(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 740 827**

(51) Int. CI.:

C07K 14/15 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/005 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2004 E 16197090 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 3168227**

(54) Título: **GLUT-1 como receptor de envolturas del HTLV y sus usos**

(30) Prioridad:

02.05.2003 EP 03291067

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.02.2020

(73) Titular/es:

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (50.0%)
3 rue Michel-Ange
75016 Paris, FR y
UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER (50.0%)

(72) Inventor/es:

BATTINI, JEAN-LUC;
MANEL, NICOLAS;
KIM, FELIX;
KINET, SANDRINA;
TAYLOR, NAOMI y
SITBON, MARC

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

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

GLUT-1 como receptor de envolturas del HTLV y sus usos

La memoria descriptiva se refiere al uso del transportador universal de glucosa en vertebrados GLUT1 representado por la SEQ ID NO: 2, o de fragmentos o secuencias derivadas del mismo, para el diagnóstico *in vitro* de cánceres, cuando se usa como marcador tumoral, o para selección de compuestos útiles para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV, o patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares, o la detección *in vitro* de GLUT1 en superficies celulares. La memoria descriptiva también se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen GLUT1, o fragmentos o secuencias derivadas del mismo, y sus usos, como en el marco de la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV.

El virus de la leucemia de células T humanas (HTLV) está asociado con la leucemia y los síndromes neurológicos. El papel de las envolturas virales en la fisiopatología del HTLV no está claro y el receptor de la envoltura, que se encuentra en todas las líneas celulares de vertebrados, permanece sin identificar.

Las glicoproteínas de la envoltura del HTLV inducen la formación de sincitio *in vitro* pero sus efectos fisiopatológicos no están claros. Todas las líneas celulares de vertebrados expresan receptores funcionales de la envoltura del HTLV, incluidas las células resistentes a la formación de sincitio mediada por la envoltura del HTLV. Se encontró que la expresión del dominio de unión al receptor del HTLV disminuyó la producción de lactato debido a un menor consumo de glucosa, mientras que los mutantes de la envoltura de unión defectuosa no alteraron el metabolismo de la glucosa. La falta de glucosa aumentó la expresión del receptor del HTLV, que recuerda las respuestas de detección de nutrientes. En consecuencia, la sobreexpresión de GLUT1, el transportador universal de glucosa en vertebrados, incrementó específicamente la unión de la envoltura del HTLV y GLUT1 colocalizado con envolturas del HTLV. Además, la unión de la envoltura del HTLV fue más alta en los eritrocitos humanos, donde GLUT1 se expresa abundantemente y es la única isoforma del transportador de glucosa. Estos resultados demuestran que GLUT1 es un receptor de la envoltura del HTLV, y que esta interacción ligando/receptor probablemente participa en los trastornos inmunológicos y neurológicos asociados con la infección por HTLV. Klepper y Voit (Eur. J. Pedriatr. 2002, vol. 161, 295-304) divulgan el diagnóstico del síndrome de deficiencia de GLUT1 mediante inmunodetección o análisis molecular.

Por lo tanto, la memoria descriptiva se relaciona con el uso del transportador universal de glucosa en vertebrados GLUT1 representado por la SEQ ID NO: 2 o de fragmentos o secuencias derivadas del mismo, dichos fragmentos o secuencias derivadas pueden unirse a las proteínas de la envoltura de los virus de la leucemia de células T de primates (PTLV) o de células que expresan GLUT1, para:

- la selección de compuestos útiles para:

* la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con PTLV,

* la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en las superficies celulares,

* la detección *in vitro* de GLUT1 en las superficies celulares,

dichos compuestos se seleccionan por su capacidad para unirse específicamente a dicho GLUT1,

- la detección, concentración y/o purificación de PTLV o variantes del mismo, o de proteínas de la envoltura de PTLV, o fragmentos de las mismas,

- la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías vinculadas a una infección de un individuo o un animal con un PTLV, como HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, STLV-3, o sus variantes, o vinculadas a la presencia de secuencias relacionadas con SU del PTLV en tales individuos o animales,

- el diagnóstico *in vitro* de cánceres, cuando se utiliza como marcador tumoral.

Con fines ilustrativos, los compuestos seleccionados mencionados anteriormente pueden seleccionarse por su capacidad para unirse específicamente a dicho GLUT1, o fragmentos de GLUT1, de acuerdo con el siguiente método que utiliza un componente de unión a GLUT1 etiquetado con EGFP derivado del RBD (dominio de unión al receptor) del PTLV como un ejemplo de dicho compuesto capaz de unirse a GLUT1.

Un componente de unión a Glut1 etiquetado con EGFP derivado del RBD del PTLV se aplica a una suspensión viva o fija o a células unidas. Después de los lavados con el tampón apropiado, las células se incuban durante 30 minutos a

temperatura ambiente, se lavan y se analizan o cuantifican como unidas en un soporte apropiado en un microscopio de fluorescencia o como una suspensión de células individuales en un clasificador de células de análisis fluorescente (FACS). Alternativamente, un componente de unión a GLUT1 no fluorescente derivado del RBD del PTLV se aplica como se describió anteriormente y se revela con un reactivo marcado con fluorocromo secundario, tal como un anticuerpo secundario marcado con fluorocromo dirigido contra el RBD del PTLV o contra una etiqueta sin fluorocromo unida a dicho componente RBD del PTLV.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso tal como se definió anteriormente, de fragmentos de GLUT1 elegidos entre los siguientes:

- SEQ ID NO: 25: NAPQKVIEEFY,
- SEQ ID NO: 26: NQTWVHRYGESILPTTLTTLWS,
- SEQ ID NO: 27: KSFEMLILGR,
- SEQ ID NO: 28: DSIMGNKDL,
- SEQ ID NO: 29: YSTSIFEKAGVQQP,
- SEQ ID NO: 30: EQLPWMSYLS,
- SEQ ID NO: 31: QYVEQLC,
- SEQ ID NO: 32: IVGMCFQYVEQLC.

Estos fragmentos de GLUT1 corresponden a los bucles extracelulares predichos de GLUT1 humano como se describe por Mueckler, M. y C. Makepeace. 1997. Identification of an amino acid residue that lies between the exofacial vestibule

and exofacial substrate-binding site of the GLUT1 sugar permeation pathway. J Biol Chem. 272 (48): 30141-6.

La memoria descriptiva también se refiere al uso de compuestos seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se definió anteriormente, para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV, tal como patologías correspondientes a la leucemia de células T adultas (ATL), mielopatía asociada a HTLV-I/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), así como a otros síndromes asociados a HTLV, como la leucemia de linfocitos granulares grandes (LGL) (Loughran, TP, KG Hadlock, R. Perzova, TC Gentile, Q. Yang, SK Foung y BJ Poiesz. 1998. Epitope mapping of HTLV envelope seroreactivity in LGL leukemia. Br J Haematol. 101(2): 318-24.), uveitis (Mochizuki, M., A. Ono, E. Ikeda, N. Hikita, T. Watanabe, K. Yamaguchi, K. Sagawa, and K. Ito. 1996. HTLV-I uveitis. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 13 Suppl 1: S50-6.), dermatitis infecciosa (La Grenade, L., RA Schwartz y CK Janniger. 1996. Childhood dermatitis in the tropics: with special emphasis on infective dermatitis, a marker for infection with human T-cell leukemia virus-I. Cutis. 58(2): 115-8), artropatías (Nishioka, K., T. Sumida y T. Hasunuma. 1996. Human T lymphotropic virus type I in arthropathy and autoimmune disorders. Arthritis Rheum. 39(8): 1410-8.), linfoma cutáneo de células T (micosis fungoide) (1. Hall, WW, CR Liu, O. Schneewind, H. Takahashi, MH Kaplan, G. Roupe y A. Vahlne. 1991. Deleted HTLV-I provirus in blood and cutaneous lesions of patients with mycosis fungoides. Science. 253(5017): 317-20. 2. Zucker-Franklin, D., B., A., Pancake, M. Marmor, y P. M. Legler. 1997. Reexamination of human T cell lymphotropic virus (HTLV-I/II) prevalence. Proc Natl Acad Sci USA. 94(12): 6403-7), polimiositis (Saito M, Higuchi I, Saito A, Izumo S, Usuku K, Bangham CR, Osame M. Molecular analysis of T cell clonotypes in muscle-infiltrating lymphocytes from patients with human T lymphotropic virus type 1 polymyositis. J Infect Dis. 2002 Nov 1; 186(9): 1231-41), y posiblemente otras enfermedades idiopáticas en las que pueden estar involucradas secuencias de PTLV o PTLV.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV, de compuestos elegidos entre los siguientes:

- esteroides androgénicos (36: May JM, Danzo BJ. Photolabeling of the human erythrocyte glucose carrier with androgenic steroids. Biochim Biophys Acta. Agosto 18 de 1988; 943 (2): 199-210),
- citocalasina B, forskolina, dipiridamol, isobutilmetilxantina (20: Hellwig B, Joost HG). Differentiation of erythrocyte-(GLUT1), liver-(GLUT2), and adipocyte-type (GLUT4) glucose transporters by binding of the inhibitory ligands cytochalasin B, forskolin, dipyridamole, and isobutylmethylxanthine. Mol Pharmacol. Septiembre de 1991; 40 (3): 383-9),
- etanol (Krauss SW, Diamond I, Gordon AS. Selective inhibition by ethanol of the type 1 facilitative glucose transporter (GLUT1). Mol Pharmacol. Junio de 1994; 45 (6): 1281-6),

- genisteína (Vera JC, Reyes AM, Carcamo JG, Velásquez FV, Rivas CI, Zhang RH, Strobel P, Iribarren R, Scher HI, Slebe JC, et al. Genistein is a natural inhibitor of hexose and dehydroascorbic acid transport through the glucose transporter, GLUT1. J Biol Chem. 12 de abril de 1996; 271 (15): 8719-24),

- cadmio (Lachaal M, Liu H, Kim S, Spangler RA, Jung CY. Cadmium increases GLUT1 substrate binding affinity in vitro while reducing its cytochalasin B binding affinity. Biochemistry. 26 de noviembre de 1996; 35 (47): 14958-62),

- barbitúrico (el-Barbary A, Fenstermacher JD, Haspel HC. Barbiturate inhibition of GLUT-1 mediated hexose transport in human erythrocytes exhibits substrate dependence for equilibrium exchange but not unidirectional sugar flux. Biochemistry. 3 de diciembre de 1996; 35 (48): 15222- 7),

- ácido deshidroascórbico (Rumsey SC, Kwon O, Xu GW, Burant CF, Simpson I, Levine M. Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid. J Biol Chem. 25 de julio de 1997; 272 (30): 18982-9),

- antidepresivos tricíclicos (Pinkofsky HB, Dwyer DS, Bradley RJ. The inhibition of GLUT1 glucose transport and cytochalasin B binding activity by tricyclic antidepressants. Life Sci. 2000; 66 (3): 271-8),

- estradiol, genisteína y antiestrógenos, faslodex (ICI 182780), tamoxifeno (Afzal I, Cunningham P, Naftalin RJ. Interactions of ATP, oestradiol, genistein and the anti-oestrogens, faslodex (ICI 182780) and tamoxifen, with the human erythrocyte glucose transporter, GLUT1. Biochem J. 1 de agosto de 2002; 365 (Pt 3): 707-19),

- agonistas gamma de los receptores activados por el proliferador de peroxisoma (PPAR), como la tiazolidindiona (troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona) (("TZDs modify astrocyte metabolism and mitochondrial function, which could be beneficial in neurological conditions where glucose availability is reduced" de Dello Russo C, Gavrilyuk V, Weinberg G, Almeida A, Bolanos JP, Palmer J, Pelligrino D, Galea E, Feinstein DL. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma thiazolidinedione agonists increase glucose metabolism in astrocytes. J Biol Chem. 21 de febrero de 2003; 278 (8): 5828-36).

La memoria descriptiva también se refiere al uso de compuestos seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se definió anteriormente, para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares, tales como:

- cánceres, tales como:

- carcinoma de células escamosas (Kunkel M, Reichert TE, Benz P, Lehr HA, Jeong JH, Wieand S, Bartenstein P, Wagner W, Whiteside TL. Cancer. 15 de febrero de 2003; 97 (4): 1015-24),

- carcinoma hipofaríngeo (Mineta H, Miura K, Takebayashi S, Misawa K, Araki K, Misawa Y, Ueda Y. Anticancer Res. Nov-Dic. de 2002; 22 (6B): 3489-94),

- cáncer de mama (Brown RS, Wahl RL. Overexpression of Glut-1 glucose transporter in human breast cancer. An immunohistochemical study. Cancer. 15 de noviembre de 1993; 72 (10): 2979-85),

- carcinoma cervical (Mendez LE, Manci N, Cantuaria G, Gomez-Marin O, Penalver M, Braunschweiger P, Nadji M. Expression of glucose transporter-1 in cervical cancer and its precursors. Gynecol Oncol. Agosto de 2002; 86 (2): 138-43),

- carcinoma de ovario (Cantuaria G, Fagotti A, Ferrandina G, Magalhaes A, Nadji M, Angioli R, Penalver M, Mancuso S, Scambia G. GLUT-1 expression in ovarian carcinoma: association with survival and response to chemotherapy. Cancer. 1 de septiembre de 2001; 92 (5): 1144-50),

- cáncer de pulmón (Ito T, Noguchi Y, Satoh S, Hayashi H, Inayama Y, Kitamura H. Expression of facilitative glucose transporter isoforms in lung carcinomas: its relation to histologic type, differentiation grade, and tumor stage. Mod Pathol. Mayo de 1998; 11 (5): 437-43. Younes M, Brown RW, Stephenson M, Gondo M, Cagle PT. Overexpression of Glut1 and Glut3 in stage I nonsmall cell lung carcinoma is associated with poor survival. Cancer. 15 de septiembre de 1997; 80 (6): 1046-51),

- cáncer de páncreas (Reske SN, Grillenberger KG, Glatting G, Port M, Hildebrandt M, Gansauge F, Beger HG. Overexpression of glucose transporter 1 and increased FDG uptake in pancreatic carcinoma. J Nucl Med. Septiembre de 1997; 38 (9): 1344 -8),

- insulinoma (1: Boden G, Murer E, Mozzoli M. Glucose transporter proteins in human insulinoma. Ann Intern Med. 15 de julio de 1994; 121 (2): 109-12,

- afecciones inflamatorias,

- enfermedades inmunes o autoinmunes, tales como:

- miocarditis autoinmune (Tokita N, Hasegawa S, Tsujimura E, Yutani K, Izumi T, Nishimura T. Serial changes in 14C-deoxyglucose and 201T1 uptake in autoimmune myocarditis in rats. J Nucl Med. Febrero de 2001; 42 (2): 285-91),

- en el marco de la activación de células T CD28 (Frauwirth KA, Riley JL, Harris MH, Parry RV, Rathmell JC, Plas DR, Elstrom RL, June CH, Thompson CB. The CD28 signaling pathway regulates glucose metabolism. Immunity. Junio de 2002; 16 (6): 769-77),

- en el marco de la inmunomodulación (Moriguchi S, Kato M, Sakai K, Yamamoto S, Shimizu E. Decreased mitogen response of splenic lymphocytes in obese Zucker rats is associated with the decreased expression of glucose transporter 1 (GLUT-1). Am J Clin Nutr. Junio de 1998; 67 (6): 1124-9),

- trastornos del sistema nervioso central, como el síndrome de deficiencia de la proteína transportadora tipo 1 facilitada por glucosa (GLUT1) (revisión en Klepper J, Voit T, Eur J Pediatr. Junio de 2002; 161 (6): 295-304).

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares, de compuestos elegidos entre los siguientes:

- compuestos polipeptídicos correspondientes a las proteínas de la envoltura del PTLV, o fragmentos o secuencias derivadas de los mismos, dichos fragmentos o secuencias derivadas pueden unirse a GLUT1,

- glucosa o derivados tales como galactosa, 2-fluorodesoxiglucosa, 2-desoxiglucosa, 3-O-metilglucosa,

esteroides androgénicos, citocalasina B, forskolina, dipiridamol, isobutilmetilxantina, etanol, genisteína, cadmio, barbitúrico, ácido deshidroascórbico, antidepresivos tricíclicos, estradiol, antiestrógenos, Faslodex (ICI 182780), tamoxifeno, agonistas gamma de receptores activados por l proliferador de peroxisoma (PPAR) tales como la tiazolidindiona, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, como se mencionó anteriormente.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso de polipéptidos correspondientes a las proteínas de la envoltura del PTLV, o fragmentos o secuencias derivadas de los mismos, seleccionándose dichos polipéptidos por su capacidad para unirse específicamente al transportador universal de glucosa en vertebrados GLUT1 representado por la SEQ ID NO.: 2, para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares y el diagnóstico *in vitro* de dichas patologías. La invención se refiere al diagnóstico *in vitro* del síndrome de deficiencia de GLUT1.

La invención se refiere más particularmente al uso como se definió anteriormente, de polipéptidos capaces de unirse a al menos uno de los fragmentos de GLUT1 mencionados anteriormente correspondientes a la SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 , SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, y SEQ ID NO: 32.

La invención se refiere más particularmente al uso como se definió anteriormente, de polipéptidos capaces de unirse a al menos el fragmento de GLUT1 correspondiente a la SEQ ID NO: 32.

La invención se refiere más particularmente al uso tal como se definió anteriormente, de los polipéptidos de unión a GLUT1 mencionados anteriormente elegidos entre los siguientes:

- la proteína de la envoltura del HTLV-1 expuesta por la SEQ ID NO: 4, o de la HTLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 6, o de la STLV-1 expuesta por la SEQ ID NO: 8, o de la STLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 10, o de la STLV-3 expuesta por la SEQ ID NO: 12,

- fragmentos de las proteínas de la envoltura del PTLV, estando dichos fragmentos de polipéptidos delimitados en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 1 a 90, o en la posición 75 a 90, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 135 a 245, o en la posición 135 a 150, de dichas proteínas de la envoltura del PTLV, expuesta por las SEQ ID NOs: 4, 6, 8, 10, 12,

- fragmentos de las proteínas de la envoltura del PTLV, correspondiendo dichos fragmentos a los siguientes polipéptidos:

* el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 83 a 89, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 139 a 145, de la proteína de la envoltura de la cepa MT-2 del HTLV-1 expuesto por la SEQ ID NO: 4,

* el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 79 a 85, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 135 a 141, de la proteína de la envoltura de la cepa NRA de HTLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 6,

* el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 83 a 89, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 139 a 145, de la proteína de la envoltura del STLV-1 expuesta por la SEQ ID NO: 8,

* el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 79 a 85, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 135 a 141, de la proteína de la envoltura del STLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 10,

* el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 82 a 88, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 138 a 144, de la proteína de la envoltura del STLV-3 expuesta por la SEQ ID NO: 12,

* el polipéptido correspondiente a la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 14,

I K K P N P N G G G Y Y L A S Y S D P C S L K C P Y L G C Q S W T C P

Y T G A V S S P Y K F Q Q D V

* el polipéptido correspondiente a la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 16,

V K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D P C S L K C P Y L G C Q S W T C

P Y T G A V S S P Y W K F Q Q D V

* el polipéptido correspondiente a la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 18,

I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D P C S L K C P Y L G C Q S W T C P

Y T G A V S S P Y W K F Q Q D V

* el polipéptido correspondiente a la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 20,

I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D P C S L K C P Y L G C Q S W T C P

Y T G P V S S P Y W K F Q Q D V

* el polipéptido correspondiente a la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 22,

I K K P N R N G G G Y H S A S Y S D P C S L K C P Y L G C Q S W T C P

Y A G A V S S P Y W K F Q Q D V N F T Q E V

* el polipéptido correspondiente a la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-2, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 24,

I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y

T A P V S T P S W N F H S D V.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso mencionado anteriormente de polipéptidos de unión a GLUT1 como se definió anteriormente, caracterizado porque las patologías tratadas o detectadas son las siguientes:

- tumores sólidos, tales como tumores cerebrales, carcinoma de células escamosas, carcinoma hipofaríngeo, cáncer de mama, carcinoma cervical, carcinoma de ovario, cáncer de páncreas, insulinoma,

- afecciones inflamatorias, tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide,

- enfermedades inmunes o autoinmunes, tales como la miocarditis autoinmune, o en el marco de la activación de las células T CD28, o en el marco de inmunomodulación, o lupus eritematoso sistémico,

- trastornos del sistema nervioso central, tales como el síndrome de deficiencia de la proteína transportadora tipo 1 de facilitada por glucosa (GLUT1).

La invención se refiere más particularmente al uso de compuestos seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se mencionó anteriormente, y más particularmente a polipéptidos de unión a GLUT1 como se definió anteriormente, para la detección *in vitro* de GLUT1 en superficies celulares en el marco de procesos para el diagnóstico *in vitro* del síndrome de deficiencia de GLUT1, comprendiendo dichos procesos los siguientes etapas:

- poner en contacto una muestra biológica (como biopsias o células o tejido que se manifiesta o con un presunto perfil de expresión de GLUT1 aberrante) de un individuo con compuestos, y más particularmente polipéptidos, seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se definió anteriormente, estando opcionalmente dichos compuestos o polipéptidos marcados, o susceptibles de ser reconocidos por una molécula marcada,

- determinar el nivel de dichos compuestos o polipéptidos unidos a las células contenidas en la muestra biológica y la comparación con el nivel de unión de dichos compuestos a células contenidas en la muestra biológica de un individuo sano.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso de compuestos como se definió anteriormente para el diagnóstico *in vitro* de cánceres, caracterizado porque los compuestos usados se eligen entre los compuestos definidos anteriormente seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso tal como se definió anteriormente, de polipéptidos de unión a GLUT1, para la preparación de vectores de fármacos que contienen en su superficie dichos polipéptidos, siendo dichos vectores útiles para dirigirse a células que sobreexpresan GLUT1 para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con la sobreexpresión de GLUT1 en las superficies celulares, dichos vectores contienen moléculas activas contra dichas patologías, o que contienen genes en el marco de la terapia génica de estas patologías.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso tal como se definió anteriormente, de polipéptidos de unión a GLUT1, para la preparación de vectores de farmacológicos que contienen en su superficie polipéptidos de unión a GLUT1, siendo dichos vectores útiles para dirigirse a células tumorales que sobreexpresan GLUT1, o células involucradas en el mecanismo inflamatorio, o células activadas del sistema inmunológico, o células del sistema nervioso central, para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas como se definió anteriormente.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente al uso de polipéptidos de unión a GLUT1, para la preparación de vectores de fármacos como se definió anteriormente, en la que las moléculas activas contra las patologías son moléculas antitumorales, o moléculas contra condiciones inflamatorias, enfermedades inmunes o autoinmunes, o Trastornos del sistema nervioso central.

La memoria descriptiva también se refiere al uso de secuencias de nucleótidos que codifican compuestos de polipéptidos seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se definió anteriormente, tales como secuencias de nucleótidos que codifican los polipéptidos definidos anteriormente, o fragmentos de los mismos, para la preparación, por sustitución de uno o varios nucleótidos de dichas secuencias de nucleótidos, de secuencias de nucleótidos mutantes que codifican polipéptidos mutantes correspondientes incapaces de unirse a GLUT1.

La memoria descriptiva también se refiere al uso de polipéptidos mutantes que no pueden unirse a GLUT1 como se definió anteriormente:

- como control negativo en el marco de la selección de compuestos capaces de unirse específicamente a los polipéptidos correspondientes no mutados y, por lo tanto, susceptibles de ser utilizados en el marco de la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV,

- para la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV.

La invención se refiere más particularmente al uso como se definió anteriormente, de polipéptidos mutantes correspondientes a los polipéptidos definidos anteriormente, en la que:

- D en la posición 106 y/o Y en la posición 114 de la proteína de la envoltura de HTLV-1 correspondiente a la SEQ ID NO: 4,

- D en la posición 102 y/o Y en la posición 110 o de HTLV-2 correspondiente a la SEQ ID NO: 6,

- D en la posición 106 y/o Y en la posición 114 o de STLV-1 correspondiente a la SEQ ID NO: 8,

- D en la posición 102 y/o Y en la posición 110 o de STLV-2 correspondiente a la SEQ ID NO: 10,

- D en la posición 105 y/o Y en la posición 113 o de STLV-3 correspondiente a la SEQ ID NO: 12,

- D en la posición 18 y/o Y en la posición 26 de los polipéptidos correspondientes a las SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22 y 24,

están sustituidos por otro aminoácido, natural o no, tal como polipéptidos mutantes correspondientes a los polipéptidos mencionados anteriormente en los que dichos residuos D y/o A están sustituidos por A.

La memoria descriptiva también se refiere al uso de secuencias de nucleótidos mutantes que codifican polipéptidos mutantes correspondientes incapaces de unirse a GLUT1 como se definió anteriormente, para la preparación de células de mamíferos transgénicas que expresan dichos polipéptidos mutantes, teniendo dichas células un efecto transdominante negativo con respecto a PTLV, evitando así la infección y la diseminación de este último en el organismo.

La memoria descriptiva también se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen GLUT1 representado por la SEQ ID NO: 2, o fragmentos o secuencias derivadas de las mismas, siendo dichos fragmentos o secuencias derivadas capaces de unirse a las proteínas de la envoltura de los virus de leucemia de células T de primates (PTLV), en asociación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente a composiciones farmacéuticas que contienen polipéptidos mutantes correspondientes a los polipéptidos definidos anteriormente, en los que:

- D en la posición 106 y/o Y en la posición 114 de la proteína de la envoltura de HTLV-1 correspondiente a la SEQ ID NO: 4,

- D en la posición 102 y/o Y en la posición 110 o de HTLV-2 correspondiente a la SEQ ID NO: 6,

- D en la posición 105 y/o Y en la posición 113 o de STLV-3 correspondiente a la SEQ ID NO: 12,

- D en la posición 18 y/o Y en la posición 26, de los polipéptidos correspondientes a las SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22 y 24,

están sustituidos por otro aminoácido, natural o no, tal como polipéptidos mutantes correspondientes a los polipéptidos mencionados anteriormente en los que dichos residuos D y/o A están sustituidos por A,

en asociación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La memoria descriptiva también se refiere a células de mamíferos transgénicos que expresan polipéptidos mutantes incapaces de unirse a GLUT1 como se definió anteriormente, teniendo dichas células un efecto transdominante negativo con respecto a PTLV, evitando así la infección y diseminación de este último en el organismo.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente a composiciones farmacéuticas que contienen células de mamíferos transgénicas como se definió anteriormente, en asociación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La memoria descriptiva también se refiere a vectores terapéuticos útiles para dirigirse a células que sobreexpresan GLUT1 en patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares, tal como se definió anteriormente, conteniendo dichos vectores en su superficie polipéptidos de unión a GLUT1 elegidos entre aquellos definidos anteriormente, y que contienen moléculas activas contra dichas patologías, como se definió anteriormente, o que contiene genes en el marco de la terapia génica.

La memoria descriptiva se refiere más particularmente a composiciones farmacéuticas que contienen vectores terapéuticos como se describió anteriormente, en asociación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La memoria descriptiva también se refiere a un método para la selección de compuestos útiles para:

* la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una infección de un individuo con un PTLV,

* la preparación de fármacos para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en las superficies celulares,

* la detección *in vitro* de GLUT1 en las superficies celulares,

comprendiendo dicho método:

- el contacto de GLUT1 representado por la SEQ ID NO: 2, o de fragmentos o secuencias derivadas del lo mismo, siendo dichos fragmentos o secuencias derivadas capaces de unirse a las proteínas de la envoltura de los virus de leucemia de células T de primate (PTLV), o de células que expresan GLUT1, con los compuestos a ensayar,

- la selección de compuestos capaces de unirse específicamente a GLUT1, o fragmentos o secuencias derivadas de los mismos, como por ejemplo de acuerdo con el método mencionado anteriormente.

La memoria descriptiva se relaciona más particularmente con un método para la selección de compuestos útiles para la prevención o el tratamiento de patologías relacionadas con una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares, y el diagnóstico *in vitro* de dichas patologías, que comprende las etapas descritas anteriormente:

La invención también se refiere a un método para el diagnóstico *in vitro* del síndrome de deficiencia de GLUT1, caracterizado porque comprende:

- poner en contacto una muestra biológica (como biopsias o células o tejido que se manifiesta o con un presunto perfil de expresión GLUT1 aberrante) de un individuo con compuestos, y más particularmente polipéptidos, seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se definió anteriormente, estando dichos compuestos o polipéptidos marcados opcionalmente, o susceptibles de ser reconocidos por una molécula marcada,

- determinar el nivel de dichos compuestos o polipéptidos unidos a las células contenidas en la muestra biológica y la comparación con el nivel de unión de dicho compuesto a células contenidas en la muestra biológica de un individuo sano.

La invención se refiere más particularmente a un método como se definió anteriormente para el diagnóstico *in vitro* de patologías mencionadas anteriormente.

La memoria descriptiva también se refiere a un kit para el diagnóstico *in vitro* de patologías relacionadas a una sobreexpresión de GLUT1 en superficies celulares, como se describió anteriormente, que comprende compuestos y más particularmente polipéptidos, seleccionados por su capacidad para unirse específicamente a GLUT1 como se definió anteriormente, estando dichos compuestos o polipéptidos opcionalmente marcados y, si es necesario, reactivos para la detección de la unión de dichos compuestos o polipéptidos a GLUT1 inicialmente presentes en las superficies celulares en la muestra biológica.

La invención se ilustra adicionalmente con la descripción detallada a continuación de la determinación de GLUT1 como un receptor específico para el RBD del PTLV.

Los virus de la leucemia de células T humanas (HTLV) tipo 1 y 2 están presentes en todas las áreas del mundo como agentes infecciosos endémicos o esporádicos [Slattery, 1999]. El papel etiológico de HTLV-1 en leucemia de células T adultas (ATL) y en la paraparesia espástica tropical/mielopatía asociada al HTLV (TSP/HAM) ha sido bien establecida [Poiesz, 1980; Yoshida, 1982; Gessain, 1985; Osame, 1986]. El tropismo aparentemente restringido del HTLV a linfocitos T en pacientes infectados [Cavrois, 1996; Hanon, 2000] contrasta con la capacidad de la glicoproteína de la envoltura codificada por el virus (Env) para unirse y dirigir la entrada en todos los tipos de células de vertebrados probados *in vitro* [Sutton, 1996; Trejo, 2000; Kim, 2003]. Las infecciones retrovirales dependen de las interacciones tempranas entre Env y los receptores celulares. La identificación de receptores celulares y correceptores para otras envolturas retrovirales ha ayudado a dilucidar ciertos aspectos de la fisiopatología del retrovirus, así como su transmisión y propagación dentro de organismos y poblaciones [Berger, 1999; Clapham, 2001; Weiss, 2002]. Sin embargo, no se ha establecido una asociación clara entre Env del HTLV y enfermedades asociadas con el HTLV y a permanecido esquiva la identidad del receptor o receptores para Env del HTLV-1 y HTLV-2.

Se ha demostrado que numerosos componentes de la superficie celular desempeñan un papel en la formación de sincitios mediada por Env del HTLV [Niyogi, 2001; Daenke, 1999; Hildreth, 1997]. Sin embargo, la fusión de la membrana celular dependiente de Env del HTLV y la formación de sincitios parecen ser diferentes de la unión del receptor por sí misma [Denesvre, 1996; Daenke, 2000; Kim, 2000; Kim, 2003]. La búsqueda del receptor de Env del HTLV se ha visto obstaculizada en parte por su presencia universal [Sutton, 1996; Trejo, 2000; Jassal, 2001; Kim, 2003]. Además, la inducción de la formación rampante de sincitio en cultivo celular tras la expresión de Env del HTLV [Hoshino, 1983; Nagy, 1983] ha impedido la expresión eficiente y persistente de Env. Con base en esta observación de que el dominio del terminal amino de Env del HTLV comparte una sorprendente homología estructural y funcional con la de los virus de la leucemia murina (MLV), se definió el dominio de unión al receptor de Env del HTLV (RBD) y las herramientas derivadas de Env del HTLV que superan el problema de formación de sincitios [Kim, 2000; Kim, 2003]. Por lo tanto, se pudo seguir las interacciones específicas entre el RBD de Env y un receptor del HTLV primario. Usando estas herramientas, se ha demostrado previamente que el receptor del HTLV se expresa en la superficie en

los linfocitos T, el reservorio principal del HTLV *in vivo*, solo después de la activación del receptor de células T [Manel, 2003].

En el presente documento se describen alteraciones metabólicas sorprendentes en cultivos celulares después de la expresión de envolturas del HTLV así como también dominios de unión del receptor del HTLV. Estas alteraciones se caracterizan por un defecto en la acidificación del medio de cultivo celular asociado con una disminución de la producción de lactato y una disminución en el consumo y la captación de glucosa. Estas observaciones, así como el conocimiento de que los receptores de Env para el MLV relacionado y la mayoría de los retrovirus gamma pertenecen a la familia de transportadores que abarcan múltiples membranas [Overbaugh, 2001], nos indujo a probar las moléculas asociadas al transporte universal de glucosa y lactato como receptores para Env del HTLV. Se mostró que el transportador universal de glucosa GLUT1, presente en todos los vertebrados, es un componente esencial y específico del receptor para HTLV. Además, la interacción de GLUT1 con las envolturas completas de HTLV-1 y HTLV-2, así como los RBD truncados de HTLV-1 y HTLV-2 altera el metabolismo de la glucosa.

Las envolturas del HTLV alteran el metabolismo del lactato.

La proliferación celular en medios de cultivo estándar está acompañada por una acidificación del medio que se traduce en un cambio de color de rojo a amarillo en presencia del indicador de pH rojo fenol. Después de la transfección de envolturas de HTLV-1 y HTLV-2 altamente sincitiales, o una envoltura quimérica no sincitial que alberga el RBD de HTLV-1 en la cadena principal de Env del MLV (H_{183}FEnv), el medio de cultivo no se acidificó fácilmente, y albergó tonos rojos durante varios días después de la transfección (Figura 1a). Además, la expresión de proteínas solubles del RBD del HTLV fusionadas con las etiquetas GFP, HA o rFc también inhibió la acidificación del medio. Por el contrario, ningún constructo de la envoltura que carecía del RBD del HTLV, que incluía diferentes envolturas del grupo de MLV, Env lentivirales y retrovirales de Jaagsiekte de felinos y porcinos, así como las glicoproteínas de VSV-G y Ébola, tenían este efecto. La falta de acidificación asociada con la expresión de Env de HTLV-1 o HTLV-2 no fue una consecuencia indirecta de su actividad sincitial, ya que (i) se observó una acidificación del medio en células que expresaban una Env de MLV anfotrópica sincitial (A-MLV desprovista del péptido R) (Figura 1a) y (ii) la acidificación del medio se bloqueó cuando Env del HTLV se expresó en células que son resistentes a la formación de sincitios mediada por Env del HTLV (células NIH3T3 TK^-) [Kim, 2003].

La disminución del pH en el cultivo celular se debe principalmente a la acumulación extracelular de lactato [Warburg, 1956]. El lactato es el principal subproducto de la glucólisis anaeróbica *in vitro* y su excreción está mediada por un simportador de H^+/lactato [Halestrap, 1999]. Se monitorizó el contenido de lactato en sobrenadantes de cultivo después de la transfección de varias envolturas retrovirales y RBD. La acumulación de lactato fue consistentemente 3 veces menor en las células transfectadas con H_{183}FEnv y RBD del HTLV que en las células de control o transfectadas con Env del MLV (Figura 1b). Esta disminución en la acumulación de lactato extracelular después de la transfección de RBD del HTLV fue dependiente de la dosis de ADN. Además, se encontró que la disminución en la acumulación de lactato después de la transfección del RBD del HTLV fue evidente tan pronto como 4 horas después de la adición de medio fresco.

Unión al receptor y metabolismo del lactato

Para examinar si existe una relación directa entre la unión del receptor de la envoltura del HTLV y la disminución de la acidificación extracelular y la acumulación de lactato, se intentó generar mutantes del RBD de HTLV-1 ($H1_{RBD}$) con capacidades alteradas de unión al receptor. Con este fin, las mutaciones que dieron lugar a sustituciones de alanina individuales se introdujeron en dos posiciones diferentes en $H1_{RBD}$, D106 y Y114, que están altamente conservadas entre los virus linfotrópicos T de primate. Aunque tanto los mutantes del RBD D106A como los de Y114A se expresaron y se secretaron tan eficientemente como la $H1_{RBD}$ de tipo silvestre (Figura 3a), mostraron una unión significativamente reducida (D106A) o no detectable (Y114A) al receptor del HTLV detectada por el análisis FACS (Figura 3b). Además, las perturbaciones en el metabolismo del lactato se correlacionaron con la unión al receptor del HTLV: la acumulación de lactato no se redujo en las células que expresan el mutante del RBD Y114A que no se une y se redujo mínimamente en las células que albergan el RBD D106 (Figura 3c). Se obtuvieron resultados similares con $H2_{RBD}$ que albergaba las mismas mutaciones alélicas. Estos datos favorecen una asociación directa entre las alteraciones metabólicas relacionadas con el lactato y la unión al receptor de Env del HTLV.

El lactato extracelular se acumula en cultivos celulares después de su transporte a través de las membranas celulares por el transportador de monocarboxilato MCT1 [Garcia, 1994]. Debido a que HTLV y MLV comparten una organización común de la envoltura extracelular [Kim, 2000] y los receptores para Env de MLV son transportadores de múltiples tramos de metabolitos [Overbaugh, 2001], se evaluó si RLV del HTLV se une a MCT1. Además, de manera similar a los datos anteriores relacionados con la expresión del receptor del HTLV en células T [Manel, 2003], la expresión de MCT1 chaperona de CD147 [Kirk, 2000] aumenta durante la activación de células T [Kasinrerk, 1992]. Sin embargo, la sobreexpresión separada y combinada de MCT1 y CD147 no resultó en un aumento de la unión de $H1_{RBD}$, argumentando en contra de un papel para estas moléculas como receptores para Env del HTLV.

Receptor del HTLV y metabolismo de la glucosa.

Además de una disminución en la acumulación de lactato extracelular, la expresión del RBD del HTLV también condujo a una disminución del contenido de lactato intracelular, indicativo de alteraciones metabólicas secuencia arriba del transporte de lactato. En los cultivos celulares, la acumulación de lactato resulta de la degradación de la glucosa durante la glucólisis anaeróbica. Por lo tanto, se evaluó si la disminución de la acumulación de lactato observada tras la expresión del RBD del HTLV estaba relacionada con el metabolismo de la glucosa. Se midió el consumo de glucosa normalizado al contenido de proteína celular. El consumo de glucosa de las células que expresan un RBD del HTLV dentro del contexto de la envoltura completa de H_{183}FEnv o el $H1_{RBD}$ se redujo significativamente en comparación con las células de control (Figura 1b) y este defecto fue detectable tan pronto como 8 horas después de la transfección. Para determinar si esta disminución en el consumo de glucosa correspondió a una disminución en el transporte de glucosa a través de la membrana celular, se midió la captación de 2-desoxiglucosa y fructosa en las células de control y en las células que expresan RBD del HTLV (Figura 1c). Se observó que la expresión del RBD de HTLV-1 o HTLV-2 indujo una disminución de aproximadamente 4 veces en la captación de 2-desoxiglucosa, mientras que RBD de A-MLV tuvo solo un efecto menor. Los inhibidores de la captación de glucosa, la citocalasina B y la floretina, también inhibieron la captación de glucosa. Estos resultados también fueron ciertos para el transporte de 3-O-metilglucosa. La captación de fructosa en las mismas células no se vio alterada por la presencia del RBD de HTLV-1 o HTLV-2; sin embargo, el RBD de A-MLV indujo una ligera disminución. A continuación, se evaluó el efecto de la privación de glucosa en la disponibilidad del receptor del HTLV tanto en células 293T humanas adherentes como en células T Jurkat en suspensión. Después del cultivo de células durante la noche en ausencia de glucosa, la unión de $H1_{RBD}$ se incrementó consistentemente dos veces en ambos tipos de células (Figura 1d). Este efecto de la privación de glucosa fue específico para HTLV, ya que la unión de RBD de MLV anfotrópico (A_{RBD}) se vio afectada solo marginalmente (Figura 1d). Este fenómeno recuerda a un circuito general de retroalimentación de transporte de metabolitos, por lo que la disponibilidad del transportador en la superficie celular aumenta con la inanición del sustrato [Martineau, 1972].

Las envolturas del HTLV se unen al transportador 1 de glucosa

Un modelo simple mediante el cual la envoltura de HTLV inhibe el consumo de glucosa a través de la unión directa a un transportador de glucosa puede explicar los efectos metabólicos descritos anteriormente. Tras la evaluación de los diferentes candidatos del transportador de glucosa, GLUT1 parece ser el único que abarca todas las propiedades conocidas del receptor del HTLV. De hecho, la expresión de GLUT1 aumenta con la privación de glucosa y transporta la glucosa en todas las células de vertebrados [Mueckler, 1985], mientras que la fructosa es transportada por GLUT5. Además, GLUT1 no se expresa en células T primarias en reposo y su expresión se induce con la activación de células T [Rathmell, 2000; Chakrabarti, 1994] con cinéticas que son sorprendentemente similares a aquellas que se han informado para el receptor del HTLV [Manel, 2003]. Dado que se ha descrito que los eritrocitos humanos, pero no los murinos, son las células que presentan la mayor concentración de GLUT1 [Mueckler, 1994], se evaluó la disponibilidad del receptor del HTLV en los glóbulos rojos recién aislados. La unión de $H1_{RBD}$ en los eritrocitos humanos fue sorprendentemente eficiente, alcanzando niveles más altos que los observados en cualquier otro tipo de célula analizada, mientras que la unión de A_{RBD} a los eritrocitos fue mínima (Figura 2a). Sin embargo, en eritrocitos murinos, no se pudo detectar una unión significativa a $H1_{RBD}$, a pesar de una unión a A_{RBD} similar en eritrocitos murinos y humanos. Además, los hepatocitos humanos primarios no expresan GLUT1. En consecuencia, fue imposible detectar la unión de $H1_{RBD}$ a los hepatocitos primarios humanos, mientras que la unión a A_{RBD} se pudo detectar fácilmente.

Para probar directamente la capacidad de las envolturas del HTLV para unirse a GLUT1, se derivó un vector de expresión GLUT1 etiquetado y se sobreexpresó esta proteína en células HeLa. Tanto la unión de $H1_{RBD}$ como la de $H2_{RBD}$ aumentaron dramáticamente con la sobreexpresión de GLUT1 (Figura 4a). Esta interacción fue específica ya que el mutante defectuoso de la unión de HTLV-2, D102A, así como su contraparte HTLV-1, D106A, no se unieron a GLUT1 (Figura 4a). Además, la unión de $H1_{RBD}$ y $H2_{RBD}$ se mantuvo en niveles de fondo tras la sobreexpresión del receptor de la envoltura del MLV anfotrópico, el transportador de fosfato inorgánico PiT2 [Miller, 1994]. Por el contrario, la unión de A_{RBD} no aumentó después de la sobreexpresión de GLUT1, pero como se esperaba, esta interacción aumentó con la transfección de PiT2 (Figura 4a). GLUT3 es la isoforma más cercana a GLUT1, y transporta la glucosa con una cinética similar a la de GLUT1. Por lo tanto, se derivó un vector de expresión GLUT3 etiquetado. Aunque similar los niveles de sobreexpresión de GLUT1 y GLUT3 en células 293T, GLUT3 no indujo ningún aumento en la unión de $H1_{RBD}$ (Figura 4b), lo que sugiere que el aumento de la unión de $H1_{RBD}$ en las células que sobreexpresan GLUT1 no es una consecuencia indirecta de una mayor captación de glucosa. Para determinar si las células transfectadas con GLUT1 fueron directamente responsables del aumento observado en la unión de H1RBD, se derivaron GLUT1 y GLUT3 etiquetados con fluorescencia para identificar inequívocamente las células que sobreexpresan GLUT en el curso de los análisis FACS. En este contexto, solo las células que sobreexpresan GLUT1-DsRed2 mostraron un aumento significativo en la unión a $H1_{RBD}$, mientras que la sobreexpresión de GLUT3-DsRed2 no tuvo efecto en la unión a $H1_{RBD}$. En consecuencia, se probó si las glicoproteínas de HTLV interactúan directamente con las proteínas GLUT1. Con este fin, se evaluó la capacidad de $H1_{RBD}$ para inmunoprecipitar GLUT1. Como se muestra en la Figura 4c, GLUT1 podría detectarse fácilmente tras la inmunoprecipitación con perlas Fc anticonejo cuando se coexpresó con $H1_{RBD}$, pero no se pudo detectar cuando se expresó solo o con el mutante $H1_{RBD}$ Y114A.

Además, un RBD de HTLV-2 etiquetado con GFP se colocalizó con GLUT1 pero no con PiT2 según lo evaluado por microscopía de fluorescencia. Por lo tanto, el transportador de glucosa GLUT1 es un componente esencial del receptor de la envoltura del HTLV.

La interacción de GLUT1 con su ligando citocalasina B inhibe el transporte de glucosa [Kasahara, 1977]. Dado que se mostró que la unión de las envolturas del HTLV a GLUT1 inhibe el consumo y la captación de glucosa, se probó si la citocalasina B anularía la unión del RBD del HTLV. De hecho, el tratamiento con citocalasina B de las células T Jurkat inhibió drásticamente la unión de $H1_{RBD}$, mientras que la unión de A_{RBD} no se vio afectada (Figura 5). Por lo tanto, el transporte de glucosa dirigido por GLUT1, así como la unión de las envolturas del HTLV a GLUT1, son inhibidos de manera similar por el ligando citocalasina B. En conjunto, estos datos demuestran que GLUT1 es un receptor para envolturas del HTLV.

El receptor vírico permite la entrada y, por lo tanto, la infección. No existe actualmente ningún sistema celular que carezca de expresión de GLUT1. Por lo tanto, se desarrolló un sistema en el que la infección por el HTLV se inhibe específicamente a nivel de la interacción envoltura-receptor. En este sistema, la sobreexpresión del RBD de HTLV-2 interfiere con la infección de partículas del HTLV entrantes y reduce específicamente los títulos del HTLV en al menos 2 log, mientras que no se detecta ningún efecto en los títulos de A-MLV de control. Para determinar si GLUT1 es un receptor de entrada para HTLV, se sobreexpresó GLUT1, GLUT3 o Pit2 además del $H2_{RBD}$ interferente. Mientras que Pit2 y GLUT3 no tuvieron efecto en los títulos del HTLV, GLUT1 alivió completamente la interferencia a la infección inducida por $H2_{RBD}$ (Figura 5). Curiosamente, tanto GLUT1 como GLUT3, pero no Pit2, aliviaron la alteración del metabolismo de la glucosa inducida por el RBD del HTLV. Por lo tanto, GLUT1 es un receptor de entrada para HTLV.

Discusión

En el presente se muestra que las envolturas de HTLV-1 y HTLV-2 interactúan con GLUT1 a través de sus dominios de unión al receptor. Esta interacción inhibe fuertemente el consumo de glucosa y la captación de glucosa, lo que conduce a una menor producción de lactato y un bloqueo en la acidificación del medio extracelular. Las mutaciones que alteraron específicamente la unión del receptor de las envolturas del HTLV-1 y HTLV-2 liberaron el bloqueo en el consumo de glucosa, lo que indica una correlación directa entre los determinantes de la unión del receptor en las envolturas del HTLV y el transporte de glucosa. La falta de glucosa fue seguida rápidamente por un aumento de la unión de las envolturas del HTLV, destacando un circuito de retroalimentación negativa que detecta los nutrientes entre la disponibilidad de glucosa y la expresión del receptor del HTLV de la superficie celular. Evidencia adicional convergió para identificar a GLUT1 como el receptor, incluido un aumento de la unión de RBD del HTLV tras la sobreexpresión de GLUT1 pero no de GLUT3, la inmunoprecipitación de GLUT1 por $H1_{RBD}$ pero no el mutante $H1_{RBD}$ Y114A de unión al receptor, la unión principal del RBD del HTLV en eritrocitos humanos donde GLUT1 es la isoforma principal del transportador de glucosa, y no hay unión del RBD del HTLV en hepatocitos primarios humanos y eritrocitos murinos, donde GLUT1 se expresa de manera mínima. Finalmente, GLUT1 podría aliviar específicamente la interferencia a la infección inducida por RBD del HTLV. GLUT1 se ajusta a todas las demás propiedades conocidas del receptor del HTLV. De hecho, como se demostró anteriormente para el receptor del HTLV [Manel, 2003], GLUT1, pero no las isoformas GLUT 2-4, no se expresan en linfocitos T en reposo [Chakrabarti, 1994; Korgun, 2002] y se induce tras la activación inmunológica [Frauwirth, 2002; Yu, 2003] o farmacológica [Chakrabarti, 1994]. Además, los ortólogos de GLUT1 están altamente conservados entre los vertebrados, pero son altamente divergentes entre los vertebrados y los insectos [Escher, 1999].

Por lo tanto, GLUT1 es un nuevo miembro de los transportadores de metabolitos que abarcan múltiples membranas que sirven como receptores para envolturas retrovirales. Curiosamente, hasta ahora, todos las envolturas que reconocen estos receptores han sido codificadas por retrovirus que tienen la llamada organización genética simple, tal como el MLV, los virus de la leucemia felina, el retrovirus endógeno porcino y el virus de la leucemia del mono gibón [Overbaugh, 2001], mientras que HTLV pertenece a los llamados retrovirus complejos que codifican varias proteínas reguladoras adicionales. Sin embargo, se ha demostrado que, a diferencia de la amplia divergencia filogenética de su ARN genómico, las envolturas del HTLV y MLV comparten una organización modular similar con algunos motivos de aminoácidos altamente conservados en sus respectivos dominios de unión al receptor [Kim, 2000].

El contacto célula a célula parece ser necesario para la transmisión del HTLV, y el citoesqueleto parece jugar un papel importante en este proceso [Igakura, 2003]. De hecho, se observó que el receptor del HTLV, a pesar de la expresión pancelular, se concentra específicamente en las regiones móviles de la membrana y en las áreas de contacto de célula a célula. Por lo tanto, se debe esperar que el receptor de la envoltura del HTLV esté asociado al citoesqueleto. De manera importante, se ha informado que un asociado de unión citoplásmica de GLUT1, GLUT1CBP, que codifica un dominio PDZ, vincula GLUT1 al citoesqueleto [Bunn, 1999]. Por lo tanto, será interesante evaluar las funciones respectivas de la envoltura del HTLV, sus socios celulares asociados al citoesqueleto, tales como GLUT1, GLUT1CBP y sus componentes celulares de interacción inmediata.

Debido a que la expresión del receptor del HTLV se induce tras la inanición de la glucosa, la transmisión del HTLV puede ser más eficiente en células que carecen localmente de glucosa, tal como los linfocitos en los ganglios linfáticos

[Yu, 2003]. Además, la capacidad de los eritrocitos circulantes para acoplar el HTLV, como se muestra en este documento, podría proporcionar un medio para distribuir el HTLV a dichos tejidos.

La identificación de GLUT1 como un receptor para envolturas del HTLV proporciona pistas adicionales en cuanto a la expresión *in vitro* universal del receptor en líneas celulares y la restricción paradójica del tropismo del HTLV a linfocitos T *in vivo*. Es probable que se produzcan alteraciones metabólicas rápidas y dramáticas asociadas con el bloqueo del consumo de glucosa tras la expresión de la envoltura del HTLV *in vivo*, inmediatamente después de la infección. Por lo tanto, se propone que *in vivo*, la infección por HTLV se propaga inicialmente con un gran tropismo; sin embargo, temprano después de la infección, la gran mayoría de las células que dependen en gran medida de la actividad de GLUT1 se eliminan rápidamente. Por el contrario, los linfocitos T en reposo que tienen una tasa metabólica extremadamente baja y como tales dependen mucho menos de la captación de glucosa, pueden tolerar este efecto y, por lo tanto, se mantienen *in vivo*. Además, los desequilibrios locales en el acceso a la glucosa después de la infección por HTLV pueden conducir a alteraciones fisiológicas específicas [Akaoka, 2001]. En este sentido, será de interés estudiar la posible relación entre las neuropatologías asociadas a HTLV y la dependencia específica de las neuronas en el consumo de glucosa mediado por GLUT1 [Siegel, 1998].

Métodos

Cultivo celular. Se cultivaron células 293T de riñón embrionario humano y de carcinoma cervical HeLa en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con alto contenido de glucosa (4,5 g/L) y se cultivaron células T Jurkat en RPMI suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS) a 37 °C en una atmósfera de aire del 95% y 5% de CO_2. Para los experimentos de inanición de glucosa, las células se cultivaron en DMEM sin glucosa (Life Technologies) o RPMI sin glucosa (Dutscher) con FBS dializado al 10% (Life Technologies) y se complementó con glucosa (1 g/L) cuando se indico.

Vectores de expresión. Los vectores de expresión de envoltura de longitud completa para HTLV-1 (pCEL/2 [Denesvre, 1995]) y MLV ecotrópico Friend (pCEL/F [Denesvre, 1995]), se han descrito previamente. Para la envoltura del HTLV-2, se insertó un fragmento de pHTE2 [Rosenberg, 1998] que abarca los genes *tax*, *rex* y *env* y inserto LTR 3' en el vector pCSI [Battini, 1999] (pCSIX.H2). Los vectores de expresión de envoltura de longitud completa para MLV anfotrópico (pCSI.A), o desprovistos de su péptido R (pCSI.AΔR), y H_{183}FEnv que contiene los 183 aminoácidos del terminal N del dominio de unión al receptor de HTLV-1 en el fondo de la envoltura de F-MLV, así como vectores de expresión de envoltura truncados, derivados de pCSI y que codifican cualquiera de los primeros 215 residuos de SU de HTLV-1 ($H1_{RBD}$), los primeros 178 residuos del HTLV-2-SU ($H2_{RBD}$) o los primeros 397 residuos de SU del virus de leucemia murina anfotrópica de SU (MLV) (A_{RBD}), fusionado a una etiqueta Fc de IgG de conejo en el terminal C (rFc) o a EGFP ($H2_{RBD}$-GFP). Todas las mutaciones puntuales introducidas en los constructos del RBD de HTLV-1 y HTLV-2 se generaron utilizando el método de mutagénesis dirigida al sitio de QuikChange y las mutaciones se verificaron mediante secuenciación. El ADNc de *Glut1* y *Glut3* humanos se amplificó mediante PCR a partir de la biblioteca de ADNc de pLib HeLa (Clontech), y se insertaron en pCHIX, una versión modificada del vector pCSI que contiene un casete que comprende un sitio de escisión del factor Xa, dos copias de la etiqueta de hemaglutinina (HA), y una etiqueta de histidina. El constructo resultante (pCHIX.hGLUT1) codifica una proteína GLUT1 con una etiqueta HA-His en el extremo terminal C. GLUT1 y GLUT3 también se insertaron en un vector pCSI modificado que contiene una etiqueta en el terminal C de DsRed2. De manera similar, se amplificó CD147 humana a partir de ARN total de 293T mediante RT-PCR y se insertó en la cadena de pCHIX en el marco con la etiqueta HA-His (pCHIX.hCD147).

Expresión de la envoltura y mediciones metabólicas. Se transfectaron células 293T con los diversos vectores de expresión de la envoltura usando una versión modificada del método de fosfato de calcio. Después de una transfección durante la noche, las células se lavaron en solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se añadió medio fresco. Los medios se recolectaron en los puntos de tiempo indicados, se filtraron a través de un filtro de tamaño de poro de 0,45 µm y el lactato y la glucosa se midieron con kits de diagnóstico enzimático (Sigma). Los valores se normalizaron al contenido de proteína celular utilizando el ensayo de Bradford (Sigma) después de la solubilización de células en tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM, dodecil sulfato de sodio al 0,1%, Nonidet P-40 al 1,0%, desoxicolato al 0,5%) y clarificación por centrifugación.

Ensayo de captación de hexosa. Se obtuvieron 2-desoxi-D[1-^{3}H]glucosa, D[U-^{14}C]fructosa y 3-O-[^{14}C]metil-D-glucosa a través de Amersham. El ensayo de captación de hexosa se adaptó de Harrison et al., (REF. HARRISON 1991). Después de la transfección, se sembraron aproximadamente 250.000 /pozo en placas de 24 pozos. Al día siguiente, las células se lavaron dos veces en PBS, se incubaron en DMEM sin suero, se lavaron una vez en DMEM sin suero sin glucosa y se incubaron durante 20' en 500 µL de inhibidores del módulo DMEM sin suero sin glucosa (citocalasina B 20 µM, floretina 300 µM; SIGMA). La captación se inició mediante la adición de hexosas marcadas hasta una concentración final de 0,1 mM (2 µCi/mL para 2-2-desoxi-D[1-^{3}H]glucosa y 0,2 µCi/mL para D[U-^{14}C]fructosa y 3-O-[^{14}C]metil-D-glucosa] y las células se incubaron durante 5' minutos adicionales. Las células se resuspendieron luego en 500 µL de DMEM sin suero sin glucosa frío, se lavaron una vez en DMEM sin suero sin glucosa y se solubilizaron en 400 µL de SDS al 0,1%. Se utilizaron 3 µL para la normalización de Bradford, mientras que el resto se usó para la detección de ^{3}H o ^{14}C mediante centelleo líquido en un contador Beckman.

Transferencias Western. Se sometieron el medio de cultivo (10 µL) de células 293T que expresan RBD de HTLV-1 de tipo silvestre o mutante, y/o vector de expresión de GLUT1 o GLUT3 a electroforesis en geles de acrilamida al 15% con SDS, se transfirieron a nitrocelulosa (Protran; Schleicher & Schuell), se bloquearon en PBS que contenía leche en polvo al 5% y Tween 20 al 0,5%, se probaron con una dilución 1:5000 de inmunoglobulina anti-conejo conjugada con peroxidasa de rábano picante o dilución 1:2000 de anticuerpo monoclonal anti-HA 12CA5 (Roche) seguido por una dilución 1:5000 de inmunoglobulina anti-ratón conjugada con peroxidasa de rábano picante, y se visualizaron usando con un kit de quimioluminiscencia mejorado (Amersham).

Ensayos de unión. Los ensayos de unión se llevaron a cabo como se describió anteriormente [Manel, 2003]. Brevemente, se incubaron 5 x 10^5 células (293T, HeLa, Jurkat o eritrocitos humanos recién aislados) con 500 µL de sobrenadantes de $H1_{RBD}$, $H2_{RBD}$ o A_{RBD} durante 30 min a 37 ºC, se lavaron con PBA (BSA al 1%, y azida de sodio 0,1% en PBS), y se incubaron con un anticuerpo anti-IgG de conejo de oveja conjugado con isotiocianato de fluoresceína (Sigma). Cuando se indicó, se añadió citocalasina B (20 µM; Sigma) a las células durante 1 hora antes de los análisis de unión. La unión se analizó en un FACSCalibur (Becton Dickinson) y el análisis de los datos se realizó con los software CellQuest (Becton Dickinson) y WinMDI (Scripps).

Infecciones. Se transfectaron células 293T en una placa de 6 pozos y, un día después de la transfección, el medio se reemplazó por DMEM con alto contenido de glucosa complementado con fructosa (5 g/L) y aminoácidos no esenciales. Al día siguiente, la infección se inició mediante la adición de sobrenadantes que contenían partículas MLV pseudotipadas ya sea con envolturas de HTLV-2 o A-MLV. Al día siguiente, se añadió medio fresco y, 24 horas después, las células se fijaron y se tiñeron para determinar la actividad de fosfatasa alcalina y se contó el foco oscuro de la infección. Las partículas virales se obtuvieron transfectando células 293T con pLAPSN, pGagPol y pCSIX.H2 o pCSI.A, y se recogieron los sobrenadantes filtrados a través de 0,45 µm 24 horas después.

Leyenda de la Figuras

Figura 1. La expresión del dominio de unión al receptor del HTLV altera el metabolismo celular. a) Acidificación del medio y formación de sincitios en células 293T un día después de la transfección con vectores de expresión de ADN o Env de control, incluidos Env de HTLV-1 y el Env del HTLV-2 de tipo silvestre sincitiales, un H_{183}FEnv quimérico no sincitial, y Env de A-MLV ΔR sincitial. b) el lactato extracelular y la glucosa en el medio de cultivo de células 293T se midieron dos días después de la transfección con un ADN irrelevante (control), vectores de expresión de Env de F-MLV, H_{183}FEnv, RBD de HTLV-1 ($H1_{RBD}$) o RBD del MLV (A_{RBD}) anfotrópico. Las concentraciones de lactato y glucosa se normalizaron al contenido de proteína celular. c) Captación de 2-desoxiglucosa y fructosa después de la transfección de 293T con un ADN irrelevante (control), vectores de expresión $H1_{RBD}$, $H2_{RBD}$ o A_{RBD}. Las células de control también se incubaron con inhibidores del transportador de glucosa citocalasina y floretina. Los datos son las media de las mediciones por triplicado y son representativos de dos a tres experimentos independientes. d) Se monitorizó la expresión de los receptores del HTLV y de MLV anfotrópicos en células 293T (1) y T Jurkat (2) cultivadas durante la noche en presencia o ausencia de glucosa mediante la unión de $H1_{RBD}$ y A_{RBD}, respectivamente.

Figura 2. Las propiedades del receptor de HTLV se correlacionan con las propiedades de GLUT1. a) Expresión de los receptores de HTLV y MLV anfotrópico en la superficie de eritrocitos humanos y murinos, así como hepatocitos primarios humanos. b) Unión de $H1_{RBD}$ y A_{RBD} a células Jurkat en ausencia o presencia del inhibidor citocalasina B de GLUT1.

Figura 3. La unión del receptor de HTLV se correlaciona con el metabolismo alterado de lactato. a) La expresión de $H1_{RBD}$ y los mutantes derivados D106A y Y114A se monitorizaron mediante análisis de transferencia Western de los sobrenadantes de células 293T después de la transfección con los diversos plásmidos de expresión. b) unión de $H1_{RBD}$ y los mutantes D106A y Y114A al receptor del HTLV en células HeLa. c) Lactato extracelular en el medio de células 293T un día después de la transfección con un ADN irrelevante (control), $H1_{RBD}$ o los mutantes D106A y Y114A de $H1_{RBD}$. Los datos son representativos de tres experimentos independientes.

Figura 4. GLUT1 es un receptor para envolturas del HTLV. a) La unión de $H1_{RBD}$, $H2_{RBD}$, mutante D102A de $H2_{RBD}$ y A_{RBD} a células 293T de control o células 293T que sobreexpresan GLUT1 o PiT2. b) unión de $H2_{RBD}$-EGFP a células que sobreexpresan GLUT1-HA o GLUT3-HA, y las correspondientes inmunotransferencias utilizando un anticuerpo anti-HA. c) Inmunoprecipitación de GLUT1-HA de células 293T transfectadas con un constructo irrelevante, GLUT1 únicamente, $H1_{RBD}$ únicamente, Y114A de $H1_{RBD}$ únicamente, GLUT1 con $H1_{RBD}$ o GLUT1 con vectores de expresión Y114A de $H1_{RBD}$. La inmunoprecipitación se realizó utilizando perlas Fc anti-conejo y se sondearon con un anticuerpo anti-HA. Los extractos celulares totales se transfirieron usando un Fc anti-conejo o un anticuerpo anti-HA.

Figura 5. GLUT1 es un receptor de entrada para HTLV. El título de las infecciones de pseudotipos de partículas de MLV con envolturas de HTLV-2 o A-MLV en células 293T después de la transfección de un vector de expresión de $H2_{RBD}$ irrelevante o interferente solo o además de los vectores de expresión GLUT1, GLUT3 o Pit2.

1. Slattery, J. P., Franchini, G. & Gessain, A. Genomic evolution, patterns of global dissemination, and interspecies transmission of human and simian T-cell leukemia/lymphotropic viruses. Genome Res 9, 525-40. (1999).

2. Poiesz, B. J. et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Proc Natl Acad Sci U S A 77, 7415-9. (1980).

3. Yoshida, M., Miyoshi, I. & Hinuma, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. Proc Natl Acad Sci USA 79, 2031-5. (1982).

4. Gessain, A. et al. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. Lancet 2, 407-10. (1985).

5. Osame, M. et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. Lancet 1, 1031-2. (1986).

6. Cavrois, M., Gessain, A., Wain-Hobson, S. & Wattel, E. Proliferation of HTLV-1 infected circulating cells in vivo in all asymptomatic carriers and patients with TSP/HAM. Oncogene 12, 2419-23. (1996).

7. Hanon, E. et al. Fratricide among CD8(+) T lymphocytes naturally infected with human T cell lymphotropic virus type I. Immunity 13, 657-64. (2000).

8. Sutton, R. E. & Littman, D. R. Broad host range of human T-cell leukemia virus type 1 demonstrated with an improved pseudo typing system. J Virol 70, 7322-6. (1996).

9. Trejo, S. R. & Ratner, L. The HTLV receptor is a widely expressed protein. Virology 268, 41-8. (2000).

10. Kim, F. J., Manel, N., Boublik, Y., Battini, J. L. & Sitbon, M. Human T-cell leukemia virus type 1 envelope-mediated syncytium formation can be activated in resistant Mammalian cell lines by a carboxy-terminal truncation of the envelope cytoplasmic domain. J Virol 77, 963-9. (2003).

11. Berger, E. A., Murphy, P. M. & Farber, J. M. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. Annu Rev Immunol 17, 657-700 (1999).

12. Clapham, P. R. & McKnight, A. HIV-1 receptors and cell tropism. Br Med Bull 58, 43-59 (2001).

13. Weiss, R. A. HIV receptors and cellular tropism. IUBMB Life 53, 201-5. (2002).

14. Niyogi, K. & Hildreth, J. E. Characterization of new syncytium-inhibiting monoclonal antibodies implicates lipid rafts in human T-cell leukemia virus type 1 syncytium formation. J Virol 75, 7351-61. (2001).

15. Daenke, S., McCracken, S. A. & Booth, S. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus type 1 syncytium formation is regulated in a cell-specific manner by ICAM-1, ICAM-3 and VCAM-1 and can be inhibited by antibodies to integrin beta2 or beta7. J Gen Virol 80, 1429-36. (1999).

16. Hildreth, J. E., Subramanium, A. & Hampton, R. A. Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas (HTLV-1)-induced syncytium formation mediated by vascular cell adhesion molecule-1: evidence for involvement of cell adhesion molecules in HTLV-1 biology. J Virol 71, 1173-80. (1997).

17. Denesvre, C. et al. TM domain swapping of murine leukemia virus and human T-cell leukemia virus envelopes confers different infectious abilities despite similar incorporation into virions. J Virol 70, 4380-6. (1996).

18. Daenke, S. & Booth, S. HTLV-1-induced cell fusion is limited at two distinct steps in the fusion pathway after receptor binding. J Cell Sci 113, 37-44 (2000).

19. Kim, F. J. et al. Definition of an amino-terminal domain of the human T-cell leukemia virus type 1 envelope surface unit that extends the fusogenic range of an ecotropic murine leukemia virus. J Biol Chem 275, 23417-20. (2000).

20. Jassal, S. R., Pohler, R. G. & Brighty, D. W. Human T-cell leukemia virus type 1 receptor expression among syncytium-resistant cell lines revealed by a novel surface glycoprotein-immunoadhesin. J Virol 75, 8317-28. (2001).

21. Hoshino, H., Shimoyama, M., Miwa, M. & Sugimura, T. Detection of lymphocytes producing a human retrovirus associated with adult T-cell leukemia by syncytia induction assay. Proc Natl Acad Sci U S A 80, 7337-41. (1983).

22. Nagy, K., Clapham, P., Cheingsong-Popov, R. & Weiss, R. A. Human T-cell leukemia virus type I: induction of syncytia and inhibition by patients' sera. Int J Cancer 32, 321-8. (1983).

23. Kim, F. J., Manel, N., Garrido, E., Sitbon, M. & Battini, J. L. Truncated domains of the human T-cell leukemia virus envelope SU with receptor binding activity. In preparation (2003).

24. Manel, N. et al. The HTLV receptor is an early T-cell activation marker whose expression requires de novo protein synthesis. Blood 101, 1913-8. (2003).

25. Overbaugh, J., Miller, A. D. & Eiden, M. V. Receptors and entry cofactors for retroviruses include single and multiple transmembrane-spanning proteins as well as newly described glycophosphatidylinositol-anchored and secreted proteins. Microbiol Mol Biol Rev 65, 371-89, tabla de contenidos. (2001).

26. Warburg, O. On the origin of cancer cells. Science 123, 309-14. (1956).

27. Halestrap, A. P. & Price, N. T. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. Biochem J 343 Pt 2, 281-99. (1999).

28. Garcia, C. K., Goldstein, J. L., Pathak, R. K., Anderson, R. G. & Brown, M. S. Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. Cell 76, 865-73.

(1994).

29. Kirk, P. et al. CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and facilitates their cell surface expression. Embo J 19, 3896-904. (2000).

30. Kasinrerk, W. et al. Human leukocyte activation antigen M6, a member of the Ig superfamily, is the species homologue of rat OX-47, mouse basigin, and chicken HT7 molecule. J Immunol 149, 847-54. (1992).

31. Martineau, R., Kohlbacher, M., Shaw, S. N. & Amos, H. Enhancement of hexose entry into chick fibroblasts by starvation: differential effect on galactose and glucose. Proc Natl Acad Sci USA 69, 3407-11. (1972).

32. Mueckler, M. et al. Sequence and structure of a human glucose transporter. Science 229, 941-5. (1985).

33. Rathmell, J. C., Vander Heiden, M. G., Harris, M. H., Frauwirth, K. A. & Thompson, C. B. In the absence of extrinsic signals, nutrient utilization by lymphocytes is insufficient to maintain either cell size or viability. Mol Cell 6, 683-92. (2000).

34. Chakrabarti, R., Jung, C. Y., Lee, T. P., Liu, H. & Mookerjee, B. K. Changes in glucose transport and transporter isoforms during the activation of human peripheral blood lymphocytes by phytohemagglutinin. J Immunol 152, 2660-8. (1994).

35. Mueckler, M. Facilitative glucose transporters. Eur J Biochem 219, 713-25. (1994).

36. Miller, D. G., Edwards, R. H. & Miller, A. D. Cloning of the cellular receptor for amphotropic murine retroviruses reveals homology to that for gibbon ape leukemia virus. Proc Natl Acad Sci USA 91, 78-82. (1994).

37. Kasahara, M. & Hinkle, P. C. Reconstitution and purification of the D-glucose transporter from human erythrocytes. J Biol Chem 252, 7384-90. (1977).

38. Joost, H. G. & Thorens, B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). Mol Membr Biol 18, 247-56. (2001).

39. Korgun, E. T. et al. Sustained hypoglycemia affects glucose transporter expression of human blood leukocytes. Blood Cells Mol Dis 28, 152-9. (2002).

40. Frauwirth, K. A. et al. The CD28 signaling pathway regulates glucose metabolism. Immunity 16, 769-77. (2002).

41. Yu, Q., Erman, B., Bhandoola, A., Sharrow, S. O. & Singer, A. *In vitro* evidence that cytokine receptor signals are required for differentiation of double positive thymocytes into functionally mature CD8(+) T cells. J Exp Med 197, 475-87.

(2003).

42. Escher, S. A. & Rasmuson-Lestander, A. The Drosophila glucose transporter gene: cDNA sequence, phylogenetic comparisons, analysis of functional sites and secondary structures. Hereditas 130, 95-103 (1999).

43. Igakura, T. et al. Spread of HTLV-I Between Lymphocytes by Virus-Induced Polarization of the Cytoskeleton. Science 299, 1713-1716 (2003).

44. Bunn, R. C., Jensen, M. A. & Reed, B. C. Protein interactions with the glucose transporter binding protein GLUT1CBP that provide a link between GLUT1 and the cytoskeleton. Mol Biol Cell 10, 819-32. (1999).

45. Akaoka, H. et al. Functional changes in astrocytes by human T-lymphotropic virus type-1 T-lymphocytes. Virus Res 78, 57-66. (2001).

46. Siegel, G. J., Agranoff, B. W., Wayne Albers, W., Fisher, S. K. & Uhler, M. D. Circulation and Energy Metabolism of the Brain. Basic Neurochemistry, Chapter 5-31 (1998).

47. Denesvre, C., Sonigo, P., Corbin, A., Ellerbrok, H. & Sitbon, M. Influence of transmembrane domains on the fusogenic abilities of human and murine leukemia retrovirus envelopes. J Virol 69, 4149-57. (1995).

48. Rosenberg, A. R., Delamarre, L., Preira, A. & Dokhelar, M. C. Analysis of functional conservation in the surface and transmembrane glycoprotein subunits of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. J Virol 72, 7609-14. (1998).

49. Battini, J. L., Rasko, J. E. & Miller, A. D. A human cell-surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses: possible role in G protein-coupled signal transduction. Proc Natl Acad Sci U S A 96, 1385-90. (1999).

50. Rodrigues, P. & Heard, J. M. Modulation of phosphate uptake and amphotropic murine leukemia virus entry by posttranslational modifications of PIT-2. J Virol 73, 3789-99. (1999).

Listado de secuencias

<110> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)

<120> GLUT-1 COMO RECEPTOR PARA ENVOLTURAS DEL HTLV Y SUS USOS

<130> CV - 251/EP/4

<160> 32

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1

<211> 1479

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> fuente

<222> 1..1479

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Homo sapiens"

<220>

<221> CDS

<222> 1..1479

<223> /tabla de traducción=1

<400> 1

```
atg gag ccc agc agc aag aag ctg acg ggt cgc ctc atg ctg gct gtg      48
Met Glu Pro Ser Ser Lys Lys Leu Thr Gly Arg Leu Met Leu Ala Val
1               5                   10                  15

gga gga gca gtg ctt ggc tcc ctg cag ttt ggc tac aac act gga gtc      96
Gly Gly Ala Val Leu Gly Ser Leu Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val
            20                  25                  30

atc aat gcc ccc cag aag gtg atc gag gag ttc tac aac cag aca tgg     144
Ile Asn Ala Pro Gln Lys Val Ile Glu Glu Phe Tyr Asn Gln Thr Trp
        35                  40                  45

gtc cac cgc tat ggg gag agc atc ctg ccc acc acg ctc acc acg ctc     192
Val His Arg Tyr Gly Glu Ser Ile Leu Pro Thr Thr Leu Thr Thr Leu
    50                  55                  60

tgg tcc ctc tca gtg gcc atc ttt tct gtt ggg ggc atg att ggc tcc     240
Trp Ser Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser
65                  70                  75                  80

ttc tct gtg ggc ctt ttc gtt aac cgc ttt ggc cgg cgg aat tca atg     288
Phe Ser Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met
                85                  90                  95

ctg atg atg aac ctg ctg gcc ttc gtg tcc gcc gtg ctc atg ggc ttc     336
Leu Met Met Asn Leu Leu Ala Phe Val Ser Ala Val Leu Met Gly Phe
            100                 105                 110

tcg aaa ctg ggc aag tcc ttt gag atg ctg atc ctg ggc cgc ttc atc     384
Ser Lys Leu Gly Lys Ser Phe Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Phe Ile
        115                 120                 125

atc ggt gtg tac tgc ggc ctg acc aca ggc ttc gtg ccc atg tat gtg     432
Ile Gly Val Tyr Cys Gly Leu Thr Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Val
```

```
    130                 135                 140

ggt gaa gtg tca ccc aca gcc ttt cgt ggg gcc ctg ggc acc ctg cac     480
Gly Glu Val Ser Pro Thr Ala Phe Arg Gly Ala Leu Gly Thr Leu His
145                 150                 155                 160

cag ctg ggc atc gtc gtc ggc atc ctc atc gcc cag gtg ttc ggc ctg     528
Gln Leu Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Ile Ala Gln Val Phe Gly Leu
                165                 170                 175

gac tcc atc atg ggc aac aag gac ctg tgg ccc ctg ctg ctg agc atc     576
Asp Ser Ile Met Gly Asn Lys Asp Leu Trp Pro Leu Leu Leu Ser Ile
            180                 185                 190

atc ttc atc ccg gcc ctg ctg cag tgc atc gtg ctg ccc ttc tgc ccc     624
Ile Phe Ile Pro Ala Leu Leu Gln Cys Ile Val Leu Pro Phe Cys Pro
        195                 200                 205

gag agt ccc cgc ttc ctg ctc atc aac cgc aac gag gag aac cgg gcc     672
Glu Ser Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Asn Glu Glu Asn Arg Ala
    210                 215                 220

aag agt gtg cta aag aag ctg cgc ggg aca gct gac gtg acc cat gac     720
Lys Ser Val Leu Lys Lys Leu Arg Gly Thr Ala Asp Val Thr His Asp
225                 230                 235                 240

ctg cag gag atg aag gaa gag agt cgg cag atg atg cgg gag aag aag     768
Leu Gln Glu Met Lys Glu Glu Ser Arg Gln Met Met Arg Glu Lys Lys
                245                 250                 255

gtc acc atc ctg gag ctg ttc cgc tcc ccc gcc tac cgc cag ccc atc     816
Val Thr Ile Leu Glu Leu Phe Arg Ser Pro Ala Tyr Arg Gln Pro Ile
            260                 265                 270

ctc atc gct gtg gtg ctg cag ctg tcc cag cag ctg tct ggc atc aac     864
Leu Ile Ala Val Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn
        275                 280                 285

gct gtc ttc tat tac tcc acg agc atc ttc gag aag gcg ggg gtg cag     912
Ala Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Ser Ile Phe Glu Lys Ala Gly Val Gln
    290                 295                 300

cag cct gtg tat gcc acc att ggc tcc ggt atc gtc aac acg gcc ttc     960
Gln Pro Val Tyr Ala Thr Ile Gly Ser Gly Ile Val Asn Thr Ala Phe
305                 310                 315                 320

act gtc gtg tcg ctg ttt gtg gtg gag cga gca ggc cgg cgg acc ctg    1008
Thr Val Val Ser Leu Phe Val Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu
                325                 330                 335

cac ctc ata ggc ctc gct ggc atg gcg ggt tgt gcc ata ctc atg acc    1056
His Leu Ile Gly Leu Ala Gly Met Ala Gly Cys Ala Ile Leu Met Thr
            340                 345                 350

atc gcg cta gca ctg ctg gag cag cta ccc tgg atg tcc tat ctg agc    1104
Ile Ala Leu Ala Leu Leu Glu Gln Leu Pro Trp Met Ser Tyr Leu Ser
        355                 360                 365

atc gtg gcc atc ttt ggc ttt gtg gcc ttc ttt gaa gtg ggt cct ggc    1152
Ile Val Ala Ile Phe Gly Phe Val Ala Phe Phe Glu Val Gly Pro Gly
    370                 375                 380

ccc atc cca tgg ttc atc gtg gct gaa ctc ttc agc cag ggt cca cgt    1200
```

```
Pro Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg
385                 390                 395                 400

cca gct gcc att gcc gtt gca ggc ttc tcc aac tgg acc tca aat ttc    1248
Pro Ala Ala Ile Ala Val Ala Gly Phe Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe
                405                 410                 415

att gtg ggc atg tgc ttc cag tat gtg gag caa ctg tgt ggt ccc tac    1296
Ile Val Gly Met Cys Phe Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys Gly Pro Tyr
            420                 425                 430

gtc ttc atc atc ttc act gtg ctc ctg gtt ctg ttc ttc atc ttc acc    1344
Val Phe Ile Ile Phe Thr Val Leu Leu Val Leu Phe Phe Ile Phe Thr
        435                 440                 445

tac ttc aaa gtt cct gag act aaa ggc cgg acc ttc gat gag atc gct    1392
Tyr Phe Lys Val Pro Glu Thr Lys Gly Arg Thr Phe Asp Glu Ile Ala
    450                 455                 460

tcc ggc ttc cgg cag ggg gga gcc agc caa agt gat aag aca ccc gag    1440
Ser Gly Phe Arg Gln Gly Gly Ala Ser Gln Ser Asp Lys Thr Pro Glu
465                 470                 475                 480

gag ctg ttc cat ccc ctg ggg gct gat tcc caa gtg tga                1479
Glu Leu Phe His Pro Leu Gly Ala Asp Ser Gln Val
                485                 490
```

<210> 2

<211> 492

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> [CDS]:1..1479 de la SEQ ID NO 1

<400> 2

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

```
    210                 215                 220
Lys Ser Val Leu Lys Lys Leu Arg Gly Thr Ala Asp Val Thr His Asp
225                 230                 235                 240
Leu Gln Glu Met Lys Glu Glu Ser Arg Gln Met Met Arg Glu Lys Lys
                245                 250                 255
Val Thr Ile Leu Glu Leu Phe Arg Ser Pro Ala Tyr Arg Gln Pro Ile
            260                 265                 270
Leu Ile Ala Val Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn
        275                 280                 285
Ala Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Ser Ile Phe Glu Lys Ala Gly Val Gln
    290                 295                 300
Gln Pro Val Tyr Ala Thr Ile Gly Ser Gly Ile Val Asn Thr Ala Phe
305                 310                 315                 320
Thr Val Val Ser Leu Phe Val Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu
                325                 330                 335
His Leu Ile Gly Leu Ala Gly Met Ala Gly Cys Ala Ile Leu Met Thr
            340                 345                 350
Ile Ala Leu Ala Leu Leu Glu Gln Leu Pro Trp Met Ser Tyr Leu Ser
        355                 360                 365
Ile Val Ala Ile Phe Gly Phe Val Ala Phe Phe Glu Val Gly Pro Gly
    370                 375                 380
Pro Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg
385                 390                 395                 400
Pro Ala Ala Ile Ala Val Ala Gly Phe Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe
                405                 410                 415
Ile Val Gly Met Cys Phe Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys Gly Pro Tyr
            420                 425                 430
Val Phe Ile Ile Phe Thr Val Leu Leu Val Leu Phe Phe Ile Phe Thr
        435                 440                 445
Tyr Phe Lys Val Pro Glu Thr Lys Gly Arg Thr Phe Asp Glu Ile Ala
    450                 455                 460
Ser Gly Phe Arg Gln Gly Gly Ala Ser Gln Ser Asp Lys Thr Pro Glu
465                 470                 475                 480
Glu Leu Phe His Pro Leu Gly Ala Asp Ser Gln Val
                485                 490
```

<210> 3

<211> 924

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..924

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..924

<223> /tabla de traducción=1

<400> 3

```
atg ggt aag ttt ctc gcc act ttg att tta ttc ttc cag ttc tgc ccc     48
Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro
1               5                   10                  15

ctc atc ctc ggt gat tac agc ccc agc tgc tgt act ctc aca att gga     96
Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly
            20                  25                  30

gtc tcc tca tac cac tct aaa ccc tgc aat cct gcc cag cca gtt tgt    144
Val Ser Ser Tyr His Ser Lys Pro Cys Asn Pro Ala Gln Pro Val Cys
```

```
        35                  40                  45

tcg tgg acc ctc gac ctg ctg gcc ctt tca gcg gat cag gcc cta cag    192
Ser Trp Thr Leu Asp Leu Leu Ala Leu Ser Ala Asp Gln Ala Leu Gln
    50                  55                  60

ccc ccc tgc cct aat cta gta agt tac tcc agc tac cat gcc acc tat    240
Pro Pro Cys Pro Asn Leu Val Ser Tyr Ser Ser Tyr His Ala Thr Tyr
65                  70                  75                  80

tcc cta tat cta ttc cct cat tgg att aaa aag cca aac cga aat ggc    288
Ser Leu Tyr Leu Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly
                85                  90                  95

gga ggc tat tat tca gcc tct tat tca gac cct tgt tcc tta aag tgc    336
Gly Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys
            100                 105                 110

cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc    384
Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val
        115                 120                 125

tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag caa gat gtc aat ttt act caa gaa    432
Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu
    130                 135                 140

gtt tca cgc ctc aat att aat ctc cat ttt tca aaa tgc ggt ttt ccc    480
Val Ser Arg Leu Asn Ile Asn Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Phe Pro
145                 150                 155                 160

ttc tcc ctt cta gtc gac gct cca gga tat gac ccc atc tgg ttc ctt    528
Phe Ser Leu Leu Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Trp Phe Leu
                165                 170                 175

aat acc gaa ccc agc caa ctg cct ccc acc gcc cct cct cta ctc ccc    576
Asn Thr Glu Pro Ser Gln Leu Pro Pro Thr Ala Pro Pro Leu Leu Pro
            180                 185                 190

cac tct aac cta gac cac atc ctc gag ccc tct ata cca tgg aaa tca    624
His Ser Asn Leu Asp His Ile Leu Glu Pro Ser Ile Pro Trp Lys Ser
        195                 200                 205

aaa ctc ctg acc ctt gtc cag tta acc cta caa agc act aat tat act    672
Lys Leu Leu Thr Leu Val Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Thr
    210                 215                 220

tgc att gtc tgt atc gat cgt gcc agc cta tcc act tgg cac gtc cta    720
Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Leu Ser Thr Trp His Val Leu
225                 230                 235                 240

tac tct ccc aac gtc tct gtt cca tcc tct tct tct acc ccc ctc ctt    768
Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu
                245                 250                 255

tac cca tcg tta gcg ctt cca gcc ccc cac ctg acg tta cca ttt aac    816
Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn
            260                 265                 270

tgg acc cac tgc ttt gac ccc cag att caa gct ata gtc tcc tcc ccc    864
Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro
        275                 280                 285

tgt cat aac tcc ctc atc ctg ccc ccc ttt tcc ttg tca cct gtt ccc    912
```

```
Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro
    290                 295                 300

acc cta gga tcc                                                 924
Thr Leu Gly Ser
305
```

<210> 4

<211> 308

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..924 de la SEQ ID NO 3

<400> 4

```
Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro
1               5                   10                  15
Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly
            20                  25                  30
Val Ser Ser Tyr His Ser Lys Pro Cys Asn Pro Ala Gln Pro Val Cys
        35                  40                  45
Ser Trp Thr Leu Asp Leu Leu Ala Leu Ser Ala Asp Gln Ala Leu Gln
    50                  55                  60
Pro Pro Cys Pro Asn Leu Val Ser Tyr Ser Ser Tyr His Ala Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Ser Leu Tyr Leu Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys
            100                 105                 110
Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val
        115                 120                 125
Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu
    130                 135                 140
Val Ser Arg Leu Asn Ile Asn Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Phe Pro
145                 150                 155                 160
Phe Ser Leu Leu Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Trp Phe Leu
                165                 170                 175
Asn Thr Glu Pro Ser Gln Leu Pro Pro Thr Ala Pro Pro Leu Leu Pro
            180                 185                 190
His Ser Asn Leu Asp His Ile Leu Glu Pro Ser Ile Pro Trp Lys Ser
        195                 200                 205
Lys Leu Leu Thr Leu Val Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Thr
    210                 215                 220
Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Leu Ser Thr Trp His Val Leu
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu
                245                 250                 255
Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn
            260                 265                 270
Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro
        275                 280                 285
Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro
    290                 295                 300
Thr Leu Gly Ser
305
```

<210> 5

<211> 912

<212> ADN

<213> Virus tipo 2 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..912

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 2 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..912

<223> /tabla de traducción=1

<400> 5

```
atg ggt aac gtt ttc ttc cta ctt tta ttc agt ctc aca cac ttc cca     48
Met Gly Asn Val Phe Phe Leu Leu Leu Phe Ser Leu Thr His Phe Pro
1               5                   10                  15

cca gtc cag cag agc cga tgc aca ctc acg gtt ggt att tcc tcc tac     96
Pro Val Gln Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

cac tcc agc ccc tgt agc cca acc caa ccc gtc tgc acg tgg aac ctc    144
His Ser Ser Pro Cys Ser Pro Thr Gln Pro Val Cys Thr Trp Asn Leu
        35                  40                  45

gac ctt aat tcc cta acg acg gac cag cga cta cat ccc ccc tgc cct    192
Asp Leu Asn Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu His Pro Pro Cys Pro
    50                  55                  60

aac cta att act tac tct ggc ttc cac aaa act tat tcc tta tac tta    240
Asn Leu Ile Thr Tyr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80

ttc cca cat tgg ata aag aag cca aat aga cag ggc cta gga tac tac    288
Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr
                85                  90                  95

tcg ccc tcc tat aat gac cct tgc tcg cta caa tgc ccc tac tta ggc    336
Ser Pro Ser Tyr Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly
            100                 105                 110

tgc caa tca tgg aca tgc cca tac acg ggc ccc gtc tcc agt cca tcc    384
Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Ser
        115                 120                 125

tgg aag ttt cac tca gat gta aat ttc acc caa gaa gtc agc caa gtg    432
Trp Lys Phe His Ser Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Ser Gln Val
    130                 135                 140

tcc ctt cga cta cac ttc tct aag tgc ggc tcc tcc atg acc ctt cta    480
Ser Leu Arg Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu
145                 150                 155                 160

gta gat gcc cct gga tat gat cct tta tgg ttc atc acc tca gaa ccc    528
Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Thr Ser Glu Pro
                165                 170                 175

act cag cct ccc cca act cct ccc cca ctg gtc cat gac tcc gac ctt    576
Thr Gln Pro Pro Pro Thr Pro Pro Pro Leu Val His Asp Ser Asp Leu
            180                 185                 190

gaa cac gtc cta acc ccc tcc acg tct tgg aca acc aaa atg ctc aag    624
Glu His Val Leu Thr Pro Ser Thr Ser Trp Thr Thr Lys Met Leu Lys
        195                 200                 205
```

```
ttt atc cag ctg acc ttg cag agc acc aat tac tcc tgc atg gtt tgc    672
Phe Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys
    210                 215                 220

gtg gat aga tcc agc ctc tca tcc tgg cat gtg ctc tac acc ccc aac    720
Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn
225                 230                 235                 240

atc tcc att ccc caa caa acc tcc tcc cga acc atc ctc ttt cct tct    768
Ile Ser Ile Pro Gln Gln Thr Ser Ser Arg Thr Ile Leu Phe Pro Ser
                245                 250                 255

ctt gcc ctg ccc gct cct cca ttc caa ccc ttc cct tgg acc cat tgc    816
Leu Ala Leu Pro Ala Pro Pro Phe Gln Pro Phe Pro Trp Thr His Cys
            260                 265                 270

tac caa cct cgc cta cag gca ata acg aca gat gac tgc aac aac tcc    864
Tyr Gln Pro Arg Leu Gln Ala Ile Thr Thr Asp Asp Cys Asn Asn Ser
        275                 280                 285

att atc ctc ccc cct ttt tcc ctc gcc ccc gta cct cct ccg gcg aca    912
Ile Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ala Pro Val Pro Pro Pro Ala Thr
    290                 295                 300
```

<210> 6

<211> 304

<212> PRT

<213> Virus tipo 2 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..912 de la SEQ ID NO 5

<400> 6

```
Met Gly Asn Val Phe Phe Leu Leu Leu Phe Ser Leu Thr His Phe Pro
1               5                  10                  15
Pro Val Gln Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
His Ser Ser Pro Cys Ser Pro Thr Gln Pro Val Cys Thr Trp Asn Leu
        35                  40                  45
Asp Leu Asn Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu His Pro Pro Cys Pro
    50                  55                  60
Asn Leu Ile Thr Tyr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr
                85                  90                  95
Ser Pro Ser Tyr Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly
            100                 105                 110
Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Ser
        115                 120                 125
Trp Lys Phe His Ser Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Ser Gln Val
    130                 135                 140
Ser Leu Arg Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu
145                 150                 155                 160
Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Thr Ser Glu Pro
                165                 170                 175
Thr Gln Pro Pro Pro Thr Pro Pro Pro Leu Val His Asp Ser Asp Leu
            180                 185                 190
Glu His Val Leu Thr Pro Ser Thr Ser Trp Thr Thr Lys Met Leu Lys
        195                 200                 205
Phe Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys
    210                 215                 220
Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn
225                 230                 235                 240
Ile Ser Ile Pro Gln Gln Thr Ser Ser Arg Thr Ile Leu Phe Pro Ser
                245                 250                 255
Leu Ala Leu Pro Ala Pro Pro Phe Gln Pro Phe Pro Trp Thr His Cys
            260                 265                 270
Tyr Gln Pro Arg Leu Gln Ala Ile Thr Thr Asp Asp Cys Asn Asn Ser
        275                 280                 285
Ile Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ala Pro Val Pro Pro Pro Ala Thr
    290                 295                 300
```

<210> 7

<211> 1467

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T de simio

<220>

<221> fuente

<222> 1..1467

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T de simio"

<220>

<221> CDS

<222> 1..1467

<223> /tabla de traducción=1

<400> 7

```
atg ggt aag ttt ctc gcc act ttg att tta ttc ttc cag ttc tgc ccc      48
Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro
1               5                  10                  15

ctc att ctc ggt gat tac agc ccc agc tgc tgt act ctc aca att gga      96
Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly
            20                  25                  30

gtc tcc tca tac ctc tct aaa ccc tgc aat cct gcc cag cca gtt tgt     144
Val Ser Ser Tyr Leu Ser Lys Pro Cys Asn Pro Ala Gln Pro Val Cys
        35                  40                  45

tca tgg acc ctc gac cta ctg gcc ctt tca gca gac caa gcc cta cag     192
Ser Trp Thr Leu Asp Leu Leu Ala Leu Ser Ala Asp Gln Ala Leu Gln
    50                  55                  60

ccc ccc tgc cct aat cta gta agt tac tcc agc tac cat gcc acc tat     240
Pro Pro Cys Pro Asn Leu Val Ser Tyr Ser Ser Tyr His Ala Thr Tyr
65                  70                  75                  80

tcc cta tat cta ttc cct cat tgg att aaa aag cca aac cga aat ggc     288
Ser Leu Tyr Leu Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly
                85                  90                  95

gga ggc tat tat tcg gcc tct tat tca gac cca tgt tct tta aag tgc     336
Gly Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys
            100                 105                 110

cca tac tta ggg tgc caa tca tgg acc tgc ccc tat aca gga gtc gtc     384
Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Val Val
        115                 120                 125

tcc agc ccc tat tgg aaa ttt cag caa gat gtc aat ttt act caa gaa     432
Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu
    130                 135                 140
```

```
gtt tca cac ctc aat att aat ctc cat ttc tca aaa tgc ggt ttt ccc     480
Val Ser His Leu Asn Ile Asn Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Phe Pro
145                 150                 155                 160

ttc tcc ctt cta atc gac gct cca gga tat gac ccc atc tgg ttc ctt     528
Phe Ser Leu Leu Ile Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Trp Phe Leu
                165                 170                 175

aat acc gaa ccc agc caa ctg cct ccc acc gcc cct cct cta ctc ccc     576
Asn Thr Glu Pro Ser Gln Leu Pro Pro Thr Ala Pro Pro Leu Leu Pro
            180                 185                 190

cac tct aac ctg gac cac atc ctc gag ccc tct ata cca tgg aaa tca     624
His Ser Asn Leu Asp His Ile Leu Glu Pro Ser Ile Pro Trp Lys Ser
        195                 200                 205

aaa ctt ctg act ctt gtc cag cta acc cta caa agc act aat tac act     672
Lys Leu Leu Thr Leu Val Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Thr
    210                 215                 220

tgc atc gtc tgt ata gac cgt gcc agc ctc tct act tgg cat gtc ctg     720
Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Leu Ser Thr Trp His Val Leu
225                 230                 235                 240

tac tct ccc aac gtc tct gtt ccg tcc tct tct tct acc ccc ctc ctt     768
Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu
                245                 250                 255

tac ccg tcg tta gcg ctt cca gct ccc cac ctg acg cta cca ttt aac     816
Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn
            260                 265                 270

tgg acc cac tgc ttt gac ccc cag att caa gct ata gtc tcc tcc ccc     864
Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro
        275                 280                 285

tgt cat aac tcc ctc atc ctg ccc ccc ttt tcc ttg tca cct gtt ccc     912
Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro
    290                 295                 300

acc cta gga tcc cgc tcc cgc cga gcg gta ccg gtg gcg gtc tgg ctt     960
Thr Leu Gly Ser Arg Ser Arg Arg Ala Val Pro Val Ala Val Trp Leu
305                 310                 315                 320

gtc tcc gcc ctg gcc atg gga gcc gga att gct ggc ggg att acc ggc    1008
Val Ser Ala Leu Ala Met Gly Ala Gly Ile Ala Gly Gly Ile Thr Gly
                325                 330                 335

tcc atg tcc ctc gcc tca gga aag agc ctc cta cat gag gtg gac aaa    1056
Ser Met Ser Leu Ala Ser Gly Lys Ser Leu Leu His Glu Val Asp Lys
            340                 345                 350

gat att tcc caa tta act caa gca ata gtc aaa aac cac aaa aat cta    1104
Asp Ile Ser Gln Leu Thr Gln Ala Ile Val Lys Asn His Lys Asn Leu
        355                 360                 365

ctc aaa att gca cag tat gct gcc cag aac agg cga ggc ctt gat ctc    1152
Leu Lys Ile Ala Gln Tyr Ala Ala Gln Asn Arg Arg Gly Leu Asp Leu
    370                 375                 380

ctg ttc tgg gag caa gga gga tta tgc aaa gca tta caa gaa cag tgc    1200
Leu Phe Trp Glu Gln Gly Gly Leu Cys Lys Ala Leu Gln Glu Gln Cys
```

```
385                 390                 395                 400

tgt ttt cta aat att acc aat tcc cat gtc tca ata cta caa gaa aga    1248
Cys Phe Leu Asn Ile Thr Asn Ser His Val Ser Ile Leu Gln Glu Arg
                405                 410                 415

ccc ccc ctt gag aat cga gtc ctc act ggc tgg ggc ctt aac tgg gac    1296
Pro Pro Leu Glu Asn Arg Val Leu Thr Gly Trp Gly Leu Asn Trp Asp
            420                 425                 430

ctt ggc ctc tca cag tgg gct cga gag gcc tta caa act ggg atc acc    1344
Leu Gly Leu Ser Gln Trp Ala Arg Glu Ala Leu Gln Thr Gly Ile Thr
        435                 440                 445

ctt gtt gca cta ctc ctt ctc gtt atc ctt gca gga cca tgc atc ctc    1392
Leu Val Ala Leu Leu Leu Leu Val Ile Leu Ala Gly Pro Cys Ile Leu
    450                 455                 460

cgt cag ctg cga cac ctc ccc tcg cgc gtc aga tac ccc cat tat tct    1440
Arg Gln Leu Arg His Leu Pro Ser Arg Val Arg Tyr Pro His Tyr Ser
465                 470                 475                 480

ctt ata aac cct gag tca tcc ctg taa                                1467
Leu Ile Asn Pro Glu Ser Ser Leu
                485
```

<210> 8

<211> 488

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T de simio

<220>

<223> [CDS]:1..1467 de la SEQ ID NO 7

<400> 8

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

```
Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Leu Ser Thr Trp His Val Leu
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu
                245                 250                 255
Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn
            260                 265                 270
Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro
        275                 280                 285
Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro
    290                 295                 300
Thr Leu Gly Ser Arg Ser Arg Arg Ala Val Pro Val Ala Val Trp Leu
305                 310                 315                 320
Val Ser Ala Leu Ala Met Gly Ala Gly Ile Ala Gly Gly Ile Thr Gly
                325                 330                 335
Ser Met Ser Leu Ala Ser Gly Lys Ser Leu Leu His Glu Val Asp Lys
            340                 345                 350
Asp Ile Ser Gln Leu Thr Gln Ala Ile Val Lys Asn His Lys Asn Leu
        355                 360                 365
Leu Lys Ile Ala Gln Tyr Ala Ala Gln Asn Arg Arg Gly Leu Asp Leu
    370                 375                 380
Leu Phe Trp Glu Gln Gly Gly Leu Cys Lys Ala Leu Gln Glu Gln Cys
385                 390                 395                 400
Cys Phe Leu Asn Ile Thr Asn Ser His Val Ser Ile Leu Gln Glu Arg
                405                 410                 415
Pro Pro Leu Glu Asn Arg Val Leu Thr Gly Trp Gly Leu Asn Trp Asp
            420                 425                 430
Leu Gly Leu Ser Gln Trp Ala Arg Glu Ala Leu Gln Thr Gly Ile Thr
        435                 440                 445
Leu Val Ala Leu Leu Leu Leu Val Ile Leu Ala Gly Pro Cys Ile Leu
    450                 455                 460
Arg Gln Leu Arg His Leu Pro Ser Arg Val Arg Tyr Pro His Tyr Ser
465                 470                 475                 480
Leu Ile Asn Pro Glu Ser Ser Leu
                485
```

<210> 9

<211> 1461

<212> ADN

<213> Virus tipo 2 linfotrópico de células T de simio

<220>

<221> fuente

<222> 1..1461

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 2 linfotrópico de células T de simio"

<220>

<221> CDS

<222> 1..1461

<223> /tabla de traducción=1

<400> 9

```
atg ggt aag ata att gct ttc ctt tta ttc cat ctt aca tgt atc aca      48
Met Gly Lys Ile Ile Ala Phe Leu Leu Phe His Leu Thr Cys Ile Thr
1               5                   10                  15

atc act aaa cag agc cgg tgc acg ctt acg gta ggt gtc tcc tcg tat      96
Ile Thr Lys Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

cac tct agt ccc tgc agt ctt gcc caa cct atc tgc acc tgg gat ctc     144
His Ser Ser Pro Cys Ser Leu Ala Gln Pro Ile Cys Thr Trp Asp Leu
        35                  40                  45
```

```
gac ctt cat tcc tta act aca gac caa cgt ctg tac cct cca tgc ccc     192
Asp Leu His Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu Tyr Pro Pro Cys Pro
    50                  55                  60

aat cta gtt tct tac tct aac ttc cac aag tcc tac tcc tta tat ttg     240
Asn Leu Val Ser Tyr Ser Asn Phe His Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80

ttc ccg cac tgg gta aaa aag cca aat aga caa ggc ctg gga tac tat     288
Phe Pro His Trp Val Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr
                85                  90                  95

tct gca tcc tac agc gac ccc tgc tcg ctc cag tgc cct tat tta gga     336
Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly
            100                 105                 110

agc cag tct tgg aca tgc cct tac acc ggc ccc atc tcc agc ccg tct     384
Ser Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Ile Ser Ser Pro Ser
        115                 120                 125

tgg agg ttc cac cga gat gtt aac ttc acc caa gag gtc aac cat gta     432
Trp Arg Phe His Arg Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Asn His Val
    130                 135                 140

acc ctc cgg cta cac ttc tcc cga tgt ggc tct tct atg acc ctc ctc     480
Thr Leu Arg Leu His Phe Ser Arg Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu
145                 150                 155                 160

ata gac gcc cca ggc tac gac ccc ctg tgg ttc atc tct tcg gaa ccc     528
Ile Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Ser Ser Glu Pro
                165                 170                 175

act cag ccc ccc ccc act tcc cca cca tta gtc cgc gac tct gac ctt     576
Thr Gln Pro Pro Pro Thr Ser Pro Pro Leu Val Arg Asp Ser Asp Leu
            180                 185                 190

gaa cat atc tta acc ccc tcc tcc tcc tgg gct act agg atg cta acc     624
Glu His Ile Leu Thr Pro Ser Ser Ser Trp Ala Thr Arg Met Leu Thr
        195                 200                 205

ctc atc caa cta act cta caa agt acc aat tat tct tgc atg gtt tgt     672
Leu Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys
    210                 215                 220

ata gac aga acc agc ttg tcg tcc tgg cac gta ctc tat acc cct aat     720
Ile Asp Arg Thr Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn
225                 230                 235                 240

atc tct gcc tca cct ggg ggc gac tcc ttg cct ata ctt tat ccc tcc     768
Ile Ser Ala Ser Pro Gly Gly Asp Ser Leu Pro Ile Leu Tyr Pro Ser
                245                 250                 255

ttg gcc cta ccg gcc ccc caa ccc cag ccg ttt tcc tgg tct cac tgt     816
Leu Ala Leu Pro Ala Pro Gln Pro Gln Pro Phe Ser Trp Ser His Cys
            260                 265                 270

tac cag ccc cac cta cag gca gta act aca gcc aat tgc aac aat tcc     864
Tyr Gln Pro His Leu Gln Ala Val Thr Thr Ala Asn Cys Asn Asn Ser
        275                 280                 285

att gtc ctg ccc cca ttc tct ctc acc ccg gtg cct tcc cct ggg aca     912
Ile Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Thr Pro Val Pro Ser Pro Gly Thr
```

```
    290                 295                 300

aga agc cgc cgg gct att cca gtg gct gta tgg ctc gtc tca gcc cta     960
Arg Ser Arg Arg Ala Ile Pro Val Ala Val Trp Leu Val Ser Ala Leu
305                 310                 315                 320

gcg gcc ggg act ggt att gca ggg gga ata acc gga tcc ctg tcc cta    1008
Ala Ala Gly Thr Gly Ile Ala Gly Gly Ile Thr Gly Ser Leu Ser Leu
                325                 330                 335

gca tca agc cgc agc ctg ctt ttt gaa gtt gac aaa gat att tcc cac    1056
Ala Ser Ser Arg Ser Leu Leu Phe Glu Val Asp Lys Asp Ile Ser His
            340                 345                 350

ctc aca caa gcc atc gtt aaa aac cat caa aac atc ctc cgc gta gca    1104
Leu Thr Gln Ala Ile Val Lys Asn His Gln Asn Ile Leu Arg Val Ala
        355                 360                 365

caa tat gca gcc caa aat aga aga gga cta gac ctc ctg ttt tgg gaa    1152
Gln Tyr Ala Ala Gln Asn Arg Arg Gly Leu Asp Leu Leu Phe Trp Glu
    370                 375                 380

caa gga ggc ctc tgc aaa gcc ata caa gag caa tgt tgc ttc ctt aac    1200
Gln Gly Gly Leu Cys Lys Ala Ile Gln Glu Gln Cys Cys Phe Leu Asn
385                 390                 395                 400

atc agc aac acc cat gtg tcc gtc ctt cag gag cgc ccc ccc ctg gaa    1248
Ile Ser Asn Thr His Val Ser Val Leu Gln Glu Arg Pro Pro Leu Glu
                405                 410                 415

aag aga gtc atc aca gga tgg ggt ctc aac tgg gac cta ggg cta tcc    1296
Lys Arg Val Ile Thr Gly Trp Gly Leu Asn Trp Asp Leu Gly Leu Ser
            420                 425                 430

caa tgg gca cgg gaa gca ctc caa act ggt ata acc atc cta gcc ttg    1344
Gln Trp Ala Arg Glu Ala Leu Gln Thr Gly Ile Thr Ile Leu Ala Leu
        435                 440                 445

ctc ctc ctt gtc ata ctg ttc ggt cct tgt atc ctt cgc caa ctc caa    1392
Leu Leu Leu Val Ile Leu Phe Gly Pro Cys Ile Leu Arg Gln Leu Gln
    450                 455                 460

tca ctt ccc cac cgg cta cag aac agg cac aac caa tac tct ctt att    1440
Ser Leu Pro His Arg Leu Gln Asn Arg His Asn Gln Tyr Ser Leu Ile
465                 470                 475                 480

aac cag gaa acc aca cta taa                                        1461
Asn Gln Glu Thr Thr Leu
                485
```

<210> 10

<211> 486

<212> PRT

<213> Virus tipo 2 linfotrópico de células T de simio

<220>

<223> [CDS]:1..1461 de la SEQ ID NO 9

<400> 10

```
Met Gly Lys Ile Ile Ala Phe Leu Leu Phe His Leu Thr Cys Ile Thr
1               5                   10                  15
Ile Thr Lys Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
His Ser Ser Pro Cys Ser Leu Ala Gln Pro Ile Cys Thr Trp Asp Leu
        35                  40                  45
Asp Leu His Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu Tyr Pro Pro Cys Pro
    50                  55                  60
Asn Leu Val Ser Tyr Ser Asn Phe His Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Phe Pro His Trp Val Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr
                85                  90                  95
Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly
            100                 105                 110
Ser Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Ile Ser Ser Pro Ser
        115                 120                 125
Trp Arg Phe His Arg Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Asn His Val
    130                 135                 140
Thr Leu Arg Leu His Phe Ser Arg Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu
145                 150                 155                 160
Ile Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Ser Ser Glu Pro
                165                 170                 175
Thr Gln Pro Pro Pro Thr Ser Pro Pro Leu Val Arg Asp Ser Asp Leu
            180                 185                 190
Glu His Ile Leu Thr Pro Ser Ser Ser Trp Ala Thr Arg Met Leu Thr
        195                 200                 205
Leu Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys
    210                 215                 220
Ile Asp Arg Thr Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn
225                 230                 235                 240
Ile Ser Ala Ser Pro Gly Gly Asp Ser Leu Pro Ile Leu Tyr Pro Ser
                245                 250                 255
Leu Ala Leu Pro Ala Pro Gln Pro Gln Pro Phe Ser Trp Ser His Cys
            260                 265                 270
Tyr Gln Pro His Leu Gln Ala Val Thr Thr Ala Asn Cys Asn Asn Ser
        275                 280                 285
Ile Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Thr Pro Val Pro Ser Pro Gly Thr
    290                 295                 300
Arg Ser Arg Arg Ala Ile Pro Val Ala Val Trp Leu Val Ser Ala Leu
305                 310                 315                 320
Ala Ala Gly Thr Gly Ile Ala Gly Gly Ile Thr Gly Ser Leu Ser Leu
                325                 330                 335
Ala Ser Ser Arg Ser Leu Leu Phe Glu Val Asp Lys Asp Ile Ser His
            340                 345                 350
Leu Thr Gln Ala Ile Val Lys Asn His Gln Asn Ile Leu Arg Val Ala
        355                 360                 365
Gln Tyr Ala Ala Gln Asn Arg Arg Gly Leu Asp Leu Leu Phe Trp Glu
    370                 375                 380
Gln Gly Gly Leu Cys Lys Ala Ile Gln Glu Gln Cys Cys Phe Leu Asn
385                 390                 395                 400
Ile Ser Asn Thr His Val Ser Val Leu Gln Glu Arg Pro Pro Leu Glu
                405                 410                 415
Lys Arg Val Ile Thr Gly Trp Gly Leu Asn Trp Asp Leu Gly Leu Ser
            420                 425                 430
Gln Trp Ala Arg Glu Ala Leu Gln Thr Gly Ile Thr Ile Leu Ala Leu
        435                 440                 445
Leu Leu Leu Val Ile Leu Phe Gly Pro Cys Ile Leu Arg Gln Leu Gln
    450                 455                 460
Ser Leu Pro His Arg Leu Gln Asn Arg His Asn Gln Tyr Ser Leu Ile
465                 470                 475                 480
Asn Gln Glu Thr Thr Leu
                485
```

<210> 11

<211> 930

<212> ADN

<213> Virus tipo 3 linfotrópico de células T de simio

<220>

<221> fuente

<222> 1..930

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 3 linfotrópico de células T de simio"

<220>

<221> CDS

<222> 1..930

<223> /tabla de traducción=1

<400> 11

```
atg ggt aag ttt ggc ctt tat tgt ctt gtt cac ctt tac ata ctt ctc     48
Met Gly Lys Phe Gly Leu Tyr Cys Leu Val His Leu Tyr Ile Leu Leu
1               5                  10                  15

cct gcc tcc tct ggc aat ccc agt cgg tgc acc ctg ttc ata ggg gcc     96
Pro Ala Ser Ser Gly Asn Pro Ser Arg Cys Thr Leu Phe Ile Gly Ala
            20                  25                  30

tct tcc tac cac tcc agc cct tgc ggg tcc agc ctc cca cgg tgt acc    144
Ser Ser Tyr His Ser Ser Pro Cys Gly Ser Ser Leu Pro Arg Cys Thr
        35                  40                  45

tgg aat ctt gac cta ttc tcc ctc acg aaa gat caa agc cta agc ccc    192
Trp Asn Leu Asp Leu Phe Ser Leu Thr Lys Asp Gln Ser Leu Ser Pro
    50                  55                  60

cca tgt cca gac tta att act tac tca caa tac cac aag ccc tac tcc    240
Pro Cys Pro Asp Leu Ile Thr Tyr Ser Gln Tyr His Lys Pro Tyr Ser
65                  70                  75                  80

ctg tat gta ttc cct cat tgg ata act aaa cct aac cgc cgg ggc tta    288
Leu Tyr Val Phe Pro His Trp Ile Thr Lys Pro Asn Arg Arg Gly Leu
                85                  90                  95

ggt tac tat tcc gct tcc tac tca gac ccc tgt gcc ata cag tgc cct    336
Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ala Ile Gln Cys Pro
            100                 105                 110

tac ctg gga tgc cag tcg tgg aca tgc ccc tat acg ggc ccg gtg tcc    384
Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser
        115                 120                 125

agt ccg cat tgg aga tac acc tat gat ctt aac ttt acc cag gag gta    432
Ser Pro His Trp Arg Tyr Thr Tyr Asp Leu Asn Phe Thr Gln Glu Val
    130                 135                 140

tca tcc gtc tcc tta cac ttg cat ttc tcc aaa tgc gga tcc tcg ttc    480
Ser Ser Val Ser Leu His Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Phe
145                 150                 155                 160

tcc ttt cta cta gac gca cca gga tat gac cca gtg tgg ttc ctc tcc    528
Ser Phe Leu Leu Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Val Trp Phe Leu Ser
                165                 170                 175

tcc cag gcc aca cag gct cca ccc aca cct gcc cct ctc ata cgg gac    576
Ser Gln Ala Thr Gln Ala Pro Pro Thr Pro Ala Pro Leu Ile Arg Asp
            180                 185                 190

tca gat ctc cag tac att cta gaa ccg ccc att ccg tgg agc tct aag    624
Ser Asp Leu Gln Tyr Ile Leu Glu Pro Pro Ile Pro Trp Ser Ser Lys
```

```
        195                 200                 205

att ctt aac ctt atc ctc ctc acc cta aaa agc act aac tat tct tgc    672
Ile Leu Asn Leu Ile Leu Leu Thr Leu Lys Ser Thr Asn Tyr Ser Cys
    210                 215                 220

atg gtc tgt gtt gac cgc tcc agc cta tcc tca tgg cat gtc ctg tat    720
Met Val Cys Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr
225                 230                 235                 240

gga ccc act caa gtc ccc agt cca ccc gac ccc caa gcc cgg tct atc    768
Gly Pro Thr Gln Val Pro Ser Pro Pro Asp Pro Gln Ala Arg Ser Ile
                245                 250                 255

ctg cga cct gcc tta gct att ccc gcc agt aat atc acc ccc ccg ttt    816
Leu Arg Pro Ala Leu Ala Ile Pro Ala Ser Asn Ile Thr Pro Pro Phe
            260                 265                 270

cct tgg acc cat tgc tat cgc cct cct ccg caa gcc atc tcc tcg gag    864
Pro Trp Thr His Cys Tyr Arg Pro Pro Pro Gln Ala Ile Ser Ser Glu
        275                 280                 285

aat tgt aac aac tct gta gtg ctg ccc ccc ttt tct ctg tct cca att    912
Asn Cys Asn Asn Ser Val Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Ile
    290                 295                 300

cct aac gtc tcc aga ccc                                          930
Pro Asn Val Ser Arg Pro
305                 310
```

<210> 12

<211> 310

<212> PRT

<213> Virus tipo 3 linfotrópico de células T de simio

<220>

<223> [CDS]:1..930 de la SEQ ID NO 11

<400> 12

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

Ser Asp Leu Gln Tyr Ile Leu Glu Pro Pro Ile Pro Trp Ser Ser Lys
        195                 200                 205
Ile Leu Asn Leu Ile Leu Leu Thr Leu Lys Ser Thr Asn Tyr Ser Cys
    210                 215                 220
Met Val Cys Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr
225                 230                 235                 240
Gly Pro Thr Gln Val Pro Ser Pro Pro Asp Pro Gln Ala Arg Ser Ile
                245                 250                 255
Leu Arg Pro Ala Leu Ala Ile Pro Ala Ser Asn Ile Thr Pro Pro Phe
            260                 265                 270
Pro Trp Thr His Cys Tyr Arg Pro Pro Pro Gln Ala Ile Ser Ser Glu
        275                 280                 285
Asn Cys Asn Asn Ser Val Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Ile
    290                 295                 300
Pro Asn Val Ser Arg Pro
305                 310
```

<210> 13

<211> 153

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..153

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..153

<223> /tabla de traducción=1

<400> 13

```
att aaa aag cca aac cca aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat     48
Ile Lys Lys Pro Asn Pro Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg     96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag    144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45

caa gat gtc                                                        153
Gln Asp Val
    50
```

<210> 14

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..153 de la SEQ ID NO 13

<400> 14

```
Ile Lys Lys Pro Asn Pro Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30

Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45
Gln Asp Val
    50
```

<210> 15

<211> 153

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..153

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..153

<223> /tabla de traducción=1

<400> 15

```
gtt aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat     48
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg     96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag    144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45

caa gat gtc                                                        153
Gln Asp Val
    50
```

<210> 16

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..153 de la SEQ ID NO 15

<400> 16

```
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45
Gln Asp Val
    50
```

<210> 17

<211> 153

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..153

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..153

<223> /tabla de traducción=1

<400> 17

```
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat     48
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg     96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt caa    144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45

caa gat gtc                                                        153
Gln Asp Val
    50
```

<210> 18

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..153 de la SEQ ID NO 17

<400> 18

```
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45
Gln Asp Val
    50
```

<210> 19

<211> 153

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..153

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..153

<223> /tabla de traducción=1

<400> 19

```
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat     48
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
```

```
1               5                   10                  15

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg     96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30

acc tgc ccc tat aca gga ccc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag    144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45

caa gat gtc                                                        153
Gln Asp Val
    50
```

<210> 20

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..153 de la SEQ ID NO 19

<400> 20

```
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45
Gln Asp Val
    50
```

<210> 21

<211> 171

<212> ADN

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..171

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..171

<223> /tabla de traducción=1

<400> 21

```
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat cat tca gcc tct tat     48
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr His Ser Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15

tca gac cct tgt tcc tta aag tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg     96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30

acc tgc ccc tat gca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag    144
Thr Cys Pro Tyr Ala Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45

caa gat gtc aat ttt acc cag gaa gta                                171
Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val

                            50                  55
```

<210> 22

<211> 57

<212> PRT

<213> Virus tipo 1 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..171 de la SEQ ID NO 21

<400> 22

```
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr His Ser Ala Ser Tyr
1               5                   10                  15
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
            20                  25                  30
Thr Cys Pro Tyr Ala Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
        35                  40                  45
Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val
    50                  55
```

<210> 23

<211> 153

<212> ADN

<213> Virus tipo 2 linfotrópico de células T humanas

<220>

<221> fuente

<222> 1..153

<223> /tipo de molécula="ADN no asignado" /organismo="Virus tipo 2 linfotrópico de células T humanas"

<220>

<221> CDS

<222> 1..153

<223> /tabla de traducción=1

<400> 23

```
ata aga aag cca aac aga cag ggc cta ggg tac tac tcg cct tcc tac     48
Ile Arg Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr Ser Pro Ser Tyr
1               5                   10                  15

aat gac cct tgc tcg cta caa tgc ccc tac ttg ggc tcc caa tca tgg     96
Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Gln Ser Trp
            20                  25                  30

aca tgc cca tac acg gcc ccc gtc tcc act cca tcc tgg aat ttt cat    144
Thr Cys Pro Tyr Thr Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Trp Asn Phe His
        35                  40                  45

tca gat gta                                                        153
Ser Asp Val
    50
```

<210> 24

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus tipo 2 linfotrópico de células T humanas

<220>

<223> [CDS]:1..153 de la SEQ ID NO 23

<400> 24

```
Ile Arg Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr Ser Pro Ser Tyr

1               5                   10                  15
Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Gln Ser Trp
            20                  25                  30
Thr Cys Pro Tyr Thr Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Trp Asn Phe His
        35                  40                  45
Ser Asp Val
    50
```

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

```
Asn Ala Pro Gln Lys Val Ile Glu Glu Phe Tyr
1               5                   10
```

<210> 26

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

```
Asn Gln Thr Trp Val His Arg Tyr Gly Glu Ser Ile Leu Pro Thr Thr
1               5                   10                  15
Leu Thr Thr Leu Trp Ser
            20
```

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Asp Ser Ile Met Gly Asn Lys Asp Leu
1 5

<210> 29

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Tyr Ser Thr Ser Ile Phe Glu Lys Ala Gly Val Gln Gln Pro
1 5 10

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Glu Gln Leu Pro Trp Met Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys
1 5

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

```
Ile Val Gly Met Cys Phe Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys
1               5                   10
```

5

REIVINDICACIONES

1. Uso de polipéptidos en un método *in vitro* para diagnosticar el síndrome de deficiencia de la proteína transportadora de glucosa tipo I (GLUT1), en el que dichos polipéptidos consisten en las proteínas de la envoltura del PTLV, o fragmentos derivados de las mismas, seleccionándose dichos polipéptidos o fragmentos por su capacidad para unirse específicamente al transportador universal de glucosa en vertebrados GLUT1 que consiste en la SEQ ID NO: 2.

2. El uso de polipéptidos de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el método *in vitro* para diagnosticar el síndrome de deficiencia de GLUT1 comprende las siguientes etapas:

- poner en contacto una muestra biológica de un individuo con dicho polipéptido, estando dicho polipéptido opcionalmente marcado, o susceptible de ser reconocido por una molécula marcada, y

- determinar el nivel de dicho polipéptido unido a las células contenidas en la muestra biológica y comparar dicho nivel con el nivel de unión de dicho polipéptido a células contenidas en la muestra biológica de un individuo sano.

3. El uso de polipéptidos de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que los polipéptidos pueden unirse a al menos uno de los siguientes fragmentos de GLUT1:

- SEQ ID NO: 25: NAPQKVIEEFY,

- SEQ ID NO: 26: NQTWVHRYGESILPTTLTTLWS,

- SEQ ID NO: 27: KSFEMLILGR,

- SEQ ID NO: 28: DSIMGNKDL,

- SEQ ID NO: 29: YSTSIFEKAGVQQP,

- SEQ ID NO: 30: EQLPWMSYLS,

- SEQ ID NO: 31: QYVEQLC,

- SEQ ID NO: 32: IVGMCFQYVEQLC.

4. El uso de polipéptidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que los polipéptidos pueden unirse a al menos el siguiente fragmento de GLUT1:

- SEQ ID NO: 32: IVGMCFQYVEQLC.

5. El uso de polipéptidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que los polipéptidos de unión a GLUT1 se eligen entre los siguientes:

- la proteína de la envoltura del HTLV-1 expuesta por la SEQ ID NO: 4, o de la HTLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 6, o de la STLV-1 expuesta por la SEQ ID NO: 8, o de la STLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 10, o de la STLV-3 expuesta por la SEQ ID NO: 12,

- fragmentos de las proteínas de la envoltura del PTLV, estando dichos fragmentos de polipéptidos delimitados en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 1 a 90, o en la posición 75 a 90, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 135 a 245, o en la posición 135 a 150, de dichas proteínas de la envoltura del PTLV, expuesta por las SEQ ID NOs: 4, 6, 8, 10, 12,

- fragmentos de las proteínas de la envoltura del PTLV, correspondiendo dichos fragmentos a los siguientes polipéptidos:

  - el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 83 a 89, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 139 a 145, de la proteína de la envoltura de la cepa MT-2 del HTLV-1 expuesto por la SEQ ID NO: 4,

  - el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 79 a 85, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 135 a 141, de la proteína de la envoltura de la cepa NRA de HTLV- 2 expuesta por la SEQ ID NO: 6,

  - el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 83 a 89, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 139 a 145, de la proteína de la envoltura del STLV-1 expuesta por la SEQ ID NO: 8,

- el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 79 a 85, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 135 a 141, de la proteína de la envoltura del STLV-2 expuesta por la SEQ ID NO: 10,

- el polipéptido delimitado en su extremo terminal N por el aminoácido ubicado en la posición 82 a 88, y en su extremo terminal C por el aminoácido ubicado en la posición 138 a 144, de la proteína de la envoltura del STLV-3 expuesta por la SEQ ID NO: 12,

- el polipéptido que consiste en la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 14,

- el polipéptido que consiste en la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 16,

- el polipéptido que consiste en la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 18,

- el polipéptido que consiste en la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 20,

- el polipéptido que consiste en la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-1, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 22,

- el polipéptido que consiste en la proteína de la envoltura de una variante de HTLV-2, teniendo dicho polipéptido la siguiente secuencia SEQ ID NO: 24.

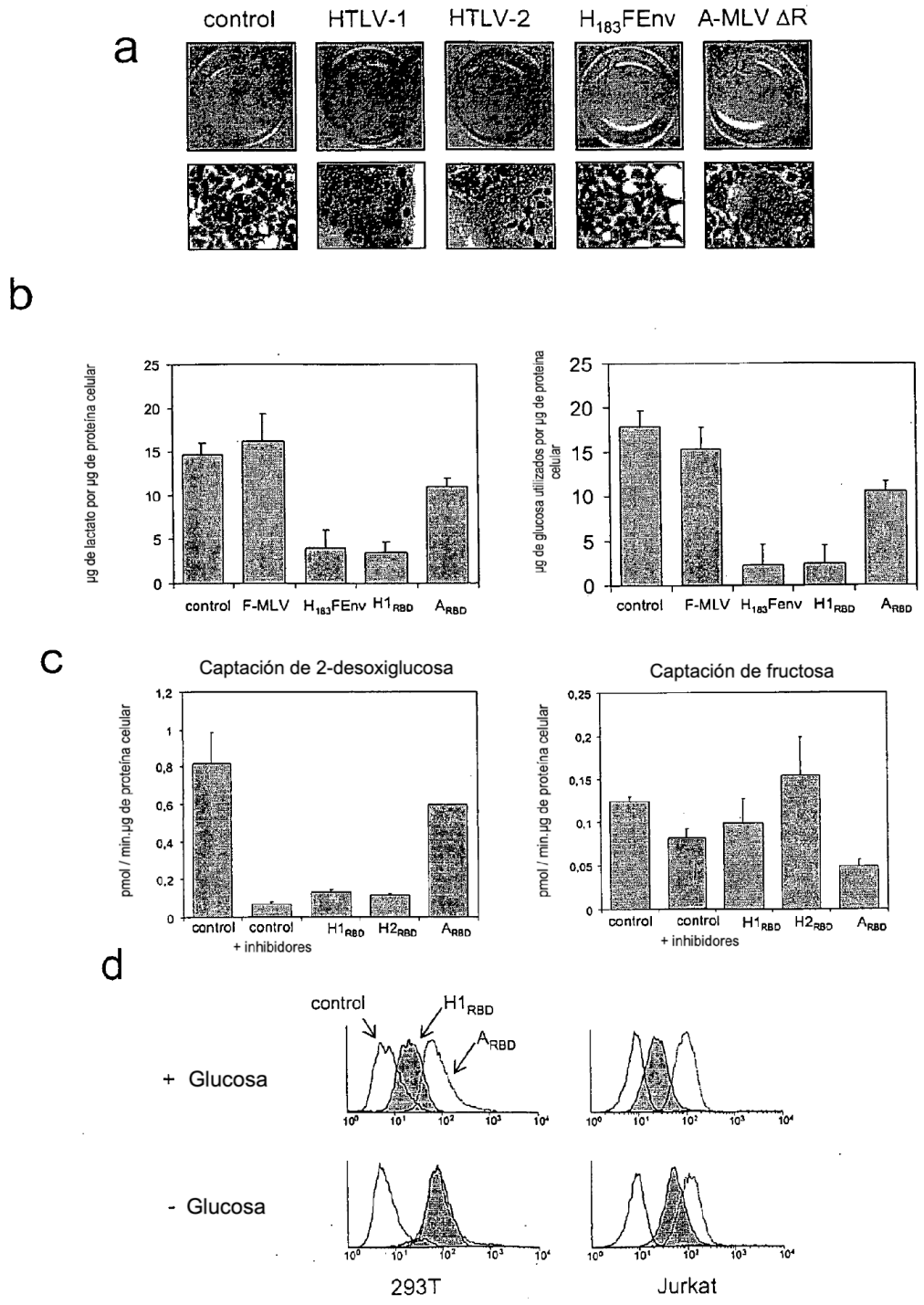
a
control
HTLV-1
HTLV-2
H183FEnv
A-MLV ΔR
b
µg de lactato por µg de proteína celular
control
F-MLV
H183FEnv
H1RBD
ARBD
µg de glucosa utilizados por µg de proteína celular
c
Captación de 2-desoxiglucosa
pmol / min.µg de proteína celular
control
control + inhibidores
H1RBD
H2RBD
ARBD
Captación de fructosa
d
control
H1RBD
ARBD
+ Glucosa
- Glucosa
293T
Jurkat

FIG. 1

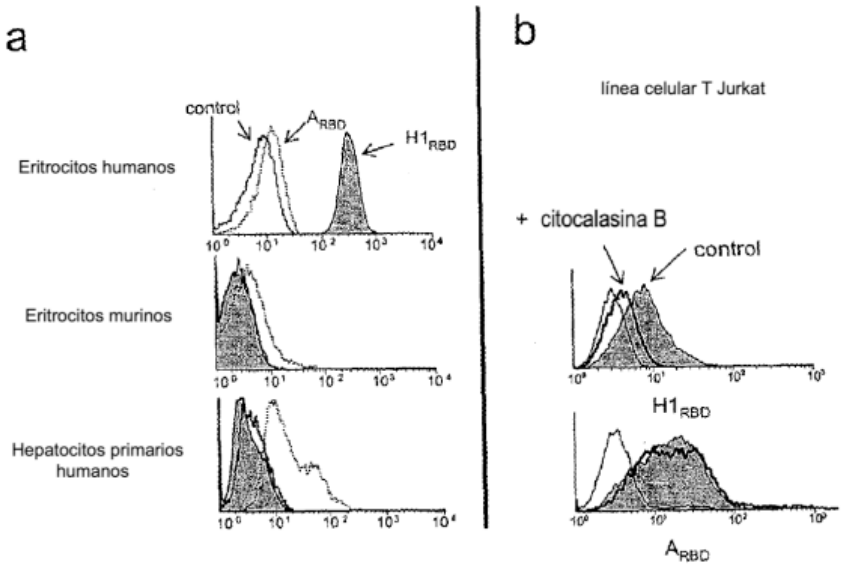
a
b
control
A_{RBD}
$H1_{RBD}$
Eritrocitos humanos
Eritrocitos murinos
Hepatocitos primarios humanos
línea celular T Jurkat
+ citocalasina B
control
$H1_{RBD}$
A_{RBD}

FIG. 2

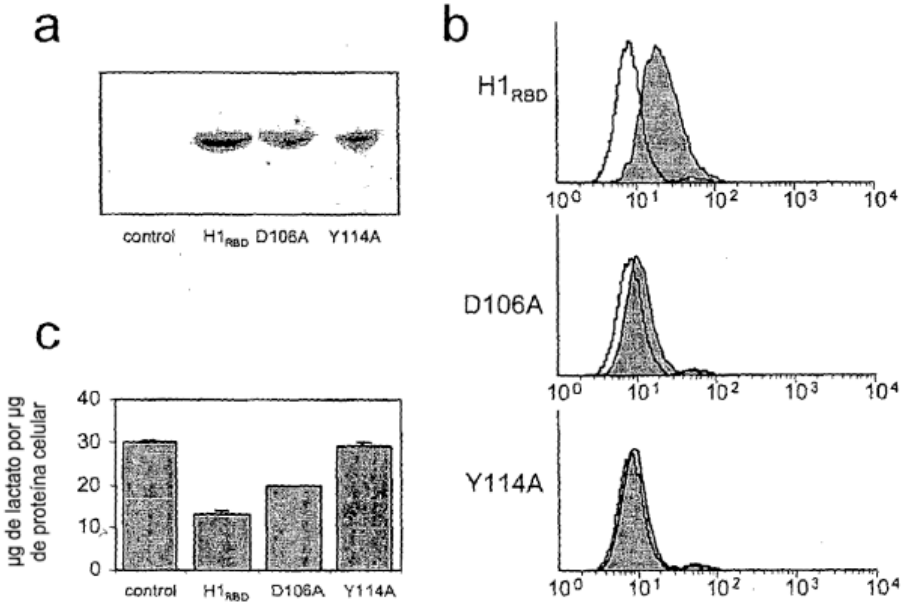
a
b
c
control
$H1_{RBD}$
D106A
Y114A
$H1_{RBD}$
D106A
Y114A
µg de lactato por µg de proteína celular
40
30
20
10
0
control
$H1_{RBD}$
D106A
Y114A

FIG. 3

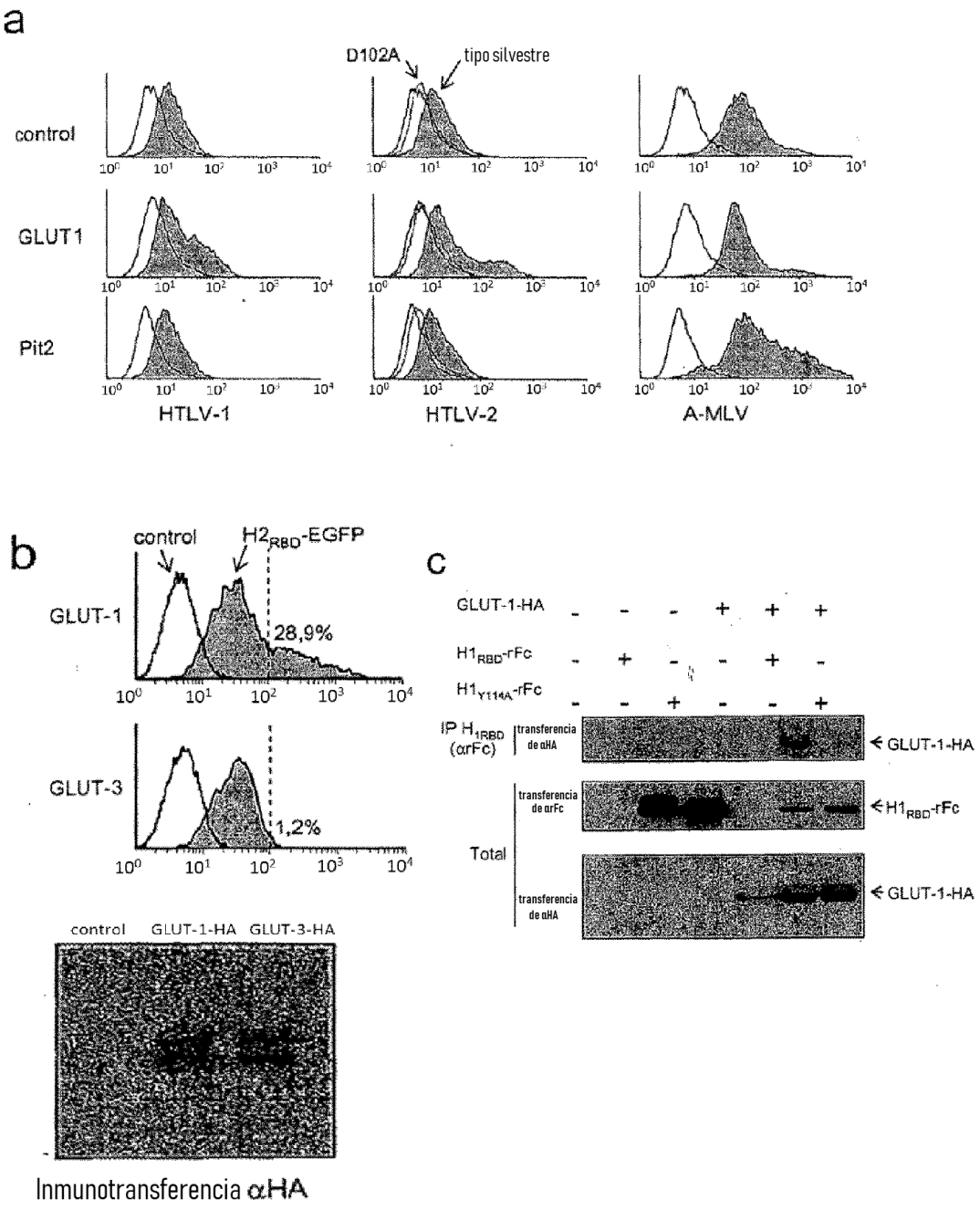
a
D102A
tipo silvestre
control
GLUT1
Pit2
HTLV-1
HTLV-2
A-MLV
b
control
H2RBD-EGFP
GLUT-1
28,9%
GLUT-3
1,2%
control
GLUT-1-HA
GLUT-3-HA
Inmunotransferencia αHA
c
GLUT-1-HA
H1RBD-rFc
H1Y114A-rFc
IP H1RBD (αrFc)
transferencia de αHA
transferencia de αrFc
Total
transferencia de αHA
GLUT-1-HA
H1RBD-rFc
GLUT-1-HA

FIG. 4

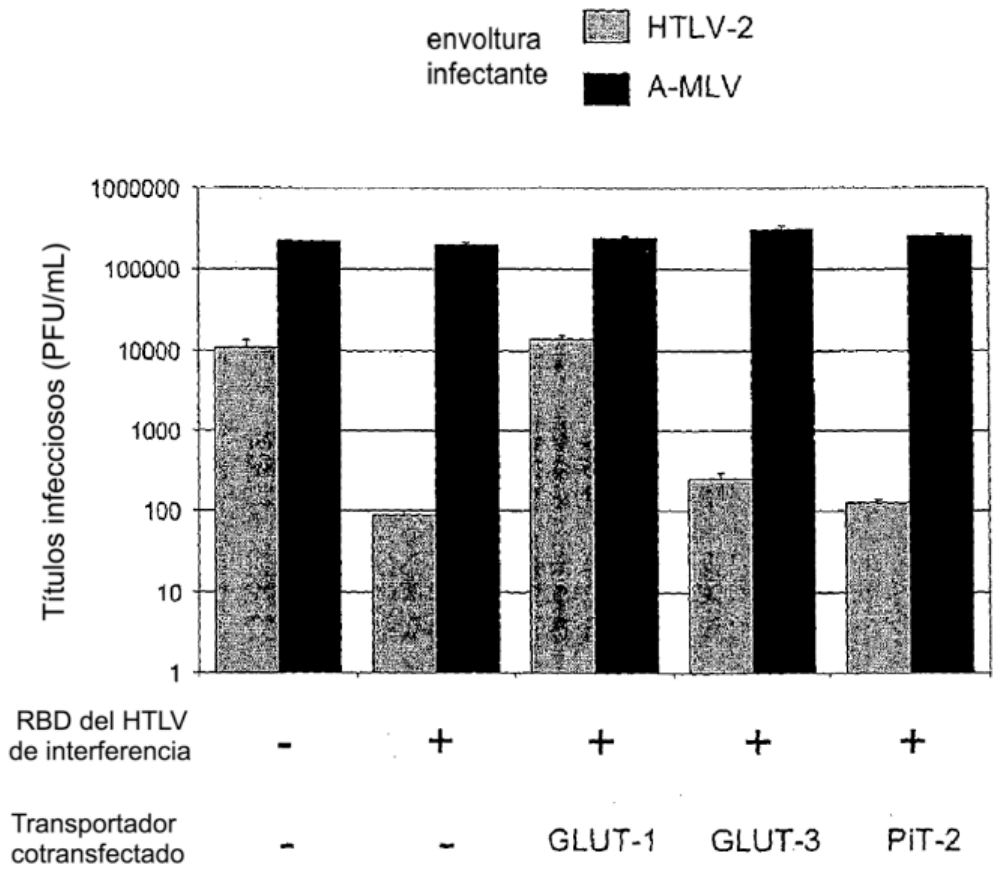
envoltura infectante
HTLV-2
A-MLV
Títulos infecciosos (PFU/mL)
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
RBD del HTLV de interferencia
- + + + +
Transportador cotransfectado
- - GLUT-1 GLUT-3 PiT-2

FIG. 5