(mente); s.c., subcutánea(mente); y similares.

Ejemplo 1: variante de VAA con transducción aumentada de células retinianas

El planteamiento usado era crear una genoteca de demostración de péptido introduciendo un sitio *AvrII* único en el genoma de VAA2 de tipo natural entre los aminoácidos 587 y 588 por mutagénesis por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Un inserto de 21 nucleótido aleatorio, 7mer For, se usó para sintetizar los insertos de ADNdc, junto con el cebador antisentido 7mer Rev. Los insertos resultantes de ADNdc se clonaron en el sitio *AvrII* del genoma después de la digestión con *NheI*, produciendo una genoteca de demostración de 7mer diversa que, a continuación, se empaquetó (Perabo y col., 2003; Müller y col., 2003). El virus se generó de modo que cada genoma viral se empaquetó o se sometió a encapsidación dentro de la proteína de la cápside variante que ese genoma codificaba. A este respecto, las mejoras funcionales identificadas a través de la selección pueden estar ligadas a la secuencia de genoma codificante de esta función mejorada contenida dentro de la cápside del virus.

Esta genoteca se sometió a selección positiva dentro de ratones rho-GFP (Wensel y col. (2005) *Vision Res.* 45:3.445). Brevemente, en una ronda de selección, se inyectaron iravítreamente ratones rho-GFP adultos con 2 µl de genoteca purificada por iodixanol, dializada con solución salina tamponada con fosfato (PBS) con una titulación genómica de aproximadamente 1×10^{12} genomas virales (gv)/ml. Se pasó una aguja desechable 30 1/2 gauge ultrafina a través de la esclerótica del ojo del animal, en el ecuador y próximo a los limbos, dentro de la cavidad vítrea. La inyección de 2 µl de virus se realizó con observación directa de la aguja en el centro de la cavidad vítrea. Una semana después de la inyección, los ojos se sometieron a enucleación y las retinas se disociaron usando un tratamiento con luz, papaína proteasa, seguido por aislamiento por clasificador de célula activada por fluorescencia (FACS) de poblaciones fotorreceptoras. A continuación, los viriones favorables se amplificaron por PCR a partir de extracciones genómicas posteriores y se clonaron más y se reempaquetaron para inyección.

Iteraciones adicionales de esta selección se realizaron, reduciendo el conjunto de variantes a un subconjunto con las mutaciones más permisivas. Después de tres iteraciones, se realizó una ronda de PCR propensa a error para crear una generación adicional de variantes para la selección. En total, este proceso se repitió para dos generaciones. A este respecto, este proceso de evolución dirigida creó variantes de VAA permisivas a fotorreceptor por la aplicación de selección positiva y mutagénesis inducida, similar al proceso de la evolución natural.

Posteriormente, los genes *cap* de cincuenta variantes se secuenciaron para determinar las variantes más prominentes y eficaces para tener mutaciones permisivas para la transducción intravítrea de fotorreceptor. De los 50 clones, 46 dieron secuencias legibles de un inserto 7mer. Notablemente, casi dos tercios de los clones contenían el mismo motivo de 7mer distinto (~⁵⁸⁸LGETTRP~; SEQ ID NO:13). Interesantemente, la próxima variante más prominente (~⁵⁸⁸NETITRP~; SEQ ID NO:14) también contenía un motivo flanqueador similar que consistía en un resto de arginina positivamente cargado en entre una treonina polar y un resto de prolina no polar (TRP).

Tabla 1

Clon	Frecuencia aproximada (%)	Frecuencia
~ ⁵⁸⁸ LGETTRP~ (SEQ ID NO:13)	64	31
~ ⁵⁸⁸ NETITRP~ (SEQ ID NO:14)	12	5
~ ⁵⁸⁸ KAGQANN~ (SEQ ID NO:15)	6	3
~ ⁵⁸⁸ KDPKTTN~ (SEQ ID NO:16)	4	2
~ ⁵⁸⁸ KDTDTR~ (SEQ ID NO:57)		2

~ ⁵⁸⁸ RAGGSVG (SEQ ID NO:58)		1
~ ⁵⁸⁸ AVDTTKF (SEQ ID NO:59)		1
~ ⁵⁸⁸ STGKVPN (SEQ ID NO:60)		1

Tabla 1. La secuenciación de variantes aisladas a partir de evolución dirigida revela un alto grado de convergencia en las genotecas virales. Todas las variantes derivadas de la genoteca 7mer de VAA2, con aproximadamente 64 % de variantes que contienen el mismo motivo 7mer (~588LGETTRP~ (SEQ ID NO:13).

Entre las secuencias del inserto 7mer, había preferencias moderadas en posiciones particulares, por ejemplo, un aminoácido positivamente cargado en la posición 1; un aminoácido negativamente cargado en la posición 2; un alcohol (por ejemplo, un aminoácido que tiene un grupo alcohol (un grupo hidroxilo libre), tal como Thr o Ser) en la posición 5.

Los insertos 7mer estaban flanqueados por espaciadores, como se muestran en la Tabla 2:

Clon	Frecuencia
~ ⁵⁸⁸ LALGETTRPA~ (SEQ ID NO:45)	31
~ ⁵⁸⁸ LANETITRPA~ (SEQ ID NO:46)	5
~ ⁵⁸⁸ LAKAGQANNA~ (SEQ ID NO:47)	3
~ ⁵⁸⁸ LAKDPKTTNA~ (SEQ ID NO:48)	2
~ ⁵⁸⁸ LAKDTDTTTRA~ (SEQ ID NO:61)	2
~ ⁵⁸⁸ LARAGGSVGA~ (SEQ ID NO:62)	1
~ ⁵⁸⁸ LVAADTTKFA~ (SEQ ID NO:63)	1
~ ⁵⁸⁸ LASTGKVPNA~ (SEQ ID NO:64)	1

Figura 1. Modelo proteína de la cápside tridimensional representativo de VAA2 que contiene un heptámero aleatorio (mostrado en naranja) después del aminoácido 587. Esta área de la cápside de VAA2 probablemente participa en la unión a receptor de superficie celular.

Teniendo en cuenta el alto grado de convergencia de genoteca a partir de la selección anteriormente descrita, una forma recombinante de ~⁵⁸⁸LGETTRP~ de VAA2 (SEQ ID NO:13; nombrada 7M8) se clonó y empaquetó el vector con un transgen scCAG-GFP para visualizar su perfil de transducción. Tres semanas después de la inyección intravítrea en ratones adultos, se observó expresión fuerte en numerosos tipos celulares, incluyendo células ganglionares de la retina (CGR) y células de Müller. Importantly, se observó transducción de fotorreceptores en retinas inyectadas con 7M8, visto por la expresión de GFP en núcleos de la capa nuclear externa (CNE) (flechas rojas) y en segmentos externos (Figura 2, flecha azul), mientras que VAA2 no mostró expresión discernible de fotorreceptor.

Figura 2. La variante 7M8 de VAA2 (derecha) demuestra mayores niveles de transducción de fotorreceptor intravítrea en relación con VAA2 (izquierda). El microscopio confocal de secciones de retina transversales tres semanas después de la inyección intravítrea de 2 µl de 1×10^{12} gv/ml de 7M8 de VAA2 y scCAG GFP de VAA2 en ratones adultos. Las flechas rojas (arriba) indican el núcleo fotorreceptor y la flecha azul (arriba) indica segmentos exteriores de fotorreceptor.

Teniendo en cuenta estas ganancias en la transducción de la célula de la retina, se hizo un intento de incrementar la especificidad en la expresión a través del uso de un transgen ssRho-eGFP que contenía un promotor de rodopsina específico a fotorreceptor para resolver mejor las eficacias de transducción específicamente en fotorreceptores (Figura 3). De hecho, el uso de un promotor Rho específico a fotorreceptor limitó la expresión de GFP a los fotorreceptores. Se hizo un intento de mejorar la eficacia de transducción de 7M8 combinando un planteamiento de diseño racional con el planteamiento anterior de evolución dirigida. Por lo tanto, cuatro restos de tirosina expuestos de superficie se mutaron a fenilalaninas en la cápside de 7M8 (Y273F, Y444F, Y500F y Y730F) que previamente se ha mostrado que incrementan la infectividad del fotorreceptor (Petr-Silva y col., 2009). Interesantemente, la adición de mutaciones disminuyó el número de fotorreceptores sometidos a transducción en comparación con el virus original mostrado por clasificación FAC de los fotorreceptores GFP(+) de retinas infectadas con 7m8 o 7m8-4YF (Figura 4).

Figura 3. Imágenes de fluorescencia representativas de criocortes de retina que muestran expresión de GFP resultante de 7m8 que lleva el gen de GFP bajo el control del promotor CAG ubicuo (izquierda) o un promotor de Rho específico a fotorreceptor (derecha).

Figura 4. Las células fotorreceptoras GFP(+) por millón de células de retina contadas por citometría de flujo. 7m8 transduce más de dos veces la cantidad de fotorreceptores en comparación con 7m8 que lleva 4 mutaciones de tirosina (arriba).

Ejemplo 2: Tratamiento de retinosquiasis

Usando la construcción de expresión 7m8-rho-RS1, se administró una proteína retinosquiasis funcional (RS1) a ratones deficientes en retinosquiasis (ratones deficientes en Rslh; Rslh es el homólogo de ratón de la RS1 humana).

5 El vector comprende una secuencia de nucleótidos codificante de una proteína retinosquiasis funcional bajo control transcripcional de un promotor de rodopsina. Véase las Figuras 13A-C, donde la secuencia de nucleótidos en negrita y subrayada (nucleótidos 4.013-4.851) son el promotor de rodopsina; y los nucleótidos 4.866-5.540 (con las secuencias de inicio atg y de parada tga mostradas en negrita) codifican una proteína RS1 humana.

10 La construcción 7m8-rho-RS1 se administró de manera intravítrea a ratones Rslh^{-/-} en P15. Los ratones Rslh^{-/-} se generaron a través de alteración dirigida de exón 3 del gen Rslh, como se describe (Weber y col. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:6222). Los ratones Rslh^{-/-} son deficientes en el producto proteico Rslh, tienen un ERG electronegativo (por ejemplo, una onda b reducida con conservación relativa de la onda a) y división de las capas de la retina, similar a lo visto en pacientes de retinosquiasis humana. La inyección del vector 7m8-rho-RS1 en los Rslh^{-/-} conduce a altos niveles de expresión de RS1 panretiniana de fotorreceptores en la retina. La expresión de RS1 conduce a morfología mejorada de la retina con un descenso en el número y tamaño de cavidades en la retina como se ve en la imagen por tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT) (Figuras 7A-I), un rescate de la onda b de ERG (Figuras 8A-D), y conservación estructural a largo plazo de la retina (Figuras 9A-E).

20 Figuras 7A-I. Imágenes de SD-OCT de alta resolución representativas de retinas inyectadas con 7m8-rho-GFP (columna izquierda), 7m8-rho-RS1 (columna del medio), o animales de tipo natural no inyectados (columna derecha). Se tomaron imágenes del fondo a través de la capa nuclear interna de la retina superior y excluyen otras capas (a-c). Las imágenes transversales de la retina superior (d-f) e inferior (g-i) se tomaron usando la cabeza del nervio óptico como punto de referencia.

25 La retina RS1 no tratada incrementa en general el espesor cuando se mide desde la membrana limitante interna (MLI) a los fotorreceptores, como los progresos patológicos debido a la división por esquias de la retina interna. Este proceso es distinto del observado en la mayoría de las enfermedades degenerativas de la retina (EDR) que no forman esquias, pero presentan muerte progresiva de célula fotorreceptora en la CNI y estrechamiento concomitante de retina y pérdida de amplitud de ERG. En RS1, la CNE se estrecha ya que los fotorreceptores mueren de la enfermedad, pero esto es distinto del cambio del espesor general de la retina. Generalmente se piensa que una terapia con éxito para RS1 volverá el espesor general de la retina al tipo natural y aliviará la pérdida de fotorreceptor en la CNE. En la mayoría de EDR aparte de RS1, la pérdida de fotorreceptores, marcados por el estrechamiento de la CNE, se iguala por un descenso en la producción fisiológica de retina medida por la amplitud de ERG. RS1 es uno de los muy pocos ejemplos de una enfermedad de la retina en la que la patología incrementa el espesor de la retina con concomitante pérdida de amplitud de ERG. En resumen, restaurar el producto génico de RS1, un "pegamento" de retina extracelular; - estrecha la parte de atrás de la retina al espesor de tipo natural y la amplitud de ERG vuelve a niveles normales cercanos ya que soluciona la esquias.

40 La Figura 8a muestra una comparación de rescate funcional de ojos de Rs1^{-/-} no tratados con ojos inyectados con VAA2-rho-RS1, 7m8-rho-GFP y 7m8-rho-RS1 tanto un mes (izquierda) como 4 meses (derecha) después de la inyección. Un mes después de la inyección, 7m8-rho-RS1 condujo a rescate considerable de la amplitud de onda b de ERG, mientras que VAA2-rho.RS1 era estadísticamente indistinguible de los ojos no tratados.

45 Después de 4 meses, la amplitud de 7m8-rho-RS1 se incrementa más hacia la amplitud de tipo natural (derecha). La Figura 8b muestra que rastros de ERG representativos de ojos inyectados con 7m8-rho-RS1 muestran amplitud mejorada de la onda a y onda b y una forma de onda más cercana a los ojos de tipo natural, en comparación con los ojos inyectados con 7m8-rho-GFP. La Figura 8c muestra la amplitud de la onda b escotópica de campo completo resultante de un estímulo de alta intensidad ($1 \log \text{cd} \times \text{s/m}^2$) registrada sobre una base mensual comenzando un mes después de la inyección en P15 para cada condición. Se registraron tres respuestas y se calculó la media para cada ojo en cada momento.

50 Las amplitudes medias de la onda b de ERG se trazaron como una función del momento después de la inyección. $n=7$ se usó para ambas condiciones. La Figura 8d muestra un análisis de las respuestas de ERG bajo condiciones escotópicas (rastros superiores, intervalo del estímulo desde -3 a $1 \log \text{cd} \times \text{s/m}^2$) y fotópicas (rastros inferiores, intervalo desde $-0,9$ a $1,4 \log \text{cd} \times \text{s/m}^2$) indica función mejorada de bastón y cono durante un intervalo de intensidades de estímulos.

60 Figuras 9A-E. Mejoras constantes en el espesor de la retina medido a los 10 meses después del tratamiento con 7m8-rho-RS1. Imágenes de SD-OCT transversales representativas de retinas tratadas con a) 7m8-rho-RS1 o b) o 7m8-rho-GFP 10 meses después de la inyección centradas en la cabeza del nervio óptico. Medidas de c) espesor de la retina, d) espesor de CNE, y e) espesor del segmento interior y exterior se trazan como una función de la distancia desde la cabeza del nervio óptico.

Ejemplo 3: variante de VAA usada para administrar una proteína a células retinianas en el macaco

Se generó un virión de VAA2 recombinante (7m8 que lleva GFP bajo el control de un promotor de conexina 36). El virión de VAA2 recombinante incluyó una variante proteína de la cápside de VAA con una inserción de péptido LALGETTRPA entre los aminoácidos 587 y 588 de la cápside de VAA2, y GFP bajo control transcripcional de un promotor de conexina 36, que se expresa en interneuronas. El virión de VAA2 se inyectó de manera intravítrea en el ojo de un macaco. Los datos se muestran en la Figura 18.

La Figura 18 proporciona una imagen de fluorescencia del fondo que muestra la expresión de GFP en la parte de atrás de la retina 9 semanas después de la administración de 7m8 que lleva GFP bajo el control de un promotor de conexina 36. En comparación con el serotipo de VAA2 parental (Yin y col, *IOVS* 52(5); 2775), se vio un nivel superior de expresión en el anillo foveal, y se vio fluorescencia visible en la retina central fuera de la fovea.

Referencias

- Daiger S.P., Bowne S.J., Sullivan L.S. (2007) "Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa". *Arch Ophthalmol* 125:151-158.
- Dalkara D., Kolstad K.D., Caporale N., Visel M., Klimczak R.R., y col. (2009) "Inner Limiting Membrane Barriers to AAV Mediated Retinal Transduction from the Vitreous". *Mol. Ther.*
- Den Hollander AI, Roepman R., Koenekoop RK., Cremers F.P. (2008) "Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms". *Prog. Retin. Eye Res.* 27:391-419.
- Gruter O., Kostic C., Crippa S.V., Perez M.T., Zografos L., y col. (2005) "Lentiviral vector-mediated gene transfer in adult mouse photoreceptors is impaired by the presence of a physical barrier". *Gene Ther.* 12:942-947.
- Maguire A.M., Simonelli F., Pierce E.A., Pugh E.N., Jr., Mingozzi F., y col. (2008) "Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis". *N. Engl. J. Med.* 358:2.240-2.248.
- Mancuso K., Hauswirth W.W., Li Q., Connor T.B., Kuchenbecker J.A., y col. (2009) "Gene therapy for red-green colour blindness in adult primates". *Nature* 461:784-787.
- McGee Sanftner L.H., Abel H., Hauswirth W.W., Flannery J.G. (2001) "Glial cell line derived neurotrophic factor delays photoreceptor degeneration in a transgenic rat model of retinitis pigmentosa". *Mol. Ther.* 4:622-629.
- Muller O.J., Kaul F., Weitzman M.D., Pasqualini R., Arap W., y col. (2003) "Random peptide libraries displayed on adenoassociated virus to select for targeted gene therapy vectors". *Nat. Biotechnol.* 21:1.040-1.046.
- Nakazawa T. y col. (2007) "Attenuated glial reactions and photoreceptor degeneration after retinal detachment in mice deficient in glial fibrillary acidic protein and vimentin". *Invest. Ophthalmol Vis. Sci.* 48:2.760-8.
- Nakazawa T. y col. (2006) "Characterization of cytokine responses to retinal detachment in rats". *Mol. Vis.* 12:867-78.
- Perabo L., Buning H., Kofler D.M., Ried M.U., Girod A., y col. (2003) "In vitro selection of viral vectors with modified tropism: the adeno-associated virus display". *Mol. Ther.* 8:151-157.
- Petrs-Silva H., Dinculescu A., Li Q., Min S.H., Chiodo V., y col. (2009) "High-efficiency transduction of the mouse retina by tyrosine-mutant VAA serotype vectors". *Mol. Ther.* 17:463-471.
- Reme CE, Grimm C., Hafezi F., Wenzel A., Williams T.P. (2000) "Apoptosis in the Retina: The Silent Death of Vision". *News Physiol. Sci.* 15:120-124.
- Rolling F. (2004) "Recombinant AAV-mediated gene transfer to the retina: gene therapy perspectives". *Gene Ther.* 11 Suppl 1:S26-32.
- Wensel T.G., Gross A.K., Chan F., Sykoudis K., Wilson J.H. (2005) "Rhodopsin-EGFP knock-ins for imaging quantal gene alterations". *Vision Res.* 45:3.445-3.453.
- Zhong L., Li B., Mah C.S., Govindasamy L., Agbandje-McKenna M., y col. (2008) "Next generation of adeno-associated virus 2 vectors: point mutations in tyrosines lead to high-efficiency transduction at lower doses". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:7.827-7.832.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Schaffer, David V.
Klimczak, Ryan R.
Koerber, James T.
Flannery, John G.
Dalkara Mourrot, Deniz
Visel, Meike
Byrne, Leah C.T.

<120> Viriones de virus adenoasociado con cápside variante y métodos para su uso

<130> BERK-160WO

<150> 61/478.355

<151> 22-04-2011

<160> 64

<170> PatentIn versión 3.5

5 <210> 1
<211> 733
<212> PRT
<213> Virus Adeno-asociado-2

10 <400> 1

```

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
1          5          10          15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
20          25          30

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro
35          40          45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50          55          60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65          70          75          80

Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85          90          95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100         105         110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115         120         125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130         135         140

```

ES 2 638 342 T3

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

ES 2 638 342 T3

385					390						395					400
Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	
				405					410					415		
Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	
			420					425					430			
Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr	
		435					440					445				
Asn	Thr	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Thr	Gln	Ser	Arg	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	
	450					455					460					
Ala	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Asp	Gln	Ser	Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	
465					470					475					480	
Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	Thr	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn	
				485					490					495		
Asn	Ser	Glu	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly	
			500					505					510			
Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp	
		515					520					525				
Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Gln	Ser	Gly	Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	
	530					535					540					
Gln	Gly	Ser	Glu	Lys	Thr	Asn	Val	Asp	Ile	Glu	Lys	Val	Met	Ile	Thr	
545					550					555					560	
Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr	
				565					570					575		
Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly	Asn	Arg	Gln	Ala	Ala	Thr	
			580					585					590			
Ala	Asp	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Val	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp	
		595					600					605				
Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr	
	610					615					620					
Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys	
625					630					635					640	

ES 2 638 342 T3

His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn
645 650 655

Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln
660 665 670

Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
675 680 685

Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
690 695 700

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg
725 730

<210> 2
<211> 42
<212> PRT
<213> Virus adeno-asociado-2

<400> 2

Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg
1 5 10 15

Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val
35 40

<210> 3
<211> 42
<212> PRT
<213> Virus adeno-asociado-VAA-1

<400> 3

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser
1 5 10 15

Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val
35 40

<210> 4
<211> 42
<212> PRT

ES 2 638 342 T3

<213> Virus adeno-asociado-5

<400> 4

Arg Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser
1 5 10 15

Ser Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val
20 25 30

Pro Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val
35 40

<210> 5

<211> 42

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-VAA-6

<400> 5

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser
1 5 10 15

Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val
35 40

<210> 6

<211> 42

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-VAA-

<400> 6

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln Ala
1 5 10 15

Ala Asn Thr Ala Ala Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val
35 40

<210> 7

<211> 42

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-VAA-8

<400> 7

ES 2 638 342 T3

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln
1 5 10 15

Gln Asn Thr Ala Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val
35 40

<210> 8
<211> 42
<212> PRT
<213> Virus adeno-asociado-VAA-9

<400> 8

Pro Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser
1 5 10 15

Ala Gln Ala Gln Ala Gln Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val
35 40

<210> 9
<211> 42
<212> PRT
<213> Virus adeno-asociado-VAA-10

<400> 9

Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln
1 5 10 15

Ala Asn Thr Gly Pro Ile Val Gly Asn Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu
20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val
35 40

<210> 10
<211> 224
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 10

ES 2 638 342 T3

```

Met Ser Arg Lys Ile Glu Gly Phe Leu Leu Leu Leu Phe Gly Tyr
1           5           10           15

Glu Ala Thr Leu Gly Leu Ser Ser Thr Glu Asp Glu Gly Glu Asp Pro
          20           25           30

Trp Tyr Gln Lys Ala Cys Lys Cys Asp Cys Gln Gly Gly Pro Asn Ala
          35           40           45

Leu Trp Ser Ala Gly Ala Thr Ser Leu Asp Cys Ile Pro Glu Cys Pro
          50           55           60

Tyr His Lys Pro Leu Gly Phe Glu Ser Gly Glu Val Thr Pro Asp Gln
65           70           75           80

Ile Thr Cys Ser Asn Pro Glu Gln Tyr Val Gly Trp Tyr Ser Ser Trp
          85           90           95

Thr Ala Asn Lys Ala Arg Leu Asn Ser Gln Gly Phe Gly Cys Ala Trp
          100          105          110

Leu Ser Lys Phe Gln Asp Ser Ser Gln Trp Leu Gln Ile Asp Leu Lys
          115          120          125

Glu Ile Lys Val Ile Ser Gly Ile Leu Thr Gln Gly Arg Cys Asp Ile
          130          135          140

Asp Glu Trp Met Thr Lys Tyr Ser Val Gln Tyr Arg Thr Asp Glu Arg
145          150          155          160

Leu Asn Trp Ile Tyr Tyr Lys Asp Gln Thr Gly Asn Asn Arg Val Phe
          165          170          175

Tyr Gly Asn Ser Asp Arg Thr Ser Thr Val Gln Asn Leu Leu Arg Pro
          180          185          190

Pro Ile Ile Ser Arg Phe Ile Arg Leu Ile Pro Leu Gly Trp His Val
          195          200          205

Arg Ile Ala Ile Arg Met Glu Leu Leu Glu Cys Val Ser Lys Cys Ala
210          215          220

```

<210> 11
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

ES 2 638 342 T3

Met 1	Thr	Ile	Leu	Phe 5	Leu	Thr	Met	Val	Ile 10	Ser	Tyr	Phe	Gly	Cys 15	Met
Lys	Ala	Ala	Pro 20	Met	Lys	Glu	Ala	Asn 25	Ile	Arg	Gly	Gln	Gly 30	Gly	Leu
Ala	Tyr	Pro 35	Gly	Val	Arg	Thr	His 40	Gly	Thr	Leu	Glu	Ser 45	Val	Asn	Gly
Pro	Lys 50	Ala	Gly	Ser	Arg	Gly 55	Leu	Thr	Ser	Leu	Ala 60	Asp	Thr	Phe	Glu
His 65	Val	Ile	Glu	Glu 70	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp 75	His	Lys	Val	Arg	Pro	Asn 80
Glu	Glu	Asn	Asn	Lys 85	Asp	Ala	Asp	Leu	Tyr 90	Thr	Ser	Arg	Val	Met 95	Leu
Ser	Ser	Gln	Val 100	Pro	Leu	Glu	Pro	Pro 105	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu 110	Glu	Glu
Tyr	Lys	Asn 115	Tyr	Leu	Asp	Ala	Ala 120	Asn	Met	Ser	Met	Met 125	Val	Leu	Arg
His 130	Ser	Asp	Pro	Ala	Arg	Arg 135	Gly	Glu	Leu	Ser	Val 140	Cys	Asp	Ser	Ile
Ser 145	Glu	Trp	Val	Thr 150	Ala	Ala	Asp	Lys	Lys 155	Thr	Ala	Val	Asp	Met	Ser 160
Gly	Gly	Thr	Val	Thr 165	Val	Leu	Glu	Lys	Val 170	Pro	Val	Ser	Lys	Gly 175	Gln
Leu	Lys	Gln	Tyr 180	Phe	Tyr	Glu	Thr	Lys 185	Cys	Asn	Pro	Met	Gly 190	Tyr	Thr
Lys	Glu	Gly 195	Cys	Arg	Gly	Ile	Asp 200	Lys	Arg	His	Trp	Asn 205	Ser	Gln	Cys
Arg	Thr 210	Thr	Gln	Ser	Tyr	Val 215	Arg	Ala	Leu	Thr	Met 220	Asp	Ser	Lys	Lys
Arg 225	Ile	Gly	Trp	Arg	Phe 230	Ile	Arg	Ile	Asp	Thr 235	Ser	Cys	Val	Cys	Thr 240
Leu	Thr	Ile	Lys	Arg 245	Gly	Arg									

5
 <210> 12
 <211> 533
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 12

ES 2 638 342 T3

Met	Ser	Ile	Gln	Val	Glu	His	Pro	Ala	Gly	Gly	Tyr	Lys	Lys	Leu	Phe	1	5	10	15
Glu	Thr	Val	Glu	Glu	Leu	Ser	Ser	Pro	Leu	Thr	Ala	His	Val	Thr	Gly	20	25	30	
Arg	Ile	Pro	Leu	Trp	Leu	Thr	Gly	Ser	Leu	Leu	Arg	Cys	Gly	Pro	Gly	35	40	45	
Leu	Phe	Glu	Val	Gly	Ser	Glu	Pro	Phe	Tyr	His	Leu	Phe	Asp	Gly	Gln	50	55	60	
Ala	Leu	Leu	His	Lys	Phe	Asp	Phe	Lys	Glu	Gly	His	Val	Thr	Tyr	His	65	70	75	80
Arg	Arg	Phe	Ile	Arg	Thr	Asp	Ala	Tyr	Val	Arg	Ala	Met	Thr	Glu	Lys	85	90	95	
Arg	Ile	Val	Ile	Thr	Glu	Phe	Gly	Thr	Cys	Ala	Phe	Pro	Asp	Pro	Cys	100	105	110	
Lys	Asn	Ile	Phe	Ser	Arg	Phe	Phe	Ser	Tyr	Phe	Arg	Gly	Val	Glu	Val	115	120	125	
Thr	Asp	Asn	Ala	Leu	Val	Asn	Val	Tyr	Pro	Val	Gly	Glu	Asp	Tyr	Tyr	130	135	140	
Ala	Cys	Thr	Glu	Thr	Asn	Phe	Ile	Thr	Lys	Ile	Asn	Pro	Glu	Thr	Leu	145	150	155	160
Glu	Thr	Ile	Lys	Gln	Val	Asp	Leu	Cys	Asn	Tyr	Val	Ser	Val	Asn	Gly	165	170	175	
Ala	Thr	Ala	His	Pro	His	Ile	Glu	Asn	Asp	Gly	Thr	Val	Tyr	Asn	Ile	180	185	190	
Gly	Asn	Cys	Phe	Gly	Lys	Asn	Phe	Ser	Ile	Ala	Tyr	Asn	Ile	Val	Lys	195	200	205	
Ile	Pro	Pro	Leu	Gln	Ala	Asp	Lys	Glu	Asp	Pro	Ile	Ser	Lys	Ser	Glu	210	215	220	
Ile	Val	Val	Gln	Phe	Pro	Cys	Ser	Asp	Arg	Phe	Lys	Pro	Ser	Tyr	Val	225	230	235	240
His	Ser	Phe	Gly	Leu	Thr	Pro	Asn	Tyr	Ile	Val	Phe	Val	Glu	Thr	Pro				

ES 2 638 342 T3

				245						250					255	
Val	Lys	Ile	Asn	Leu	Phe	Lys	Phe	Leu	Ser	Ser	Trp	Ser	Leu	Trp	Gly	
			260					265					270			
Ala	Asn	Tyr	Met	Asp	Cys	Phe	Glu	Ser	Asn	Glu	Thr	Met	Gly	Val	Trp	
		275					280					285				
Leu	His	Ile	Ala	Asp	Lys	Lys	Arg	Lys	Lys	Tyr	Leu	Asn	Asn	Lys	Tyr	
	290					295					300					
Arg	Thr	Ser	Pro	Phe	Asn	Leu	Phe	His	His	Ile	Asn	Thr	Tyr	Glu	Asp	
305					310					315					320	
Asn	Gly	Phe	Leu	Ile	Val	Asp	Leu	Cys	Cys	Trp	Lys	Gly	Phe	Glu	Phe	
				325					330					335		
Val	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Ala	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Trp	Glu	Glu	
			340				345						350			
Val	Lys	Lys	Asn	Ala	Arg	Lys	Ala	Pro	Gln	Pro	Glu	Val	Arg	Arg	Tyr	
		355					360					365				
Val	Leu	Pro	Leu	Asn	Ile	Asp	Lys	Ala	Asp	Thr	Gly	Lys	Asn	Leu	Val	
	370					375					380					
Thr	Leu	Pro	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ala	Ile	Leu	Cys	Ser	Asp	Glu	Thr	
385				390						395					400	
Ile	Trp	Leu	Glu	Pro	Glu	Val	Leu	Phe	Ser	Gly	Pro	Arg	Gln	Ala	Phe	
				405					410					415		
Glu	Phe	Pro	Gln	Ile	Asn	Tyr	Gln	Lys	Tyr	Cys	Gly	Lys	Pro	Tyr	Thr	
			420					425					430			
Tyr	Ala	Tyr	Gly	Leu	Gly	Leu	Asn	His	Phe	Val	Pro	Asp	Arg	Leu	Cys	
	435						440					445				
Lys	Leu	Asn	Val	Lys	Thr	Lys	Glu	Thr	Trp	Val	Trp	Gln	Glu	Pro	Asp	
	450					455					460					
Ser	Tyr	Pro	Ser	Glu	Pro	Ile	Phe	Val	Ser	His	Pro	Asp	Ala	Leu	Glu	
465				470						475					480	
Glu	Asp	Asp	Gly	Val	Val	Leu	Ser	Val	Val	Val	Ser	Pro	Gly	Ala	Gly	
				485				490						495		

Gln Lys Pro Ala Tyr Leu Leu Ile Leu Asn Ala Lys Asp Leu Ser Glu
500 505 510

Val Ala Arg Ala Glu Val Glu Ile Asn Ile Pro Val Thr Phe His Gly
515 520 525

Leu Phe Lys Lys Ser
530

5 <210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Péptido sintético
<400> 13

Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro
1 5

15 <210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Péptido sintético
<400> 14

Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro
1 5

25 <210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Péptido sintético
<400> 15

Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn
1 5

35 <210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Péptido sintético
<400> 16

Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn
1 5

50

ES 2 638 342 T3

	<210> 17		
	<211> 27		
	<212> RNA		
	<213> Secuencia artificial		
5	<220>		
	<223> Oligonucleótido sintético		
	<400> 17		
10	cgcaaucagu gaaugcuuau acauccg	27	
	<210> 18		
	<211> 5541		
	<212> ADN		
15	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Construcción sintética		
20	<400> 18		
	agcttggatc caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta	60	
	actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta	120	
	ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgataaa atcctggttg ctgtctcttt	180	
	atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgactgtg tttgctgacg	240	
	caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt	300	
	tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg ccttgccgcg tgctggacag	360	
	gggctcggct gttgggcaact gacaattccg tgggtgtgtc ggggaagctg acgtcctttc	420	
	catggctgct cgctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc	480	
	cttcggccct caatccagcg gaccttctt cccgcggcct gctgccggct ctgcggcctc	540	
	ttccgcgtct tcgagatctg cctcgactgt gccttctagt tgccagccat ctgttggttg	600	
	cccctcccc gtgccttctt tgacctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata	660	
	aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt	720	
	ggggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc aggcattgctg gggactcgag	780	
	ttaagggcga attcccgatt aggatcttcc tagagcatgg ctacgtagat aagtagcatg	840	
	gcgggttaat cattaactac aaggaacccc tagtgatgga gttggccact ccctctctgc	900	
	gcgctcgctc gctcactgag gccgggcgac caaaggtcgc ccgacgccg ggctttgccc	960	
	gggcggcctc agtgagcgag cgagcgcgca gccttaatta acctaattca ctggccgtcg	1020	
	ttttacaacg tcgtgactgg gaaaaccctg gcgttaccga acttaatcgc cttgcagcac	1080	
	atcccccttt cgccagctgg cgtaatagcg aagaggcccg caccgatcgc ccttcccaac	1140	

agttgcgcag	cctgaatggc	gaatgggacg	cgccctgtag	cggcgcatta	agcgcgccgg	1200
gtgtgggtgt	tacgcgcagc	gtgaccgcta	cacttgccag	cgccctagcg	cccgcctctt	1260
tgcgtttctt	cccttccttt	ctgccacagt	tcgcgggctt	tccccgtcaa	gctctaaatc	1320
gggggctccc	tttaggggtc	cgatttagtg	ctttacggca	cctcgacccc	aaaaaacttg	1380
attaggggtga	tggttcacgt	agtgggcat	cgccccgata	gacggttttt	cgccctttga	1440
cgctggagtt	cacgttcctc	aatagtgagc	tcttggtcca	aactggaaca	acactcaacc	1500
ctatctcggt	ctattctttt	gatttataag	ggatttttcc	gatttcggcc	tattgggtta	1560
aaaatgagct	gatttaacaa	aaatttaacg	cgaattttta	caaaatatta	acgtttataa	1620
tttcagggtg	catctttcgg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttggtta	tttttctaaa	1680
tacattcaaa	tatgtatccg	ctcatgagac	aataaccctg	ataaatgctt	caataatatt	1740
gaaaaaggaa	gagtatgagt	attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	ttttttgcgg	1800
cattttgcct	tcctgttttt	gctcaccacg	aaacgctggg	gaaagtataa	gatgctgaag	1860
atcagttggg	tgcacgagtg	ggttacatcg	aactggatct	caatagtggt	aagatccttg	1920
agagttttcg	ccccgaagaa	cgttttccaa	tgatgagcac	ttttaaggtt	ctgctatgtg	1980
gcgcgggtatt	atcccggtatt	gacgcggggc	aagagcaact	cggtcgccgc	atacactatt	2040
ctcagaatga	cttggttgag	tactcaccag	tcacagaaaa	gcctcttacg	gatggcatga	2100
cagtaagaga	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtga	taacactgcg	gccaaacttac	2160
ttctgacaac	gatcggagga	ccgaaggagc	taaccgcttt	tttgacacac	atgggggatc	2220
atgtaactcg	ccttgatcgt	tggaaccggg	agctgaatga	agccatacca	aacgacgagc	2280
gtgacaccac	gatgcctgta	gtaatggtaa	caaagttgcg	caaactatta	actggcgaaac	2340
tacttactct	agcttcccg	caacaattaa	tagactggat	ggaggcggat	aaagttgcag	2400
gaccacttct	gcgctcggcc	cttcgggctg	gctggtttat	tgctgataaa	tctggagccg	2460
gtgagcgtgg	gtctcgcggg	atcattgcag	cactggggcc	agatggtaag	ccctcccgta	2520
tcgtagttat	ctacacgacg	gggagtcagg	caactatgga	tgaacgaaat	agacagatcg	2580
ctgagatagg	tgccctcactg	attaagcatt	ggtaactgtc	agaccaagtt	tactcatata	2640
tactttagat	tgatttaaaa	cttcattttt	aatttaaaaag	gatctaggtg	aagatccttt	2700
ttgataatct	catgacaaaa	atcccttaac	gtgagttttc	gttcactga	gcgtcagacc	2760
ccgtagaaaa	gatcaaagga	tcttcttgag	atcctttttt	tctgcgcgta	atctgctgct	2820
tgcaaacaaa	aaaaccaccg	ctaccagcgg	tggtttgttt	gccggatcaa	gagctaccaa	2880
ctctttttcc	gaaggttaact	ggcttcagca	gagcgcagat	accaaatact	gtccttctag	2940
tgtagccgta	gttaggcac	cacttcaaga	actctgtagc	accgcctaca	tacctcgctc	3000

ES 2 638 342 T3

tgctaatacct gttaccagt gctgctgcc a gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttg	3060
actcaagacg atagttaccg gataagggcg agcgggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca	3120
cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat	3180
gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag gtatccggta agcggcaggg	3240
tccgaacagg agagcgacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggat ctttatagtc	3300
ctgtcgggtt tccccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc	3360
ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc ttttgctgcg	3420
gttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg	3480
cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtacgtga	3540
gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc	3600
attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa	3660
ttaatgtgag ttagctcact cattagggac ccagggcttt acactttatg cttccggctc	3720
gtatgttgtg tgggaattgtg agcggataac aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg	3780
attacgccag atttaattaa ggctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa	3840
gccccggcgt cgggcgacct ttggctgccc ggctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga	3900
gggagtggcc aactccatca ctaggggttc cttgtagtta atgattaacc cgccatgcta	3960
cttatctacg tagccatgct ctaggaagat cggaaattgc ccttaagcta gcagatcttc	4020
cccacctagc cacctggcaa actgctcctt ctctcaaagg cccaaacatg gcctcccaga	4080
ctgcaacccc caggcagtca ggccctgtct ccacaacctc acagccaccc tggacggaat	4140
ctgcttcttc ccacatttga gtccctctca gccctgagc tcctctgggc agggctgttt	4200
ctttccatct ttgtattccc aggggcctgc aaataaatgt ttaatgaacg aacaagagag	4260
tgaattccaa ttccatgcaa caaggattgg gctcctgggc cctaggctat gtgtctggca	4320
ccagaaacgg aagctgcagg ttgcagcccc tgccctcatg gagctcctcc tgtcagagga	4380
gtgtggggac tggatgactc cagaggtaac ttgtggggga acgaacaggt aaggggctgt	4440
gtgacgagat gagagactgg gagaataaac cagaaagtct ctagctgtcc agaggacata	4500
gcacagaggc ccattggtccc tatttcaaac ccaggccacc agactgagct gggaccttgg	4560
gacagacaag tcatgcagaa gttaggggac cttctcctcc cttttcctgg atggatcctg	4620
agtaccttct cctccctgac ctcaggcttc ctctagtgt caccttggcc cctcttagaa	4680
gccaattagg ccctcagttt ctgcagcggg gattaatatg attatgaaca ccccaatct	4740
cccagatgct gattcagcca ggagcttagg agggggaggt cactttataa gggctctggg	4800
gggtcagaac ccagagtcac cccctgaatt ctgcagatat ccatcacact ggcggccgcg	4860
ccaccatgtc acgcaagata gaaggctttt tgttattact tctctttggc tatgaagcca	4920

ES 2 638 342 T3

```

cattgggatt atcgtctacc gaggatgaag gcgaggaccc ctggtaccaa aaagcatgca      4980
agtgcgattg ccaaggagga cccaatgctc tgtggtctgc aggtgccacc tccttggaact      5040
gtataccaga atgcccatac cacaagcctc tgggtttcga gtcaggggag gtcacaccgg      5100
accagatcac ctgctctaac ccggagcagt atgtgggctg gtattcttcg tggactgcaa      5160
acaaggcccg gctcaacagt caaggctttg ggtgtgcctg gctctccaag ttccaggaca      5220
gtagccagtg gttacagata gatctgaagg agatcaaagt gatttcaggg atcctcacc      5280
aggggcgctg tgacatcgat gagtggatga ccaagtacag cgtgcagtac aggaccgatg      5340
agcgccctgaa ctggatttac tacaaggacc agactggaaa caaccgggtc ttctatggca      5400
actcggaccg cacctccaag gttcagaacc tgctgcggcc ccccatcacc tcccgttca      5460
tccgcctcat cccgctgggc tggcacgtcc gcattgccat ccggatggag ctgctggagt      5520
gcgtcagcaa gtgtgcctga a                                              5541

```

<210> 19
 <211> 346
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 19

```

Met Ala Leu Leu Lys Val Lys Phe Asp Gln Lys Lys Arg Val Lys Leu
1          5          10          15

Ala Gln Gly Leu Trp Leu Met Asn Trp Phe Ser Val Leu Ala Gly Ile
20          25          30

Ile Ile Phe Ser Leu Gly Leu Phe Leu Lys Ile Glu Leu Arg Lys Arg
35          40          45

Ser Asp Val Met Asn Asn Ser Glu Ser His Phe Val Pro Asn Ser Leu
50          55          60

Ile Gly Met Gly Val Leu Ser Cys Val Phe Asn Ser Leu Ala Gly Lys
65          70          75          80

Ile Cys Tyr Asp Ala Leu Asp Pro Ala Lys Tyr Ala Arg Trp Lys Pro
85          90          95

Trp Leu Lys Pro Tyr Leu Ala Ile Cys Val Leu Phe Asn Ile Ile Leu
100         105         110

Phe Leu Val Ala Leu Cys Cys Phe Leu Leu Arg Gly Ser Leu Glu Asn
115         120         125

```

ES 2 638 342 T3

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

<210> 20
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 20

ES 2 638 342 T3

Met	Ser	His	His	Pro	Ser	Gly	Leu	Arg	Ala	Gly	Phe	Ser	Ser	Thr	Ser	1	5	10	15
Tyr	Arg	Arg	Thr	Phe	Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Phe	20	25	30	
Ser	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Phe	Ser	Ser	Ser	Arg	Leu	Leu	Gly	Ser	35	40	45	
Ala	Ser	Pro	Ser	Ser	Ser	Val	Arg	Leu	Gly	Ser	Phe	Arg	Ser	Pro	Arg	50	55	60	
Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Leu	Leu	Arg	Leu	Pro	Ser	Glu	Arg	Leu	Asp	Phe	65	70	75	80
Ser	Met	Ala	Glu	Ala	Leu	Asn	Gln	Glu	Phe	Leu	Ala	Thr	Arg	Ser	Asn	85	90	95	
Glu	Lys	Gln	Glu	Leu	Gln	Glu	Leu	Asn	Asp	Arg	Phe	Ala	Asn	Phe	Ile	100	105	110	
Glu	Lys	Val	Arg	Phe	Leu	Glu	Gln	Gln	Asn	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly	Glu	115	120	125	
Leu	Ser	Gln	Ala	Arg	Gly	Gln	Glu	Pro	Ala	Arg	Ala	Asp	Gln	Leu	Cys	130	135	140	
Gln	Gln	Glu	Leu	Arg	Glu	Leu	Arg	Arg	Glu	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Arg	145	150	155	160
Glu	Arg	Asp	Arg	Val	Gln	Val	Glu	Arg	Asp	Gly	Leu	Ala	Glu	Asp	Leu	165	170	175	
Ala	Ala	Leu	Lys	Gln	Arg	Leu	Glu	Glu	Glu	Thr	Arg	Lys	Arg	Glu	Asp	180	185	190	
Ala	Glu	His	Asn	Leu	Val	Leu	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asp	Asp	Ala	Thr	195	200	205	
Leu	Ser	Arg	Leu	Glu	Leu	Glu	Arg	Lys	Ile	Glu	Ser	Leu	Met	Asp	Glu	210	215	220	
Ile	Glu	Phe	Leu	Lys	Lys	Leu	His	Glu	Glu	Glu	Leu	Arg	Asp	Leu	Gln	225	230	235	240
Val	Ser	Val	Glu	Ser	Gln	Gln	Val	Gln	Gln	Val	Glu	Val	Glu	Ala	Thr	245	250	255	

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

<210> 21
 <211> 1286
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 21

ES 2 638 342 T3

Met	Ser	His	Leu	Val	Asp	Pro	Thr	Ser	Gly	Asp	Leu	Pro	Val	Arg	Asp	1	5	10	15
Ile	Asp	Ala	Ile	Pro	Leu	Val	Leu	Pro	Ala	Ser	Lys	Gly	Lys	Asn	Met	20	25	30	
Lys	Thr	Gln	Pro	Pro	Leu	Ser	Arg	Met	Asn	Arg	Glu	Glu	Leu	Glu	Asp	35	40	45	
Ser	Phe	Phe	Arg	Leu	Arg	Glu	Asp	His	Met	Leu	Val	Lys	Glu	Leu	Ser	50	55	60	
Trp	Lys	Gln	Gln	Asp	Glu	Ile	Lys	Arg	Leu	Arg	Thr	Thr	Leu	Leu	Arg	65	70	75	80
Leu	Thr	Ala	Ala	Gly	Arg	Asp	Leu	Arg	Val	Ala	Glu	Glu	Ala	Ala	Pro	85	90	95	
Leu	Ser	Glu	Thr	Ala	Arg	Arg	Gly	Gln	Lys	Ala	Gly	Trp	Arg	Gln	Arg	100	105	110	
Leu	Ser	Met	His	Gln	Arg	Pro	Gln	Met	His	Arg	Leu	Gln	Gly	His	Phe	115	120	125	
His	Cys	Val	Gly	Pro	Ala	Ser	Pro	Arg	Arg	Ala	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	130	135	140	
Val	Gly	His	Arg	Gln	Leu	His	Thr	Ala	Gly	Ala	Pro	Val	Pro	Glu	Lys	145	150	155	160
Pro	Lys	Arg	Gly	Pro	Arg	Asp	Arg	Leu	Ser	Tyr	Thr	Ala	Pro	Pro	Ser	165	170	175	
Phe	Lys	Glu	His	Ala	Thr	Asn	Glu	Asn	Arg	Gly	Glu	Val	Ala	Ser	Lys	180	185	190	
Pro	Ser	Glu	Leu	Val	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Ile	Ile	Ser	Phe	Ser	Ser	195	200	205	
Val	Ile	Ser	Met	Ala	Lys	Pro	Ile	Gly	Leu	Cys	Met	Pro	Asn	Ser	Ala	210	215	220	
His	Ile	Met	Ala	Ser	Asn	Thr	Met	Gln	Val	Glu	Glu	Pro	Pro	Lys	Ser	225	230	235	240
Pro	Glu	Lys	Met	Trp	Pro	Lys	Asp	Glu	Asn	Phe	Glu	Gln	Arg	Ser	Ser	245	250	255	

ES 2 638 342 T3

Leu Glu Cys Ala Gln Lys Ala Ala Glu Leu Arg Ala Ser Ile Lys Glu
 260 265 270
 Lys Val Glu Leu Ile Arg Leu Lys Lys Leu Leu His Glu Arg Asn Ala
 275 280 285
 Ser Leu Val Met Thr Lys Ala Gln Leu Thr Glu Val Gln Glu Ala Tyr
 290 295 300
 Glu Thr Leu Leu Gln Lys Asn Gln Gly Ile Leu Ser Ala Ala His Glu
 305 310 315 320
 Ala Leu Leu Lys Gln Val Asn Glu Leu Arg Ala Glu Leu Lys Glu Glu
 325 330 335
 Ser Lys Lys Ala Val Ser Leu Lys Ser Gln Leu Glu Asp Val Ser Ile
 340 345 350
 Leu Gln Met Thr Leu Lys Glu Phe Gln Glu Arg Val Glu Asp Leu Glu
 355 360 365
 Lys Glu Arg Lys Leu Leu Asn Asp Asn Tyr Asp Lys Leu Leu Glu Ser
 370 375 380
 Met Leu Asp Ser Ser Asp Ser Ser Ser Gln Pro His Trp Ser Asn Glu
 385 390 395 400
 Leu Ile Ala Glu Gln Leu Gln Gln Gln Val Ser Gln Leu Gln Asp Gln
 405 410 415
 Leu Asp Ala Glu Leu Glu Asp Lys Arg Lys Val Leu Leu Glu Leu Ser
 420 425 430
 Arg Glu Lys Ala Gln Asn Glu Asp Leu Lys Leu Glu Val Thr Asn Ile
 435 440 445
 Leu Gln Lys His Lys Gln Glu Val Glu Leu Leu Gln Asn Ala Ala Thr
 450 455 460
 Ile Ser Gln Pro Pro Asp Arg Gln Ser Glu Pro Ala Thr His Pro Ala
 465 470 475 480
 Val Leu Gln Glu Asn Thr Gln Ile Glu Pro Ser Glu Pro Lys Asn Gln
 485 490 495
 Glu Glu Lys Lys Leu Ser Gln Val Leu Asn Glu Leu Gln Val Ser His

ES 2 638 342 T3

500								505				510			
Ala	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Leu	Glu	Lys	Thr	Arg	Asp	Met	Leu	Ile	Leu
		515					520					525			
Gln	Arg	Lys	Ile	Asn	Val	Cys	Tyr	Gln	Glu	Glu	Leu	Glu	Ala	Met	Met
	530					535					540				
Thr	Lys	Ala	Asp	Asn	Asp	Asn	Arg	Asp	His	Lys	Glu	Lys	Leu	Glu	Arg
545					550					555					560
Leu	Thr	Arg	Leu	Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Asn	Arg	Ile	Lys	Gln	Leu	Glu
				565					570					575	
Gly	Ile	Leu	Arg	Ser	His	Asp	Leu	Pro	Thr	Ser	Glu	Gln	Leu	Lys	Asp
			580					585					590		
Val	Ala	Tyr	Gly	Thr	Arg	Pro	Leu	Ser	Leu	Cys	Leu	Glu	Thr	Leu	Pro
		595					600					605			
Ala	His	Gly	Asp	Glu	Asp	Lys	Val	Asp	Ile	Ser	Leu	Leu	His	Gln	Gly
	610					615					620				
Glu	Asn	Leu	Phe	Glu	Leu	His	Ile	His	Gln	Ala	Phe	Leu	Thr	Ser	Ala
625					630					635					640
Ala	Leu	Ala	Gln	Ala	Gly	Asp	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Phe	Cys	Thr	Tyr
				645					650					655	
Ser	Phe	Tyr	Asp	Phe	Glu	Thr	His	Cys	Thr	Pro	Leu	Ser	Val	Gly	Pro
			660					665					670		
Gln	Pro	Leu	Tyr	Asp	Phe	Thr	Ser	Gln	Tyr	Val	Met	Glu	Thr	Asp	Ser
		675					680					685			
Leu	Phe	Leu	His	Tyr	Leu	Gln	Glu	Ala	Ser	Ala	Arg	Leu	Asp	Ile	His
	690					695					700				
Gln	Ala	Met	Ala	Ser	Glu	His	Ser	Thr	Leu	Ala	Ala	Gly	Trp	Ile	Cys
705					710					715					720
Phe	Asp	Arg	Val	Leu	Glu	Thr	Val	Glu	Lys	Val	His	Gly	Leu	Ala	Thr
				725					730					735	
Leu	Ile	Gly	Ala	Gly	Gly	Glu	Glu	Phe	Gly	Val	Leu	Glu	Tyr	Trp	Met
			740					745					750		

ES 2 638 342 T3

Arg Leu Arg Phe Pro Ile Lys Pro Ser Leu Gln Ala Cys Asn Lys Arg
 755 760 765
 Lys Lys Ala Gln Val Tyr Leu Ser Thr Asp Val Leu Gly Gly Arg Lys
 770 775 780
 Ala Gln Glu Glu Glu Phe Arg Ser Glu Ser Trp Glu Pro Gln Asn Glu
 785 790 795 800
 Leu Trp Ile Glu Ile Thr Lys Cys Cys Gly Leu Arg Ser Arg Trp Leu
 805 810 815
 Gly Thr Gln Pro Ser Pro Tyr Ala Val Tyr Arg Phe Phe Thr Phe Ser
 820 825 830
 Asp His Asp Thr Ala Ile Ile Pro Ala Ser Asn Asn Pro Tyr Phe Arg
 835 840 845
 Asp Gln Ala Arg Phe Pro Val Leu Val Thr Ser Asp Leu Asp His Tyr
 850 855 860
 Leu Arg Arg Glu Ala Leu Ser Ile His Val Phe Asp Asp Glu Asp Leu
 865 870 875 880
 Glu Pro Gly Ser Tyr Leu Gly Arg Ala Arg Val Pro Leu Leu Pro Leu
 885 890 895
 Ala Lys Asn Glu Ser Ile Lys Gly Asp Phe Asn Leu Thr Asp Pro Ala
 900 905 910
 Glu Lys Pro Asn Gly Ser Ile Gln Val Gln Leu Asp Trp Lys Phe Pro
 915 920 925
 Tyr Ile Pro Pro Glu Ser Phe Leu Lys Pro Glu Ala Gln Thr Lys Gly
 930 935 940
 Lys Asp Thr Lys Asp Ser Ser Lys Ile Ser Ser Glu Glu Glu Lys Ala
 945 950 955 960
 Ser Phe Pro Ser Gln Asp Gln Met Ala Ser Pro Glu Val Pro Ile Glu
 965 970 975
 Ala Gly Gln Tyr Arg Ser Lys Arg Lys Pro Pro His Gly Gly Glu Arg
 980 985 990
 Lys Glu Lys Glu His Gln Val Val Ser Tyr Ser Arg Arg Lys His Gly
 995 1000 1005

ES 2 638 342 T3

Lys Arg 1010	Ile Gly Val Gln Gly 1015	Lys Asn Arg Met Glu 1020	Tyr Leu Ser
Leu Asn 1025	Ile Leu Asn Gly Asn 1030	Thr Pro Glu Gln Val 1035	Asn Tyr Thr
Glu Trp 1040	Lys Phe Ser Glu Thr 1045	Asn Ser Phe Ile Gly 1050	Asp Gly Phe
Lys Asn 1055	Gln His Glu Glu Glu 1060	Glu Met Thr Leu Ser 1065	His Ser Ala
Leu Lys 1070	Gln Lys Glu Pro Leu 1075	His Pro Val Asn Asp 1080	Lys Glu Ser
Ser Glu 1085	Gln Gly Ser Glu Val 1090	Ser Glu Ala Gln Thr 1095	Thr Asp Ser
Asp Asp 1100	Val Ile Val Pro Pro 1105	Met Ser Gln Lys Tyr 1110	Pro Lys Ala
Asp Ser 1115	Glu Lys Met Cys Ile 1120	Glu Ile Val Ser Leu 1125	Ala Phe Tyr
Pro Glu 1130	Ala Glu Val Met Ser 1135	Asp Glu Asn Ile Lys 1140	Gln Val Tyr
Val Glu 1145	Tyr Lys Phe Tyr Asp 1150	Leu Pro Leu Ser Glu 1155	Thr Glu Thr
Pro Val 1160	Ser Leu Arg Lys Pro 1165	Arg Ala Gly Glu Glu 1170	Ile His Phe
His Phe 1175	Ser Lys Val Ile Asp 1180	Leu Asp Pro Gln Glu 1185	Gln Gln Gly
Arg Arg 1190	Arg Phe Leu Phe Asp 1195	Met Leu Asn Gly Gln 1200	Asp Pro Asp
Gln Gly 1205	His Leu Lys Phe Thr 1210	Val Val Ser Asp Pro 1215	Leu Asp Glu
Glu Lys 1220	Lys Glu Cys Glu Glu 1225	Val Gly Tyr Ala Tyr 1230	Leu Gln Leu
Trp Gln 1235	Ile Leu Glu Ser Gly 1240	Arg Asp Ile Leu Glu 1245	Gln Glu Leu

Asp Ile Val Ser Pro Glu Asp Leu Ala Thr Pro Ile Gly Arg Leu
1250 1255 1260

Lys Val Ser Leu Gln Ala Ala Ala Val Leu His Ala Ile Tyr Lys
1265 1270 1275

Glu Met Thr Glu Asp Leu Phe Ser
1280 1285

<210> 22

<211> 240

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-1

<400> 22

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn
35 40 45

Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln
50 55 60

Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser
65 70 75 80

Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala
85 90 95

Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr
100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser
115 120 125

Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala
130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn
145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser
165 170 175

5

10

ES 2 638 342 T3

Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu
180 185 190

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu
210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
225 230 235 240

<210> 23

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-6

<400> 23

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn
35 40 45

Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln
50 55 60

Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser
65 70 75 80

Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala
85 90 95

Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr
100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser
115 120 125

Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala
130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn
145 150 155 160

ES 2 638 342 T3

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu
180 185 190

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu
210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
225 230 235 240

<210> 24
<211> 240
<212> PRT
<213> Virus adeno-asociado-3
<400> 24

Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His
1 5 10 15

Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu
20 25 30

Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln
35 40 45

Ser Arg Leu Leu Phe Ser Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln
50 55 60

Ala Arg Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser
65 70 75 80

Lys Thr Ala Asn Asp Asn Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala
85 90 95

Ser Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro
100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His
115 120 125

Gly Asn Leu Ile Phe Gly Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu
130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn
145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Asn Thr Ala Pro Thr Thr Gly Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu
180 185 190

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu
210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys
225 230 235 240

<210> 25

<211> 240

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-2

<400> 25

Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His
1 5 10 15

Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu
20 25 30

Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser
35 40 45

Arg Leu Gln Phe Ser Gln Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser
50 55 60

Arg Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys
65 70 75 80

Thr Ser Ala Asp Asn Asn Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr
85 90 95

Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala
100 105 110

Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly
115 120 125

5

10

ES 2 638 342 T3

Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile
130 135 140

Glu Lys Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro
145 150 155 160

Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly
165 170 175

Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro
180 185 190

Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp
195 200 205

Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met
210 215 220

Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn
225 230 235 240

<210> 26
<211> 243
<212> PRT
<213> Virus adeno-asociado-8

<400> 26

Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala
35 40 45

Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala
50 55 60

Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg
65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr
85 90 95

Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro
100 105 110

Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro
115 120 125

Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn
130 135 140

Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr
145 150 155 160

Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu
165 170 175

Gln Gln Gln Asn Thr Ala Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly
180 185 190

Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly
195 200 205

Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser
210 215 220

Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu
225 230 235 240

Ile Lys Asn

<210> 27
<211> 243
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Polipéptido sintético

<400> 27

Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala
35 40 45

Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala
50 55 60

ES 2 638 342 T3

Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg
65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr
85 90 95

Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro
100 105 110

Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro
115 120 125

Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn
130 135 140

Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr
145 150 155 160

Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu
165 170 175

Gln Gly Gln Arg Gln Ala Ala Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly
180 185 190

Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly
195 200 205

Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser
210 215 220

Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu
225 230 235 240

Ile Lys Asn

<210> 28

<211> 241

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-rh8

<400> 28

Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln
20 25 30

5

10

ES 2 638 342 T3

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

Asn

<210> 29
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Virus adeno-asociado-10

<400> 29

ES 2 638 342 T3

Asn	Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	1	5	10	15
Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	20	25	30	
Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr	Gln	Ser	Thr	Gly	Gly	Thr	Gln	35	40	45	
Gly	Thr	Gln	Gln	Leu	Leu	Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Pro	Ala	Asn	Met	Ser	50	55	60	
Ala	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	65	70	75	80
Val	Ser	Thr	Thr	Leu	Ser	Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Ala	Trp	Thr	85	90	95	
Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	100	105	110	
Gly	Val	Ala	Met	Ala	Thr	His	Lys	Asp	Asp	Glu	Glu	Arg	Phe	Phe	Pro	115	120	125	
Ser	Ser	Gly	Val	Leu	Met	Phe	Gly	Lys	Gln	Gly	Ala	Gly	Arg	Asp	Asn	130	135	140	
Val	Asp	Tyr	Ser	Ser	Val	Met	Leu	Thr	Ser	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Thr	145	150	155	160
Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr	Gly	Val	Val	Ala	Asp	Asn	Leu	165	170	175	
Gln	Gln	Ala	Asn	Thr	Gly	Pro	Ile	Val	Gly	Asn	Val	Asn	Ser	Gln	Gly	180	185	190	
Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asn	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	195	200	205	
Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr	Asp	Gly	Asn	Phe	His	Pro	Ser	210	215	220	
Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	225	230	235	240
Ile	Lys	Asn																	

ES 2 638 342 T3

<210> 30
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Virus adeno-asociado-7

5

<400> 30

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

Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile
 225 230 235 240

Lys Asn

<210> 31
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Virus adeno-asociado-9

<400> 31

Phe Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr
 1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln
 20 25 30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln
 35 40 45

Gln Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln
 50 55 60

Gly Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser
 65 70 75 80

Thr Thr Val Thr Gln Asn Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala
 85 90 95

Ser Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro
 100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser
 115 120 125

Gly Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp
 130 135 140

Ala Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn
 145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser
 165 170 175

Ala Gln Ala Gln Ala Gln Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu
 180 185 190

5

10

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu
210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Met Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
225 230 235 240

<210> 32

<211> 239

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 32

Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln
35 40 45

Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly
50 55 60

Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr
65 70 75 80

Thr Val Thr Gln Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser
85 90 95

Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala
100 105 110

Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly
115 120 125

Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala
130 135 140

Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro
145 150 155 160

Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Gly
165 170 175

Gln Ala Gln Ala Ala Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro
180 185 190

Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp
195 200 205

Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met
210 215 220

Gly Gly Phe Gly Met Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
225 230 235

<210> 33

<211> 240

<212> PRT

<213> Virus adeno-asociado-5

<400> 33

Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser
1 5 10 15

Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp
20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln
35 40 45

Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp
50 55 60

Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly
65 70 75 80

Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu
85 90 95

Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr
100 105 110

Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile
115 120 125

Phe Asn Ser Gln Pro Ala Asn Pro Gly Thr Thr Ala Thr Tyr Leu Glu
130 135 140

5

10

ES 2 638 342 T3

Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg
145 150 155 160

Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Ser
165 170 175

Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro
180 185 190

Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp
195 200 205

Ala Lys Ile Pro Glu Thr Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met
210 215 220

Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn
225 230 235 240

<210> 34

<211> 250

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 34

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn
35 40 45

Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln
50 55 60

Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser
65 70 75 80

Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala
85 90 95

Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr
100 105 110

ES 2 638 342 T3

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser
115 120 125

Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala
130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn
145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser
165 170 175

Ser Ser Thr Asp Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Pro Ala
180 185 190

Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
195 200 205

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
210 215 220

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
225 230 235 240

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
245 250

<210> 35
<211> 250
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 35

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn
35 40 45

Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln
50 55 60

Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

ES 2 638 342 T3

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

<210> 36

<211> 250

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<400> 36

ES 2 638 342 T3

Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	1	5	10	15
Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	20	25	30	
Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr	Asn	Thr	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Thr	Gln	Ser	35	40	45	
Arg	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Asp	Gln	Ser	50	55	60	
Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys	65	70	75	80
Thr	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	85	90	95	
Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	100	105	110	
Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp	Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Gln	Ser	Gly	115	120	125	
Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	Gln	Gly	Ser	Glu	Lys	Thr	Asn	Val	Asp	Ile	130	135	140	
Glu	Lys	Val	Met	Ile	Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	145	150	155	160
Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly	165	170	175	
Asn	Leu	Ala	Leu	Gly	Glu	Thr	Thr	Arg	Pro	Ala	Arg	Gln	Ala	Ala	Thr	180	185	190	
Ala	Asp	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Val	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp	195	200	205	
Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr	210	215	220	
Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys	225	230	235	240
His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	245	250								

5 <210> 37
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polipéptido sintético

10 <400> 37

Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
 1 5 10 15
 Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
 20 25 30
 Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala
 35 40 45
 Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala
 50 55 60
 Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg
 65 70 75 80
 Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr
 85 90 95
 Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro
 100 105 110
 Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro
 115 120 125
 Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn
 130 135 140
 Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr
 145 150 155 160
 Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu
 165 170 175
 Gln Gln Gln Asn Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Thr Ala
 180 185 190
 Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val
 195 200 205
 Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile
 210 215 220
 Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe
 225 230 235 240
 Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn
 245 250

ES 2 638 342 T3

<210> 38
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 38

10

```

Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
 1           5           10           15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
          20           25           30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala
          35           40           45

Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala
 50           55           60

Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg
65           70           75           80

Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr
          85           90           95

Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro
          100          105          110

Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro
          115          120          125

Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn
130           135           140

Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr
145           150           155           160

Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu
          165          170          175

Gln Gly Gln Arg Gly Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Gln Ala Ala
          180          185          190
  
```

Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp
195 200 205

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
210 215 220

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly
225 230 235 240

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn
245 250

<210> 39

<211> 251

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 39

Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln
20 25 30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Val Arg Thr Gln Thr Thr Gly Thr Gly Gly Thr
35 40 45

Gln Thr Leu Ala Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn Gln
50 55 60

Ala Arg Asn Trp Val Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser
65 70 75 80

Thr Thr Thr Asn Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala
85 90 95

Ala Lys Phe Lys Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Met Asn Pro Gly Val
100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser
115 120 125

Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Asn Asp Gly Val Asp
130 135 140

ES 2 638 342 T3

Tyr Ser Gln Val Leu Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn
145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ala Val Ala Ile Asn Asn Gln Ala
165 170 175

Ala Asn Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Thr Gln Ala Gln
180 185 190

Thr Gly Leu Val His Asn Gln Gly Val Ile Pro Gly Met Val Trp Gln
195 200 205

Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
210 215 220

Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
225 230 235 240

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn
245 250

<210> 40

<211> 253

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 40

Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Gln
35 40 45

Gly Thr Gln Gln Leu Leu Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ala Asn Met Ser
50 55 60

Ala Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg
65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Leu Ser Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr
85 90 95

Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro

ES 2 638 342 T3

	100		105		110
Gly Val Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro	115		120		125
Ser Ser Gly Val Leu Met Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Arg Asp Asn	130		135		140
Val Asp Tyr Ser Ser Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr	145		150		155
Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu	165		170		175
Gln Gln Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Ala Asn Thr Gly	180		185		190
Pro Ile Val Gly Asn Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val	195		200		205
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile	210		215		220
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe	225		230		235
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn	245		250		

<210> 41

<211> 252

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 41

Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr	Ser	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	1	5	10	15
Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	20	25	30	
Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ala	Arg	Thr	Gln	Ser	Asn	Pro	Gly	Gly	Thr	Ala	35	40	45	
Gly	Asn	Arg	Glu	Leu	Gln	Phe	Tyr	Gln	Gly	Gly	Pro	Ser	Thr	Met	Ala	50	55	60	
Glu	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Phe	Arg	Gln	Gln	Arg	65	70	75	80
Val	Ser	Lys	Thr	Leu	Asp	Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Ala	Trp	Thr	85	90	95	
Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly	Arg	Asn	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	100	105	110	
Gly	Val	Ala	Met	Ala	Thr	His	Lys	Asp	Asp	Glu	Asp	Arg	Phe	Phe	Pro	115	120	125	
Ser	Ser	Gly	Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	Thr	Gly	Ala	Thr	Asn	Lys	Thr	130	135	140	
Thr	Leu	Glu	Asn	Val	Leu	Met	Thr	Asn	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Pro	Thr	145	150	155	160
Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Tyr	Gly	Ile	Val	Ser	Ser	Asn	Leu	Gln	165	170	175	
Ala	Ala	Asn	Leu	Ala	Leu	Gly	Glu	Thr	Thr	Arg	Pro	Ala	Thr	Ala	Ala	180	185	190	
Gln	Thr	Gln	Val	Val	Asn	Asn	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	195	200	205	
Gln	Asn	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	210	215	220	
His	Thr	Asp	Gly	Asn	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	225	230	235	240
Leu	Lys	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	245	250						

ES 2 638 342 T3

<210> 42
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10

<400> 42

Phe	Gln	Phe	Ser	Tyr	Glu	Phe	Glu	Asn	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr
1				5					10					15	

ES 2 638 342 T3

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

<210> 43
 <211> 248
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

5

<400> 43

Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10 15
 His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
 20 25 30
 Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln
 35 40 45
 Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly
 50 55 60
 Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr
 65 70 75 80
 Thr Val Thr Gln Asn Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser
 85 90 95
 Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala
 100 105 110
 Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly
 115 120 125
 Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala
 130 135 140
 Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro
 145 150 155 160
 Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Gly
 165 170 175
 Gln Ala Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Gln Ala Ala Thr Gly
 180 185 190
 Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg
 195 200 205
 Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp
 210 215 220
 Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met Lys His
 225 230 235 240
 Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
 245

<210> 44
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 44

10

```

Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser
1           5           10           15

Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp
          20           25           30

Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln
          35           40           45

Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp
          50           55           60

Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly
65           70           75           80

Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu
          85           90           95

Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr
          100          105          110

Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile
          115          120          125

Phe Asn Ser Gln Pro Ala Asn Pro Gly Thr Thr Ala Thr Tyr Leu Glu
          130          135          140

Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg
145           150           155           160

Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Leu
          165          170          175

```

ES 2 638 342 T3

Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ala Thr
180 185 190

Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro Gly Ser Val Trp Met Glu
195 200 205

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro Glu Thr
210 215 220

Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys
225 230 235 240

His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn
245 250

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 45

Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala
1 5 10

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 46

Leu Ala Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala
1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 47

Leu Ala Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala
1 5 10

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 48
 5
 Leu Ala Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala
 1 5 10
 <210> 49
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 15
 <400> 49
 Ala Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala
 1 5 10
 20
 <210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 50
 Ala Ala Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala
 1 5 10
 30
 <210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 40
 <400> 51
 Ala Ala Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala
 1 5 10
 45
 <210> 52
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 52
 Ala Ala Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala
 1 5 10
 55
 <210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
	<400> 53	
5		Gly Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala
		1 5
	<210> 54	
	<211> 9	
10	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
15		
	<400> 54	
		Gly Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala
		1 5
20	<210> 55	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
25	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
	<400> 55	
		Gly Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala
30		1 5
	<210> 56	
	<211> 9	
	<212> PRT	
35	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Péptido sintético	
40	<400> 56	
		Gly Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala
		1 5
45	<210> 57	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
50	<223> Polipéptido sintético	
	<400> 57	
		Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg
55		1 5
	<210> 58	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
	<400> 58	
5		Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly
		1 5
	<210> 59	
	<211> 7	
10	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
15	<400> 5	
		Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe
		1 5
20	<210> 60	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
25	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
	<400> 60	
		Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn
30		1 5
	<210> 61	
	<211> 10	
	<212> PRT	
35	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Polipéptido sintético	
40	<400> 61	
		Leu Ala Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg Ala
		1 5 10
45	<210> 62	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
50	<223> Polipéptido sintético	
	<400> 62	
		Leu Ala Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly Ala
		1 5 10
55	<210> 63	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	

ES 2 638 342 T3

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 63

5

Leu	Ala	Ala	Val	Asp	Thr	Thr	Lys	Phe	Ala
1				5					10

<210> 64

<211> 10

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

15

<400> 64

Leu	Ala	Ser	Thr	Gly	Lys	Val	Pro	Asn	Ala
1				5					10

REIVINDICACIONES

1. Un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr), o una composición farmacéutica que comprende dicho virión, para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad ocular en un individuo que lo necesite, en donde la composición comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y en donde el virión del virus adenoasociado recombinante (VAAr) comprende:
 - a) una proteína de la cápside de VAA variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en donde la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59) y STGKVPN (SEQ ID NO:60); y
 - b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico;
 en donde la proteína de la cápside variante infecta una célula retiniana.
2. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en donde el sitio de inserción está dentro de los aminoácidos 570 a 611 de la proteína de la cápside de VAA2 expuesta en SEQ ID NO:1, o la correspondiente posición en la proteína de la cápside de otro serotipo de VAA.
3. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la célula retiniana es un fotorreceptor, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal o una célula de epitelio pigmentario de la retina
4. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho tratamiento es por inyección intraocular.
5. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho tratamiento es por inyección intravítrea.
6. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la enfermedad ocular es glaucoma, retinitis pigmentosa, degeneración macular, retinosquiasis, amaurosis congénita de Leber, retinopatía diabética, acromatopsia o daltonismo.
7. Un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr) que comprende:
 - a) una proteína de la cápside de VAA variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en donde la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59) y STGKVPN (SEQ ID NO:60), y en donde la proteína de la cápside variante confiere infectividad de una célula retiniana; y
 - b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico.
8. El virión de VAAr de la reivindicación 7, en el que el sitio de inserción está dentro de los aminoácidos 570 a 611 del conjunto de proteína de la cápside de VAA2 expuesto en SEQ ID NO:1, o la correspondiente posición en la proteína de la cápside de otro serotipo de VAA.
9. El virión de VAAr de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde la célula retiniana es un fotorreceptor, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal o una célula del epitelio pigmentario de la retina.
10. El virión de VAAr de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde el producto génico es un ARN interferente, un aptámero o un polipéptido.
11. El virión de VAAr de la reivindicación 10, en el que el polipéptido se selecciona del grupo que consiste en: factor neurotrófico derivado de la glía, factor 2 de crecimiento de fibroblastos, neurtrina, factor neurotrófico ciliar, factor de crecimiento del nervio, factor neurotrófico derivado del cerebro, factor de crecimiento epidérmico, rodopsina, inhibidor ligado a X de apoptosis, retinosquiasina, EPR65, proteína 1 que interactúa con GTPasa de retinitis pigmentosa, periferina, periferina 2, una rodopsina y Sonic hedgehog.

12. Una composición farmacéutica que comprende:

- a) un virión de virus adenoasociado recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11; y
- b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 5
13. Un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside de virus adenoasociado (VAA) variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante es como se define en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11.
- 10
14. Una célula hospedadora genéticamente modificada aislada que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 13.

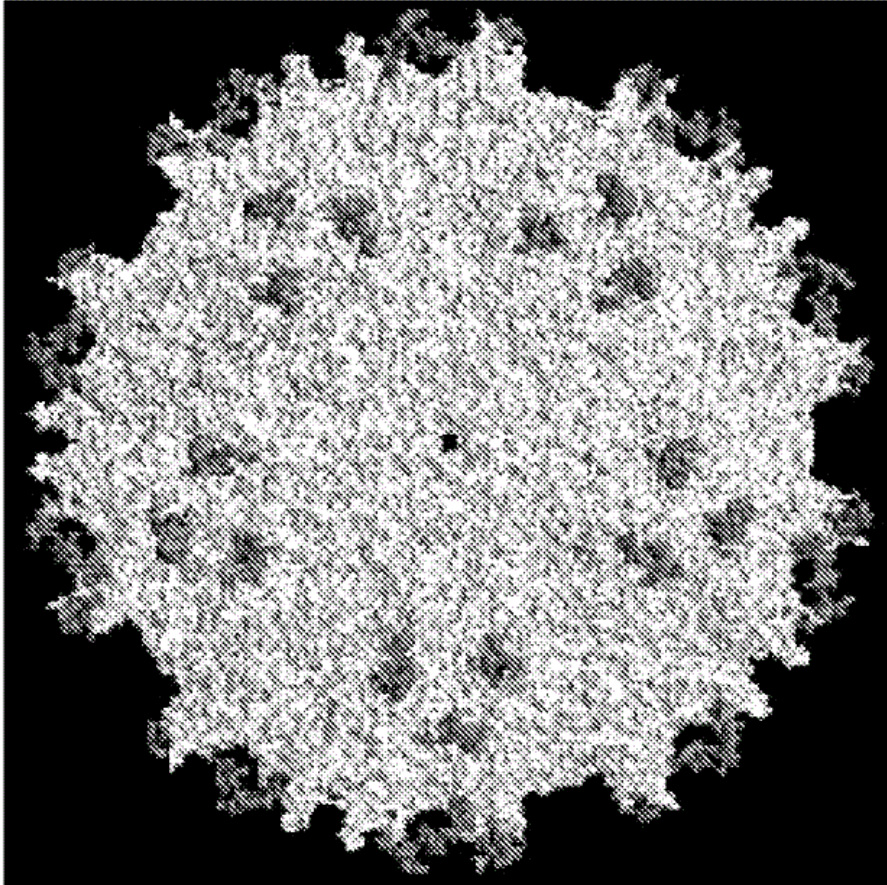
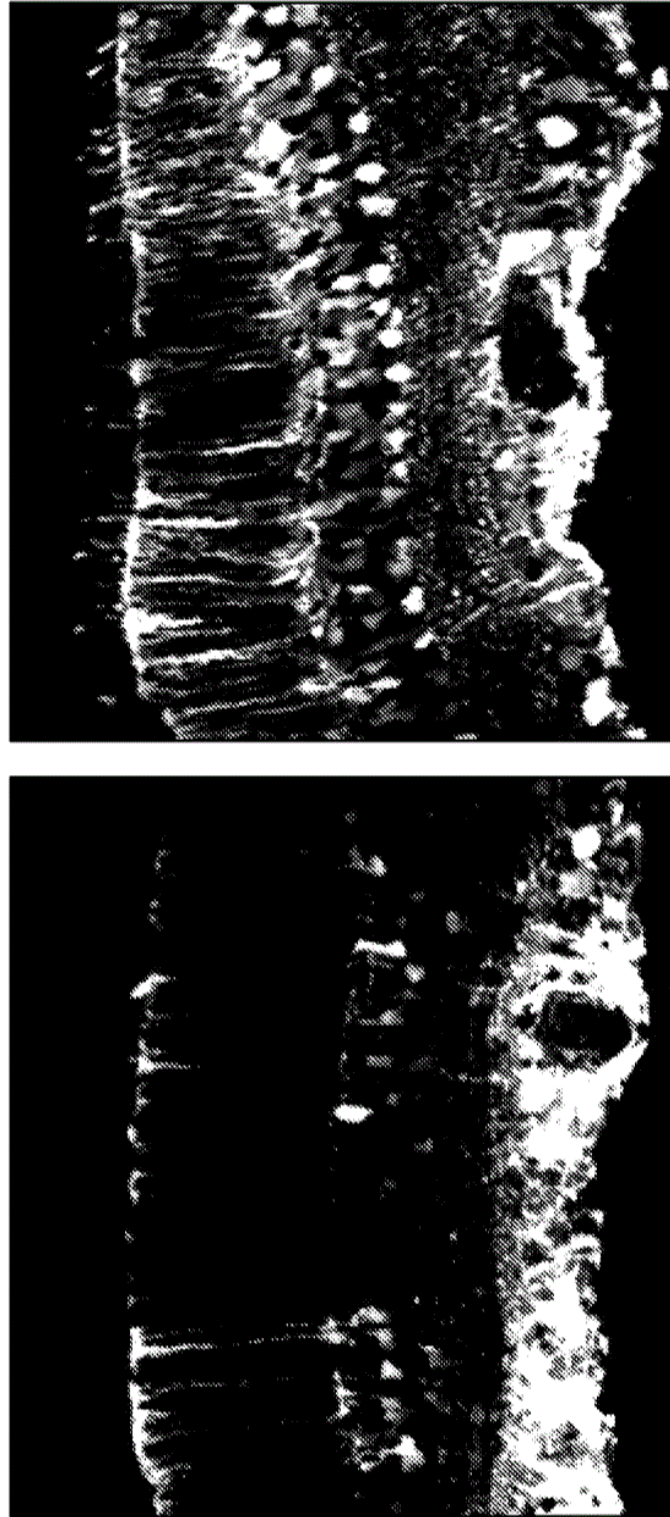


FIG. 1



VAA2.CAG.GFP
(serotipo parental)

7m8.CAG.GFP
(variante aumentada para transducción
de FR por evolución dirigida)

FIG. 2

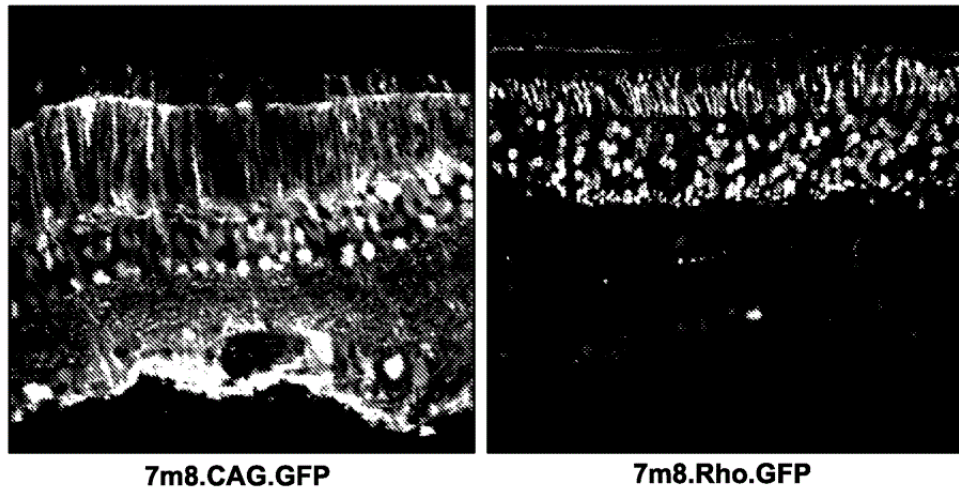


FIG. 3

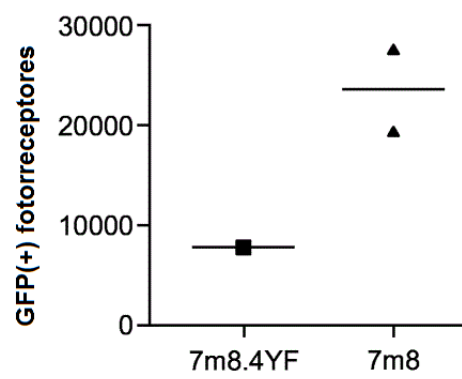


FIG. 4

VAA2 VP1 1 MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWKKLKP GPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPENGLD
VAA2 VP1 61 KGEFVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLYKNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ
VAA2 VP1 121 AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQPARKRLNFGQTGDAD
VAA2 VP1 181 SVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMDRVI
VAA2 VP1 241 TTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDNRFHCHFSPRDWQRLI
VAA2 VP1 301 NNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQG
VAA2 VP1 361 CLPPFPADVFMVVPQYGYLTINNGSQAVGRSSFYCYEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPF
VAA2 VP1 421 HSSYAHSQSLDRMLNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRQLQFSQAGASDIRDQSRNWLPG
VAA2 VP1 481 PCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNPGPAMASHKDDDEEKKFFPQSGVL
VAA2 VP1 541 IFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIIRTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV
VAA2 VP1 601 LPGMVWQDRDVYLGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPPQILIKNTPVPANPSTT
VAA2 VP1 661 FSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNKNKSVNVDFTVDTNGVY
VAA2 VP1 721 SEPRPIGTRYLTR (SEQ ID NO:1)

FIG. 5

VAA-2 570 PVATEQYGSVSTNLQRNRQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDV 611 (SEQ ID NO:2)

VAA-1 571 PVATERFGTVAVNFQSSSTDPATGVDVHAMGALPGMVWQDRDV 612 (SEQ ID NO:3)

VAA-5 560 RVAYNVGGQMATNNQSSTTAPATGTYNLQEIVPGSVWMERDV 601 (SEQ ID NO:4)

VAA-6 571 PVATERFGTVAVNLQSSSTDPATGVDVHVMGALPGMVWQDRDV 612 (SEQ ID NO:5)

VAA-7 572 PVATEEYGIVSSNLQAANTAAQTQVVNNQGALPGMVWQNRDV 613 (SEQ ID NO:6)

VAA-8 573 PVATEEYGIVADNLQQQNTAPQIGTVNSQGALPGMVWQNRDV 614 (SEQ ID NO:7)

VAA-9 571 PVATESYGQVATNHQSAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDV 612 (SEQ ID NO:8)

VAA-10 573 PVATEQYGVVADNLQQANTGPIVGNVNSQGALPGMVWQNRDV 614 (SEQ ID NO:9)

FIG. 6

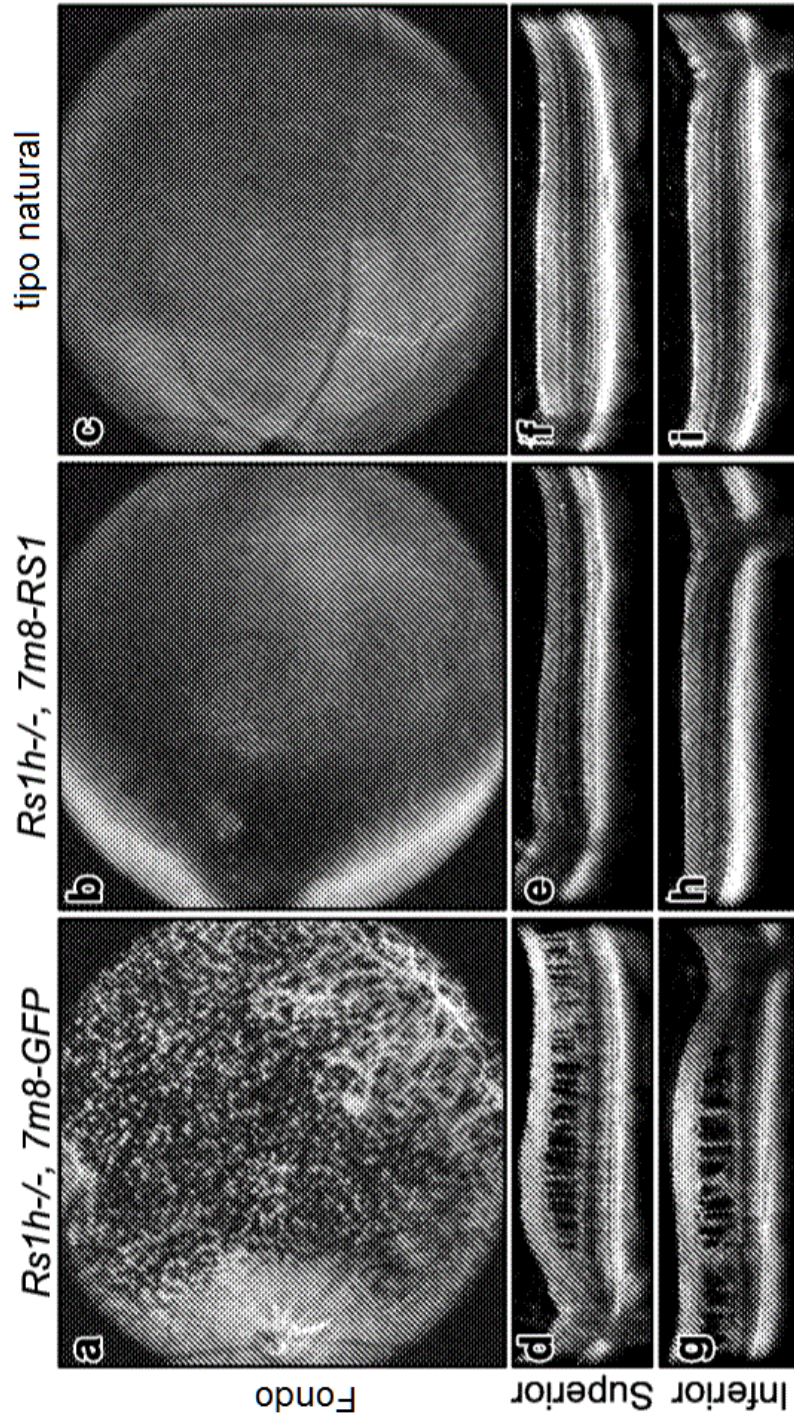


FIG. 7

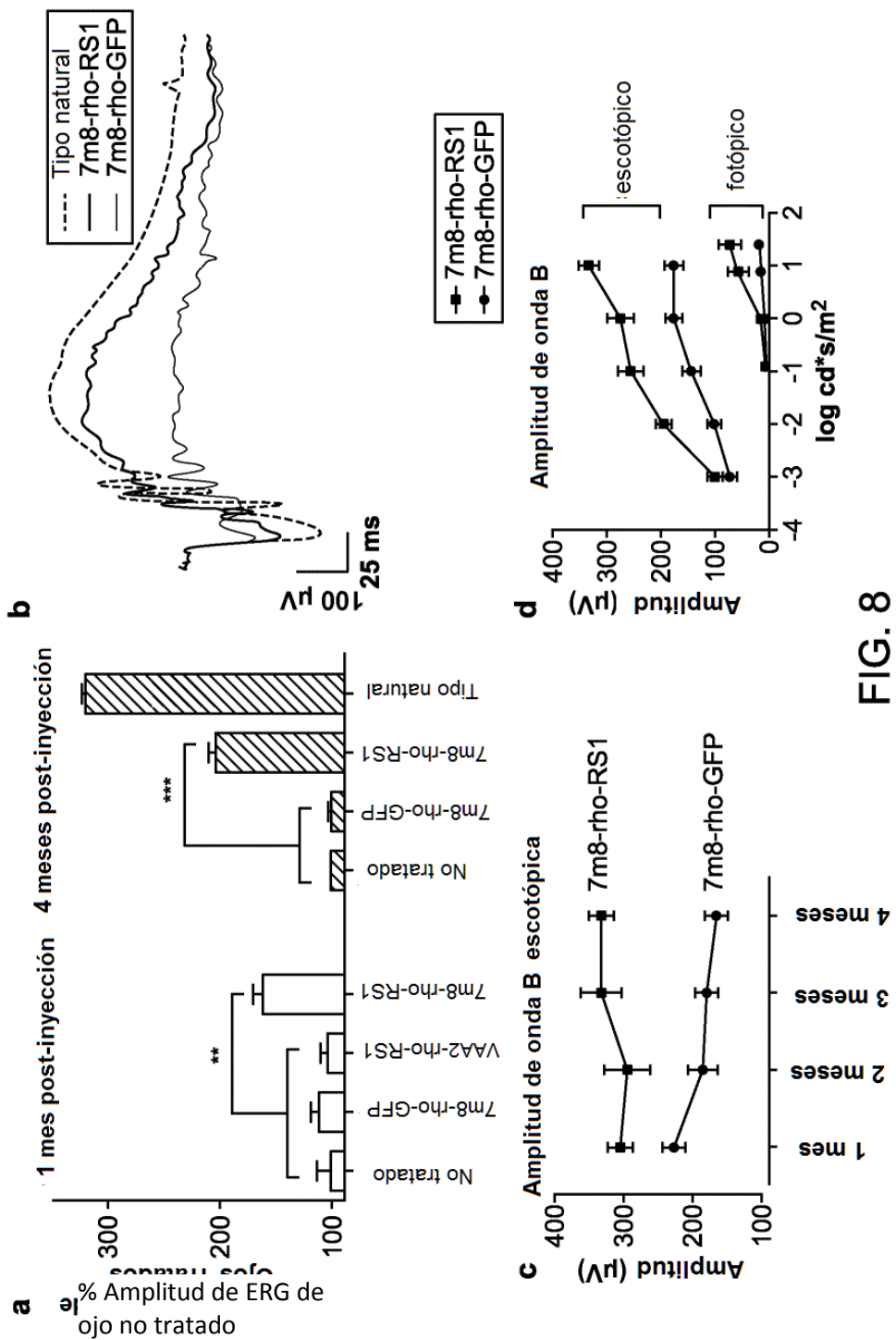


FIG. 8

Tiempo post-inyección

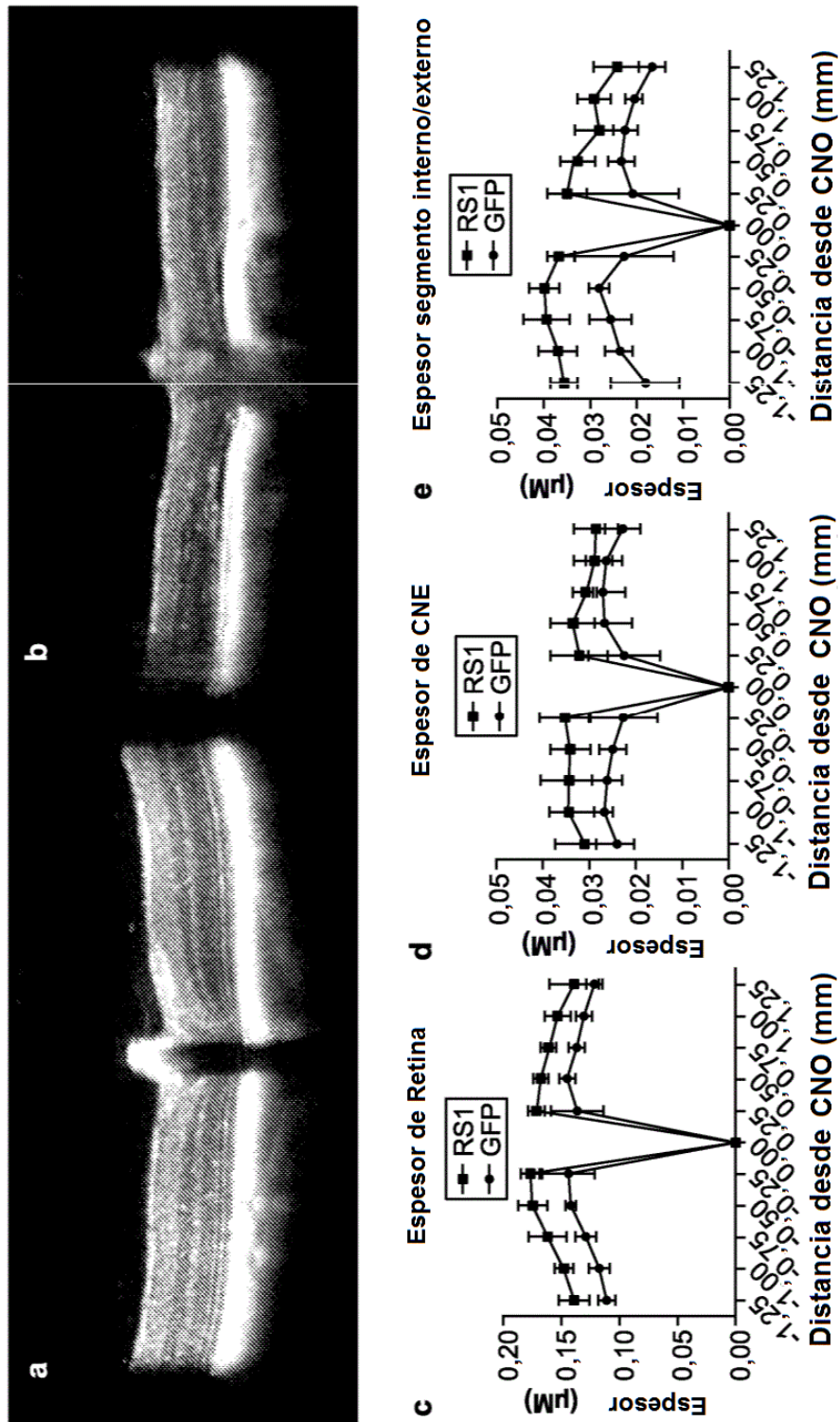


FIG. 9

Retinosquisina-1
Homo sapiens
GenBank CAl42483

1 msrkiegfl1 lllfgyeat1 glsstedege dpwyqkackc dcqggpnalw sagatsldci
61 pecpyhkp1g fesgevtpdq itcsnpeqyv gwysswtank arlnsqgfgc awlskfqdss
121 qwlqidlkei kvisgiltqg rcdidewmtk ysvqyrtder lnwiyykdqt gnnrvfygns
181 drtstvtqnll rppiisrfir liplgwhvri airmellecv skca (SEQ ID NO:10)

FIG. 10

Factor neurotrófico derivado de cerebro
Homo sapiens
GenBank CAA62632

1 mtilfltmvi syfgcmkaap mkeanirgqg glaypgvrth gtlesvngpk agsrgltsla
61 dtfehvieel ldedhkvrpn eenkdadly tsrvmlssqv pleppl1fl1 eeyknyldaa
121 nmstmvlr1s dparrgelsv cdsisewta adkktavdms ggtvtvlekv pvskgqlkqy
181 fyetkcnpmg ytkegcrgid krhwnsqcrt tqsyvraltm dskkrigwrf iridtsvcvt
241 ltikrgr (SEQ ID NO:11)

FIG. 11

EPR65
Homo sapiens
 GenBank AAC39660

```

1  msiqvehpag gykklfetve elsspltahv tgriplwltg sllrcgpglf evgsepfyh1
61 fdggallhkf dfkeghvtyh rrfirtdayv ramtekriwi tefgtcafpd pcknifsrff
121 syfrgvevtd nalvnvypvg edyyactetn fitkinpetl etikqvdln yvsvngatah
181 phiendgtvy nigncfgknf siaynivkip plqadkedpi skseivvqfp csdrfkpsyv
241 hsfgltpnyi vfvetpvkin lfkflsswsl wganymdcfe snetmgvwlh iadkkrkkyl
301 nnkyrtspfn lfhhintyed ngflivdlcc wkgfefvyny lylanlrenw eevkknarka
361 pqpevrryv1 plnidkadtg knlvtlpntt atailcsdet iwlepevlfs gprqafefpq
421 inyqkycgkp ytyayglgln hfvpdrclckl nvtkketwvw qepdsypsep ifvshpdale
481 eddgvvlsvv vspgagqkpa yllilnakdl sevaraeevei nipvtfhglf kks (SEQ ID NO:12)
    
```

FIG. 12


```

1  agcttggatc caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta
61  actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta
121 ttgcttcccg tatggctttc atttctctct ccttgataaa atcctggttg ctgtctcttt
181 atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac cctgtcagct cctttccggg actttcgctt
241 caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt
301 tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgcgcctg ccttgccccg tgctggacag
361 gggctcggct gttgggcact gacaattccg tgggtgtgtc ggggaagctg acgtcctttc
421 catggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc
481 cttcggccct caatccagcg gaccttctt cccgcggcct gctgcggcct ctgcggccctc
541 ttccggtctt tcgagatctg cctcgactgt gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg
601 cccctcccc gtgccttctt tgacctgga aggtgccact cccactgtcc tttoctaata
661 aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt
721 ggggcaggac agcaaggggg aggaattgga agacaatagc aggcattgctg gggactcgag
781 ttaagggcga attcccgatt aggatcttcc tagagcatgg ctacgtagat aagtagcatg
841 gcgggttaat cattaactac aaggaacccc tagtgatgga gttggccact ccctctctgc
901 gcgctcgctc gctcactgag gccgggcgac caaaggctgc ccgacgcccg ggctttgccc
961 gggcggcctc agtgagcgag cgagcgcga gccttaatta acctaatca ctggccgtcg
1021 ttttacaacg tcgtgactgg gaaaacccctg gcgttaccga acttaatcgc cttgacgac
1081 atcccccttt cgcagactgg cgtaatagcg aagaggcccg caccgacgc ccttcccaac
1141 agttgcgcag cctgaatggc gaatgggacg cgcctgttag cggcgcatca agcgcggcgg
1201 gtgtgtgtgt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccttagcg cccgtcctt
1261 tcgcttcttt cccttcttt ctgcaccagt tcgcgggctt tccccgtcaa gctctaaatc
1321 gggggctccc tttagggttc cgatttagtg ctltacggca cctcgacccc aaaaaacttg
1381 attagggtga tggttcacgt agtgggccc atgtggcgata gacgggtttt cgccctttga
1441 cgctggagtt cacgttccctc aatagtgagc tcttgttcca aactggaaca acactcaacc
1501 ctatctcggt ctattctttt gatttataag ggatttttcc gatttcggcc tattggttaa
1561 aaaatgagct gatttaacaa aaattttaacg cgaattttta caaaatatta acgtttataa
1621 tttcagggtg catcttttcgg ggaatgtgc gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa
1681 tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataacccctg ataaatgctt caataatatt
1741 gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc ttttttcggg
1801 cattttgcct tcctgttttt gctcaccacg aaacgctggt gaaagtataa gatgctgaag

```

FIG. 13A

```

1861 atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg aactggatct caatagtggc aagatccttg
1921 agagttttcg cccggaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaaagt ctgctatgtg
1981 gcgcggtatt atcccggtatt gacgcggggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt
2041 ctcaagaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga
2101 cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactcg gccaacttac
2161 ttctgacaa gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt ttgacaaac atgggggac
2221 atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc
2281 gtgacaccac gatgcctgta gtaatggtaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac
2341 tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagtgcag
2401 gaccacttct gcgctcggcc ctccggctg gctggttat tctgataaa tctggagcgg
2461 gtgagcgtgg gtctcgcggc atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccga
2521 tcgtagtatt ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg
2581 ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaaactgc agaccaagt tactcatata
2641 tactttagat tgatttaaaa ctccattttt aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt
2701 ttgataatct catgacccaa atcccttaac gtgagtttct gtccactga gcgtcagacc
2761 ccgtagaaaa gatcaaaagg tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct
2821 tgcaaaacaaa aaaccacccg ctaccagcgg tggtttggtt gccggatcaa gagctaccaa
2881 ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca ggcgcagat accaaatact gtccttctag
2941 ttagaccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc
3001 tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg
3061 actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcgtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca
3121 cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat
3181 gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag gtatccggt agcggcaggg
3241 tcggaacagg agagcgacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggat ctttatagtc
3301 ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc
3361 ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc ttttgctgcg
3421 gttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg
3481 cctttgagt agctgatacc gctcgcgcga gccgaacgac cgagcgcagc gagtcaagtga
3541 gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct cccgcgcgt tggccgattc
3601 attaatgcag ctggcacgac aggtttccc actggaaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa
3661 ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac ccaggccttt acactttatg ctccgggctc

```

FIG. 13B

3721 gtatgttgtg tggaaattgtg agcggataac aatttcacac aggaacacagc tatgaccatg
 3781 attacgccag atttaattaa ggctgcgcgc tcgtcgtctc actgaggccg ccggggcaaa
 3841 gccggggcgt cgggcgacct ttggtgcgcc ggctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga
 3901 gggagtggcc aactccatca ctaggggttc cttgtagtta atgattaacc cgccatgcta
 3961 cttatctacg tagccatgct ctaggaaagt cggaattcgc cottaagcta g**agatcttc**
 4021 **ccacacctagc cacctggcaa actgctcctt ctctcaagg ccacaacatg gcctcccaga**
 4081 **ctgcaacccc caggcagtca ggccttgtct ccacaacctc acagccaccc tggacgggaat**
 4141 **ctgcttcttc ccacatttga gtctctctca gccctcagc tcctctgggc agggctgttt**
 4201 **ctttccatct ttgtattccc aggggcctgc aaataaatgt ttaatgaacg aacaagagag**
 4261 **tgaattccaa ttocatgcaa caaggattgg gctcctgggc cctaggctat gtgtctggca**
 4321 **ccagaacagg aagctgcagg ttgcagcccc tgccctcatg gagctcctcc tgtcagagga**
 4381 **gtgtggggac tggatgactc cagaggtaac ttgtggggga acgaacaggt aaggggctgt**
 4441 **gtgacgagat gagagactgg gagaataaac cagaaagtct ctagctgtcc agaggacata**
 4501 **gcacagaggc ccattggtccc tatttcaaac ccaggccacc agactgagct gggaccttgg**
 4561 **gacagacaag tcatgcagaa gttaggggac cttctcctcc ctttctctgg atggatcctg**
 4621 **agtaccttct cctccctgac ctcaggcttc ctcctagtgt caccttggcc cctcttagaa**
 4681 **gccaatagg ccctcagttt ctgcagcggg gattaatatg attatgaaca ccccaatct**
 4741 **ccagatgct gattcagcca ggagctagg agggggaggt cactttataa gggctctggg**
 4801 **gggtcagaac ccagagtcac cccctgaatt ctgcagatat ccatcacact ggcgcccg**
 4861 **ccaccatg**tc acgcaagata gaaggctttt tgttattact tctctttggc tatgaagcca
 4921 cattgggatt atcgtctacc gaggatgaag gcgaggaccc ctggtaccaa aaagcatgca
 4981 agtgcgattg ccaaggagga ccaatgctc tgtgtctgc agtgccacc tccttgact
 5041 gtataccaga atgcccatac cacaagcctc tgggtttcga gtcaggggag gtcacaccgg
 5101 accagatcac ctgctctaac ccggagcagt atgtgggctg gtattcttcg tggactgcaa
 5161 acaaggcccg gctcaacagt caaggctttg ggtgtgcctg gctctccaa gttccaggaca
 5221 gtagccagt gttacagata gatctgaagg agatcaaaagt gatttcagg gttccacccc
 5281 aggggcgctg tgacatcgat gagtggatga ccaagtacag cgtgcagtag aggaccgatg
 5341 agcgcctgaa ctggatttac tacaaggacc agactggaaa caaccgggtc ttctatggca
 5401 actcggaccg cacctccacg gttcagaacc tgctgcggcc ccccatcatc tcccgttca
 5461 tccgcctcat ccgctgggc tggcacgtcc gcattgccat ccgcatggag ctgctggagt
 5521 gcgtcagcaa gtgtgcct**ga** a (SEQ ID NO:18)

FIG. 13C

Periferina-2

1 mallkvkfdq kkrvklaqgl wlmnwfsvla giifslglf lkielrkrsd vmnnseshfv
61 pnsligmgvl scvfnslagk icydaldpak yarwkpwlkp ylaicvlfni ilflvalccf
121 llrgslentl ggglkngmky yrdtdtpgrc fmkktdmlq iefkccgng frdwfeiqwi
181 snryldfssk evkdriksnv dgrylvdgvp fscnpsspr pciqyqitnn sahysydhqt
241 eelnlwvrgc raallsyyss lmsmgvvtl liwlfevtit iglrylqtsl dgvsnpese
301 sesqgwllr svpetwkaf1 esvkkkgkn qveaegadag qapeag (SEQ ID NO:19)

FIG. 14

Periferina

1 mshhpsglra gfsstsyrrt fgpppslspg afsyssssrfs sssrllgsas psssvrlgsf
61 rspragagal lrlpserldf smaalnqef latrsnekqe lqelndrfan fiekvrfleq
121 qnaalrgels qarggepara dqlcqqelre lrrelellgr erdrvqverd glaedlaalk
181 qrleeetrkr edaehnlvlf rkdvddatls rlelerkies lmdeieflkk lheeelrdlq
241 vsvesqqvqq veveatvkpe ltaalrdira qyesiaaknl qeaeewyksk yadlsdaanr
301 nhealrqakq emnesrrqiq sltcevdglr gtneallrql releeqfale aggyqagaar
361 leeelrqlke emarhlreyq ellnvkmald ieiatyrrkl egeesrisvp vhsfaslnik
421 ttvpeveppq dshsrktvli ktietrngev vtesqkeqrs eldkssahsy (SEQ ID NO:20)

FIG. 15

Proteína 1 que interactúa con RPGR

```

1  mshlvdptsg dlpvrldidai plvlpaskgk nmktqpplsr mnreeledsf frlredhmlv
61  kelswkqgde ikrlrttllr ltaagrldrv aeeaaaplset arrgqkagwr qrlsmhgrpq
121  mhrllqghfhc vgpasprraq prvgvghrql htagapvpek pkrqprdrls ytappsfkeh
181  atnenrgeva skpselvsqs nsiisfssvi smakpiglcm pnsahimasn tmqveeppks
241  pekmpkden feqrssleca qkaaelrasi kekvelirlk kllhernasl vmtkaqltev
301  qeayetllqk nggilsaah eallkqvnelr aelkeeskka vslksqledv silqmtlkef
361  qervedleke rklldndnydk llesmldssd sssqphwsne liaeqllqqv sqlqdqldae
421  ledkrkvllle lsrekaqned lklevtnilq khkqevellq naatisqppd rqsepathpa
481  vlqentqiep sepknqeekk lsqvlnelqv shaettelle ktrdmlilqr kinvcyqeel
541  eamtkadnd nrdhkekler ltrlldlkn rikqlegilr shdlptseql kdwaygtrpl
601  slcletlpah gdedkvdisl lhqgenlfel hihqafitsa alaqagdtqp ttftctysfyd
661  fethctplsv gpqplydfts qyvmetdslf lhylqeasar ldihqamase hstlaagwic
721  fdrvletvek vhglatliga ggeefgvley wmlrfrpikp slqacnkrkk aqvylstdvl
781  ggrkaqeef rseswepqne lwieitkccg lrsrwltgtp spyavyrfft fsdhdtaaiip
841  asnnpyfrdq arfpvlvtss ldhylrreal sihvddedl epgsylgrar vpllplakne
901  sikgdfnltd paekpngsiq vqldwkfpyi ppesflkpea qtkgkdtkds skisseeka
961  sfpsqdqmas pevpieaggy rskrpkphgg erkekehqv sysrrkhgkr igvqgknrme
1021 ylslnilngn tpeqvnyte w kfsetnsfig dgfknqheee emtlshsalk qkeplhpvnd
1081 kessegqsev seaqtdsdd vivppmsqky pkadseknci eivslafype aevmsdenik
1141 qvyveykfyd lplsettpv slrkpragee ihfhfskvid ldpqeqqgrr rflfdmlngq
1201 dpdqghlkft vvsdpddeek keceevgay lqlwqilesq rdileqeldi vspedlatpi
1261 grlksvlqaa avlhaiykem tedlfs (SEQ ID NO:21)

```

FIG. 16

VAA 1	--TFSYTFEEVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNRQT-QNS <u>G</u> SAQNKDLLFSRGS	467
VAA 6	--TFSYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNRQT-QNS <u>G</u> SAQNKDLLFSRGS	467
VAA 3	---FSYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNRQTGTT <u>G</u> TTNQSRLLFSQAG	467
VAA 2	---FSYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRTN-TPS <u>G</u> TTTQSRLLFSQAG	466
VAA 8	NFQTYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRTQT-G <u>G</u> TANTQTLGFSQGG	469
VAA 8.1	NFQTYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRTQT-G <u>G</u> TANTQTLGFSQGG	469
VAA 8 rh8	FQFSYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLVTRQTGTGGTQTLAFSQAGPS	469
VAA 10	NFEFSYTFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRTQT-G <u>G</u> TQGTQQLLFSQAG	469
VAA 7	-FEFSYSFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLARTQSNPG <u>G</u> TAGNRELQFYQGG	469
VAA 9	-FQFSYEFENVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSKTI--NG <u>S</u> GQNOQTLKFSVAG	467
VAA 9.1	-FQFSYEFENVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSKTI--NG <u>S</u> GQNOQTLKFSVAG	467
VAA 5	NFEFTYNFEEVFFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLYRFVSTN-----NTGGVQFNKNL	453
	*:	
VAA 1	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASH	527
VAA 6	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASH	527
VAA 3	PQMSLQARNWLPGPCYRQQRVSKTKTANDNNNSNFPWTAASKYHLNGRDSLVPNGPAMASH	527
VAA 2	ASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNGPAMASH	526
VAA 8	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGGQNNNSNFAWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATH	529
VAA 8.1	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGGQNNNSNFAWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATH	529
VAA 8 rh8	S--MANQARNWVPGPCYRQQRVSTTTQNNNSNFAWTGAAGFKLNGRDSLVPNGVAMASH	527
VAA 10	PANMSAQAKNWLPGPCYRQQRVSTTTSQNNNSNFAWTGATKYHLNGRDSLVPNGVAMATH	529
VAA 7	PSTMAEQAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQNNNSNFAWTGATKYHLNGRNSLVPNGVAMATH	529
VAA 9	PSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSTTQNNNSEFAWPAGSSWALNGRNSLVPNGPAMASH	527
VAA 9.1	PSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSTTQNNNSEFAWPAGSSWALNGRNSLVPNGPAMASH	527
VAA 5	AGRYANTYKNWFGPMGRGTQGNLGSVGNRASVSFAFTNRMELGASVQVPPQPNGMTN	513
	. :*:*:*:*:* * * * . * . * . * . * . * . * . * . * . * . * . * . * . * . :	

FIG. 17A

FIG. 17B

VAA1	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:22)
VAA6	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:23)
VAA3	PQIMIK-	650	(SEQ	ID	NO:24)
VAA2	PQILIKN	650	(SEQ	ID	NO:25)
VAA8	PQILIKN	653	(SEQ	ID	NO:26)
VAA8.1	PQILIKN	653	(SEQ	ID	NO:27)
VAA8 rh8	PQILIKN	651	(SEQ	ID	NO:28)
VAA10	PQILIKN	653	(SEQ	ID	NO:29)
VAA7	PQILIKN	652	(SEQ	ID	NO:30)
VAA9	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:31)
VAA9.1	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:32)
VAA5	PMMLIKN	640	(SEQ	ID	NO:33)
	* :	***			

FIG. 17C

FIG. 18A

VAA 1	KDEDKFFPMSGVMIFGK--ESAGASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNF	584
VAA 6	KDDKDKFFPMSGVMIFGK--ESAGASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNL	584
VAA 3	KDDEEKFFPMHGNIIFGK--EGTASNAELD-NVMITDEEEIRITNPVATEQYGTVANNL	584
VAA 2	KDDEEKFFPQSGVLIIFGK--QGSEKTNVDIE-KVMITDEEEIKITNPVATEQYGSVSTNL	583
VAA 8	KDDEERFFPSSNGILIFGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKITNPVATEEYGIVADNL	586
VAA 8.1	KDDEERFFPSSNGILIFGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKITNPVATEEYGIVADNL	586
VAA 8 rh8	KDDDDRRFFPSSGVLIFGK--QGAGNDGVDYS-QVLTDEEEIKATNPVATEEYGAVAINN	584
VAA 10	KDDEERFFPSSGVLIFGK--QGAGRDNVDYS-SVMLTSEEEIKITNPVATEQYGVVADNL	586
VAA 7	KDDEDRFFPSSGVLIFGK--TGAT-NKTLE-NVLMTNEEEIRPTNPVATEEYGIVSSNL	585
VAA 9	KEGEDRFFPLSGSLIFGK--QGTGRDNVDAD-KVMITNEEEIKITNPVATESYGVATNH	584
VAA 9.1	KEGEDRFFPLSGSLIFGK--QGTGRDNVDAD-KVMITNEEEIKITNPVATESYGVATNH	584
VAA 5	NLQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNN	573
VAA 1	QSSST <u>DLALGETTRPAP</u> ATGDVHAMGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPP	
VAA 6	QSSST <u>DLALGETTRPAP</u> ATGDVHMVGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 3	QSSNTAPTGTGNHQALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP	644
VAA 2	QSGNLALGETTRPARQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 8	QQNLALGETTRPATAQIGTVNSQALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 8.1	QQRGLGETTRPAQAQIGTVNSQALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 8 rh8	QAAANLALGETTRPATQAQTGLVHNQGVIPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 10	QQAALGETTRPAA NTGPIVGNVNSQALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 7	QAAANLALGETTRPATAAQTQVNNQOGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 9	QSAQAALGETTRPAQAQTGWVQNQOGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 9.1	QSGQAALGETTRPAQAATGWVQNQOGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 5	QSLALGETTRPAS TTAPATGTYNLQEI VPGSVWMERDVYLQGPWAKIPETGAHFHPSPAMGGFGLKHPP	

FIG. 18B

VAA1	PQILIK-	(SEQ	ID	NO:34)
VAA6	PQILIK-	(SEQ	ID	NO:35)
VAA3	PQIMIK-	(SEQ	ID	NO:24)
VAA2	PQILIKN	(SEQ	ID	NO:36)
VAA8	PQILIKN	(SEQ	ID	NO:37)
VAA8.1	PQILIKN	(SEQ	ID	NO:38)
VAA8 rh8	PQILIKN	(SEQ	ID	NO:39)
VAA10	PQILIKN	(SEQ	ID	NO:40)
VAA7	PQILIKN	(SEQ	ID	NO:41)
VAA9	PQILIK-	(SEQ	ID	NO:42)
VAA9.1	PQILIK-	(SEQ	ID	NO:43)
VAA5	PMMLIKN	(SEQ	ID	NO:44)

FIG. 18C



FIG. 19