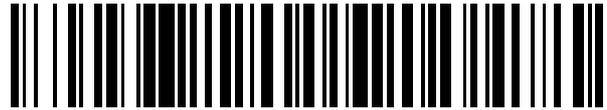


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 252**

51 Int. Cl.:

C12N 9/22 (2006.01)

A61K 38/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.10.2014 PCT/US2014/063572**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15066550**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.10.2014 E 14802986 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2019 EP 3063275**

54 Título: **Fusiones y métodos terapéuticos de nucleasa-albúmina**

30 Prioridad:

31.10.2013 US 201361898393 P

31.10.2013 US 201361898384 P

31.10.2013 US 201361898370 P

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

08.05.2020

73 Titular/es:

RESOLVE THERAPEUTICS, LLC (100.0%)

454 North 34th Street

Seattle, WA 98103-8602, US

72 Inventor/es:

POSADA, JAMES, ARTHUR y

GABEL, CHRIS

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 759 252 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Fusiones y métodos terapéuticos de nucleasa-albúmina

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos n.º de serie 61/898.370, presentada el 31 de octubre de 2013, Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos n.º de serie 61/898.384, presentada el 31 de octubre de 2013, y la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos n.º de serie 61/898.393, presentada el 31 de octubre de 2013.

Antecedentes

15 La liberación excesiva de partículas (ribo)nucleoproteicas de células muertas y moribundas puede provocar patología lúpica por dos mecanismos: (i) La deposición o formación *in situ* de complejos de cromatina/anticromatina provoca nefritis y conduce a pérdida de la función renal; y (ii) las nucleoproteínas activan inmunidad innata a través de receptor de tipo toll (TLR) 3, 7, 8 y 9 así como ruta o rutas independientes de TLR. La liberación de nucleoproteínas puede actuar como un antígeno potente para autoanticuerpos en LES, lo que proporciona amplificación de la activación de linfocitos B y CD mediante conexión conjunta de receptores de antígenos y TLR. Por lo tanto, existe la necesidad de un medio para eliminar los antígenos inductores y/o atenuar la estimulación inmunitaria, amplificación inmunitaria y enfermedad mediada por complejos inmunitarios en sujetos que lo necesitan, por ejemplo, con moléculas de nucleasa de acción prolongada que atacan los complejos inmunitarios circulantes al digerir los ácidos nucleicos contenidos en los mimos.

25 Sumario de la invención

La invención se refiere, en parte, a una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que comprende un primer dominio nucleasa y una albúmina, o una variante o fragmento de la misma, en donde el primer dominio nucleasa está operativamente acoplado a la albúmina, o variante o fragmento de la misma (es decir, moléculas híbridas de nucleasa-albúmina), y muestra una actividad farmacocinética potenciada en relación con el primer dominio nucleasa solo. Dichas moléculas híbridas de nucleasa-albúmina muestran una semivida en suero alterada (por ejemplo, mejorada) en relación con el primer dominio nucleasa solo a través de, por ejemplo, interacciones aumentadas con el receptor de Fc neonatal (FcRn), y tienen una toxicidad reducida en relación con dominios de nucleasa que tienen, por ejemplo, un dominio Fc, dada la falta de activación del receptor de Fc efector.

35 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio nucleasa y una secuencia de aminoácidos de una albúmina (o variante o fragmento de la misma). En algunas realizaciones, la molécula incluye además un primer dominio enlazador, y el primer dominio nucleasa está operativamente acoplado a la albúmina, o una variante o fragmento de la misma, a través del primer dominio enlazador.

En las realizaciones, el primer dominio nucleasa es una RNasa, por ejemplo, RNasa humana.

45 En las realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye además un segundo dominio nucleasa (dominio DNasa1 humana), que está operativamente acoplado al primer dominio nucleasa o al extremo N o C de la albúmina, o una variante o fragmento de la misma, opcionalmente a través de un enlazador. El primer y segundo dominios nucleasa pueden ser iguales, por ejemplo, RNasa y RNasa, o DNasa y DNasa. En las realizaciones, el primer y segundo dominios nucleasa son diferentes, por ejemplo, RNasa y DNasa.

50 En algunas realizaciones, el dominio RNasa es una RNasa de tipo silvestre, tal como RNasa humana de tipo silvestre (SEQ ID NO: 75 o 76). En otras realizaciones, el dominio RNasa es una RNasa mutante, tal como una RNasa 1 aglicosilada, subglicosilada o desglicosilada, tal como RNasa N34S/N76S/N88S humana. (SEQ ID NO: 84). En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina que contiene RNasa degrada el ARN circulante y el ARN en complejos inmunitarios, o inhibe la producción de interferón alfa, o ambos. En otras realizaciones más, la actividad de la RNasa no es inferior a aproximadamente 10 veces menos, tal como 9 veces menos, 8 veces menos, 7 veces menos, 6 veces menos, 5 veces menos, 4 veces menos, 3 veces menos, o 2 veces menos que la actividad de una molécula de RNasa de control. En otras realizaciones más, la actividad de la RNasa es aproximadamente igual a la actividad de una molécula de RNasa de control.

60 El dominio DNasa puede ser DNasa de tipo silvestre, tal como DNasa de tipo silvestre, humana (SEQ ID NO: 66 o 67). En algunas realizaciones, el dominio DNasa es un dominio DNasa mutante. En el presente documento se describe DNasa1 A114F humana mutante (SEQ ID NO: 68). En algunas realizaciones, el dominio DNasa es una DNasa humana aglicosilada, subglicosilada o desglicosilada. En el presente documento se describe DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante (SEQ ID NO: 83). En las realizaciones, el dominio DNasa es DNasa E13R/N74K/A114F/T205K humana mutante (SEQ ID NO: 108). En otras realizaciones, el dominio DNasa es DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S humana mutante (SEQ ID NO: 109).

5 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina que contiene DNasa degrada el ADN circulante y el ADN en complejos inmunitarios, o inhibe la producción de interferón alfa, o ambos. En otras realizaciones más, la actividad de la DNasa no es inferior a aproximadamente 10 veces menos, tal como 9 veces menos, 8 veces menos, 7 veces menos, 6 veces menos, 5 veces menos, 4 veces menos, 3 veces menos, o 2 veces menos que la actividad de una molécula de DNasa de control. En otras realizaciones más, la actividad de la DNasa es aproximadamente igual a la actividad de una molécula de DNasa de control.

10 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina tiene un enlazador gly-ser (por ejemplo, (Gly₄Ser)₃) que separa los dominios nucleasa primero y segundo, y/o los dominios nucleasa de la albúmina, o una variante o fragmento de la misma.

15 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina tiene una semivida y/o actividad sérica aumentada con respecto al dominio nucleasa correspondiente que no está fusionado con la albúmina, o variante o fragmento de la misma.

20 En algunas realizaciones, la albúmina, una variante o fragmento de la misma, es de ser humano, de primate (tal como chimpancé), gorila o macaco, de roedor (tal como hámster, ratón o rata), de cobaya, bovina (tal como vaca), equina (como caballo o burro), de conejo, de cabra, de oveja, de perro, de pollo y de cerdo. Preferentemente, la albúmina es albúmina sérica humana (HSA, por sus siglas en inglés). En algunas realizaciones, la variante de albúmina es más del 80 %, tal como más del 85 %, más del 90 % o más del 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de HSA (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la albúmina es un fragmento de albúmina o una variante de la misma.

25 En algunas realizaciones, el fragmento tiene al menos 20 aminoácidos, tal como al menos 40 aminoácidos, al menos 60 aminoácidos, al menos 80 aminoácidos, al menos 100 aminoácidos, al menos 150 aminoácidos, al menos 200 aminoácidos, al menos 300 aminoácidos, al menos 400 aminoácidos o al menos 500 aminoácidos de longitud.

30 La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio DNasa1 A114F humana mutante expuesto en la (SEQ ID NO: 68). La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio DNasal N18S/N106S/A114F humana mutante expuesto en la (SEQ ID NO: 83). En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye el dominio RNasa I de tipo silvestre humana expuesto en la SEQ ID NO: 75. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye el dominio RNasal N34S/N76S/N88S humana mutante expuesto en la SEQ ID NO: 84. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye HSA expuesta en la SEQ ID NO: 1. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye el dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ expuesto en la SEQ ID NO: 85. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye un líder VK3LP (SEQ ID NO: 86). Estos dominios individuales se pueden acoplar operativamente entre sí en cualquier orden para formar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que es enzimáticamente activa.

40 En algunos aspectos, la invención proporciona moléculas híbridas de nucleasa-albúmina que tienen las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 112-114, 116, 117, 120-122, 124 y 125. En otros aspectos, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina tienen secuencias de aminoácidos al menos 90 % idénticas a las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 112-114, 116, 117, 120-122, 124 y 125.

45 En algunos aspectos, la presente invención proporciona composiciones que incluyen las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina y un transportador, tal como un transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

50 En algunos aspectos, la presente invención proporciona moléculas de ácidos nucleicos que codifican las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un vector de expresión recombinante que tiene una molécula de ácido nucleico que codifica las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina divulgadas en el presente documento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona células hospedadoras transformadas con los vectores de expresión recombinantes que contienen las secuencias de los ácidos nucleicos que codifican las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina divulgadas en el presente documento. También se divulga en el presente documento un método para producir una molécula híbrida de nucleasa-albúmina divulgada en el presente documento que implica proporcionar una célula hospedadora que comprende una secuencia del ácido nucleico que codifica la molécula híbrida de nucleasa-albúmina; y mantener la célula hospedadora en condiciones en las que se expresa la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.

60 También se divulga en el presente documento un método para tratar o prevenir una afección asociada con una respuesta inmunitaria anormal administrando a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aislada divulgada en el presente documento. La condición puede ser una enfermedad autoinmunitaria. La enfermedad autoinmunitaria se puede seleccionar entre el grupo que consiste en diabetes mellitus insulino dependiente, esclerosis múltiple, encefalomiелitis autoinmunitaria experimental, artritis reumatoide, artritis autoinmunitaria experimental, miastenia grave, tiroiditis, una forma experimental de uveorretinitis, tiroiditis de Hashimoto, mixoedema primario, tirotoxicosis, anemia perniciososa, gastritis atrófica autoinmunitaria, enfermedad de Addison, menopausia prematura, infertilidad masculina, diabetes juvenil, síndrome de Goodpasture, pénfigo vulgar, penfigoide, oftalmia del simpático, uveítis facogénica, anemia hemolítica autoinmunitaria, leucopenia idiopática,

cirrosis biliar primaria, hepatitis crónica activa Hbs negativa, cirrosis criptogénica, colitis ulcerosa, síndrome de Sjogren, esclerodermia, granulomatosis de Wegener, polimiositis, dermatomiositis, LE discoide, lupus eritematoso sistémico (LES) y enfermedad del tejido conectivo. La enfermedad autoinmunitaria puede ser LES o síndrome de Sjogren.

- 5 También se divulga en el presente documento un método para tratar el LES o el síndrome de Sjogren que comprende administrar a un sujeto una composición que contiene una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en una cantidad eficaz para degradar complejos inmunitarios que contienen ARN, ADN o tanto ARN como ADN. La composición puede incluir un transportador farmacéuticamente aceptable y una molécula híbrida de nucleasa-albúmina como se describe en el presente documento. La
- 10 composición puede incluir una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que comprende un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 18-65, 110-125 y 138-139.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a moléculas híbridas de nucleasa-albúmina para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad caracterizada por un aclaramiento o procesamiento defectuoso de células apoptóticas y residuos celulares, tal como LES. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 112-114, 116, 117, 120-122, 124 y 125. En otro aspecto, la invención proporciona un polipéptido o composición de la invención para usar en el tratamiento o prevención del síndrome de Sjogren

20 En el presente documento se describe el uso de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina para fabricar un medicamento para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por un aclaramiento o procesamiento defectuoso de células apoptóticas y restos celulares, tal como LES. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede ser un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 18-65, 110-125 y 138-139.

25 Breve descripción de los dibujos

Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor con respecto a la siguiente descripción, y dibujos adjuntos, en donde:

30 Las FIG. 1A-C es un esquema que representa las diversas configuraciones de las fusiones híbridas de nucleasa-albúmina RSLV-300 descritas en el presente documento. RSLV-329 tiene un enlazador NLG que conecta la DNasa a la HSA.

35 La FIG. 2 es un gráfico que representa la cromatografía Q-Sepharose de RSLV-308. El punto en el que se inició el gradiente se indica mediante la línea discontinua. El eje x indica el tiempo de elución en minutos.

La FIG. 3 representa el análisis SDS PAGE de las fracciones generadas durante la cromatografía Q-Sepharose de medio acondicionado recogido de células CHO-S transfectadas con RSLV-308. MP= material de partida. FC = flujo continuo. Fr = fracciones 7-28.

40 La FIG. 4A es un gráfico que representa el perfil de elución de RSLV-308. El eje y indica DO_{280} y el eje x indica el tiempo en décimas de minuto.

45 La FIG. 4B representa el análisis de fracciones individuales por SDS PAGE. SM = concentrado inicial de Q-Sepharose agrupado.

50 Las FIG. 5A-B representa el análisis de Transferencia Western de construcciones RSLV-300. A) se prueba para RNasal y HSA y B) se prueba para DNasaA1 y HSA. Tanto en A como en B, las ocho construcciones aparecieron de color amarillo, lo que indica la unión de ambos anticuerpos a las construcciones.

Las FIG. 6A-C son gráficos que representan el análisis de tres construcciones de HSA por HPLC SEC. Los cromatogramas muestran el trazado a DO_{280} en función del tiempo de elución (minutos). A) 90 μ g de RSLV-308; máximo a 7,64 min. B) 118 μ g de RSLV-327; máximo a 7,64 min. C) 328 μ g de RSLV-328; máximo a 7,73 min.

55 La FIG. 7 es un gráfico que representa el perfil RNaseAlert de preparaciones de RNasa purificadas. Se perfilaron cantidades equivalentes de RSLV-132, RNasa 1 recombinante humana y RSLV-327 usando el sustrato RNase Alert y se compararon con RSLV-132 extrapolando a partir de una curva patrón separada.

60 La FIG. 8 representa el análisis SDS PAGE de construcciones RSLV-300 purificadas.

La FIG. 9 es un gráfico que representa la caracterización de la actividad hidrolítica de ARN basada en la inhibición de la activación inducida por poli(I:C) de las células HEK Blue hTLR3. Los símbolos abiertos en la parte inferior indican dónde se añadieron las diversas construcciones a las células en ausencia de poli(I:C) (controles negativos).

65 La FIG. 10 representa gráficos que caracterizan la actividad hidrolítica del ADN basada en la inhibición de la activación inducida por ODN-2006-G5 de las células HEK Blue hTLR9. Los símbolos abiertos en la parte inferior

indican dónde se añadieron las diversas construcciones a las células en ausencia de ODN-2006-G5 (controles negativos). Las dos representaciones gráficas representan experimentos realizados en días diferentes.

5 La FIG. 11 representa la comparación de la expresión después de la infección transitoria de células CHO-3E7 con vectores de expresión que codifican RSLV-132, RSLV-133 y RSLV-327, por electroforesis en gel SDS en condiciones de no reducción. Las dos flechas indican las posiciones de migración esperadas para RSLV-132 (abajo) y RSLV-133 (arriba).

10 La FIG. 12 representa gráficamente la evaluación de la actividad nucleasa (RNasa o DNasa) en los sobrenadantes cosechados. Se indica la cantidad de actividad detectada en cada uno de los sobrenadantes en comparación con las curvas patrón generadas con RSLV-133 purificado.

Descripción detallada

15 Descripción general

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmunitaria multisistémica caracterizada por la presencia de altos títulos de autoanticuerpos dirigidos contra partículas de nucleoproteínas propias. Hay fuertes pruebas de que un aclaramiento o un procesamiento defectuoso de células muertas y moribundas en LES conduce a enfermedad, predominantemente a través de la exposición de partículas de ribo y desoxirribonucleoproteínas (nucleoproteínas abreviadas). Las nucleoproteínas provocan daño mediante tres mecanismos: i) sirven como antígenos para generar autoanticuerpos circulantes de alta afinidad; ii) activación del sistema inmunitario innato para producir citocinas inflamatorias como resultado de la formación de complejos inmunitarios; y iii) median la disfunción orgánica como resultado del depósito de complejos inmunitarios en sitios locales tales como el riñón.

25 En el presente documento se describen métodos para tratar enfermedades caracterizadas por un aclaramiento o procesamiento defectuoso de células apoptóticas y residuos celulares, tal como LES y síndrome de Sjogren, mediante la administración de una cantidad eficaz de una actividad nucleasa para degradar complejos inmunitarios que contienen ARN y ADN extracelulares. Dicho tratamiento puede inhibir la producción de interferones (IFN) de Tipo I que son citocinas predominantes en LES y están fuertemente correlacionados con la actividad de la enfermedad y nefritis.

30 La presente invención se refiere, en parte, a la provisión de tales nucleasas enzimáticamente activas. En particular, la invención se refiere a nucleasas que están operativamente acopladas a albúmina, o una variante o fragmento de la misma. La albúmina es una proteína aglicosilada abundante producida en el hígado que regula la presión osmótica de la sangre y actúa como transportador de diversas sustancias en el torrente sanguíneo. La albúmina de tipo silvestre tiene una semivida en suero larga (aproximadamente 19 días), que en parte se puede atribuir a la unión al receptor de Fc neonatal (FcRn). En consecuencia, cuando están operativamente acopladas a una o más nucleasas, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina resultantes muestran una semivida en suero alterada. Otra ventaja conferida por la albúmina es que no activa los receptores efectores de Fc y, por lo tanto, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina pueden evitar la toxicidad asociada con la activación de estos receptores.

35 En consecuencia, un sujeto con una enfermedad caracterizada por un aclaramiento o procesamiento defectuoso de células apoptóticas y residuos celulares puede tratarse mediante la administración de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, que incluye uno o más dominios nucleasa (p. ej., una DNasa, RNasa o combinación) acoplados a una albúmina o una variante o fragmento de la misma que conserva la actividad de la albúmina, de modo que la molécula híbrida de nucleasa-albúmina tiene una biodisponibilidad y/o semivida en suero aumentadas con respecto al dominio nucleasa no conjugado. En un aspecto, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye el primer y segundo dominio nucleasa.

40 Se proporciona un método para tratar el LES o el síndrome de Sjogren en el que se administra una cantidad suficiente o eficaz de una composición que contiene una molécula de nucleasa-albúmina a un sujeto. El tratamiento puede dar como resultado la degradación de complejos inmunitarios que contienen ARN, ADN o tanto ARN como ADN. El tratamiento puede dar como resultado la inhibición de interferones de Tipo I, tal como interferón-a, en un sujeto.

45 En el presente documento se describe un método para tratar a un sujeto que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que comprende un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 112-114, 116, 117, 120-122, 124 y 125.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere a moléculas híbridas de nucleasa-albúmina para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad caracterizada por un aclaramiento o procesamiento defectuoso de células apoptóticas y residuos celulares, tal como LES. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 112-114, 116, 117, 120-122, 124 y 125.

55 En el presente documento se describe el uso de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina para fabricar un medicamento para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por un aclaramiento o procesamiento defectuoso

de células apoptóticas y restos celulares, tal como LES. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede comprender un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de las expuestas en las SEQ ID NO: 18-65, 110-125 y 138-139.

5 Definiciones

Los términos utilizados en las reivindicaciones y especificaciones se definen como se establece a continuación a menos que se especifique lo contrario.

10 "Aminoácido" se refiere a aminoácidos de origen natural y sintético, así como a análogos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen natural son los codificados mediante el código genético, así como aquellos aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ - carboxiglutamato y O-fosfoserina. Análogos de aminoácidos se refiere a los compuestos que tienen la misma estructura química básica que la de un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono alfa que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino, y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, metionina sulfóxido, metionina metil sulfonio. Dichos análogos pueden tener grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o cadenas peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. Miméticos de aminoácidos se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan de manera similar a un aminoácido de origen natural.

Los aminoácidos se pueden citar en el presente documento bien por sus símbolos habitualmente conocidos de tres letras, o mediante los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura bioquímica de la IUPAC-IUB. Los nucleótidos, asimismo, se pueden citar por sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados.

25 Una "sustitución de aminoácidos" se refiere al reemplazo de al menos un resto de aminoácido existente en una secuencia de aminoácidos predeterminada (una secuencia de aminoácidos de un polipéptido de partida) con un segundo, resto de aminoácido de "reemplazo" diferente. Una "inserción de aminoácidos" se refiere a la incorporación de al menos un aminoácido adicional en una secuencia de aminoácidos predeterminada. Si bien la inserción generalmente consistirá en la inserción de uno o dos restos de aminoácidos, se pueden producir "inserciones de péptidos" más grandes, por ejemplo, inserción de aproximadamente tres a aproximadamente cinco o incluso hasta aproximadamente diez, quince o veinte restos de aminoácidos. El(los) resto(s) insertado(s) puede(n) ser de origen naturales o no natural como se divulga anteriormente. Una "supresión de aminoácidos" se refiere a la eliminación de al menos un resto de aminoácido de una secuencia de aminoácidos predeterminada.

35 "Polipéptido", "péptido", y "proteína" se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. Los términos se aplican a los polímeros de aminoácidos en donde uno o más restos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido correspondiente de origen natural, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural y a polímeros de aminoácidos de origen no natural.

40 "Ácido nucleico" se refiere a desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en forma de cadena simple o doble. A menos que esté específicamente limitado, el término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos conocidos de nucleótidos naturales que tienen propiedades de unión similares al ácido nucleico de referencia y se metabolizan de manera similar a los nucleótidos de origen natural. A menos que se indique lo contrario, una secuencia particular del ácido nucleico también abarca implícitamente variantes modificadas conservativamente de la misma (por ejemplo, sustituciones de codones degenerados) y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada explícitamente. Específicamente, las sustituciones de codones degenerados se pueden lograr mediante la generación de secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) se sustituye con restos de base mixta y/o de desoxiinosina (Batzer et al., Nucleic Acid Res 1991; 19:5081; Ohtsuka et al., JBC 1985;260:2605-8); Rossolini et al., Mol Cell Probes 1994;8:91-8). Para la arginina y la leucina, las modificaciones en la segunda base también pueden ser conservativas. El término ácido nucleico se usa indistintamente con gen, ADNc y ARNm codificado por un gen.

55 Los polinucleótidos de la presente invención pueden estar compuestos de cualquier polirribonucleótido o polidesoxirribonucleótido, que puede ser ARN o ADN no modificado o ARN o ADN modificado. Por ejemplo, los polinucleótidos pueden estar compuestos de ADN monocatenario y bicatenario, ADN que es una mezcla de regiones mono y bicatenarias, ARN monocatenario y bicatenario, y ARN que es una mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser monocatenarios o, más habitualmente, regiones bicatenarias o una mezcla de mono y bicatenarias. Además, el polinucleótido puede estar compuesto de regiones de triple cadena que comprenden ARN o ADN o tanto ARN como ADN. Un polinucleótido también puede contener una o más bases modificadas o cadenas de ADN o ARN modificadas por estabilidad o por otras razones. Las bases "modificadas" incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases infrecuentes tales como inosina. Se puede producir una variedad de modificaciones en el ADN y el ARN; por lo tanto, el "polinucleótido" abarca formas modificadas química, enzimática o metabólicamente.

65 Como se usa en el presente documento, la expresión "operativamente unido" o "operativamente acoplado" se refiere

a una yuxtaposición en la que los componentes descritos están en una relación que les permite funcionar de la manera prevista.

Como se usa en el presente documento, la expresión "molécula híbrida de nucleasa-albúmina" se refiere a polinucleótidos o polipéptidos que comprenden al menos un dominio nucleasa y una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina también se denominan proteína(s) de fusión y gen(es) de fusión. Por ejemplo, en una realización, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede ser un polipéptido que comprende una albúmina, o una variante o fragmento de la misma, operativamente acoplada a un dominio nucleasa tal como DNasa y RNasa. Como otro aspecto de la divulgación, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir un dominio nucleasa RNasa, un dominio enlazador y una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. Las SEQ ID NO: 18-65, 110-125 y 138-139 son ejemplos de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. Otros ejemplos se describen con más detalle a continuación. En una realización, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la invención puede tener glucosilación alterada o incluir modificaciones adicionales. En otra realización, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede modificarse para añadir un resto funcional (por ejemplo, un fármaco o marcador).

El término "albúmina" se refiere a una proteína que tiene la misma estructura tridimensional, o muy similar, que la albúmina humana (SEQ ID NO: 100) y que tiene una semivida en suero prolongada. Proteínas albúmina ejemplares incluyen albúmina sérica humana (HSA; SEQ ID NO: 1), albúmina sérica de primates (tal como albúmina sérica de chimpancé (SEQ ID NO: 2)), albúmina sérica de gorila o albúmina sérica de macaco (SEQ ID NO: 3), albúmina sérica de roedor (tal como albúmina sérica de hámster (SEQ ID NO: 4)), albúmina sérica de cobaya (SEQ ID NO: 5), albúmina sérica de ratón (SEQ ID NO: 6) y albúmina sérica de rata (SEQ ID NO: 7)), albúmina sérica bovina (como la albúmina sérica de vaca (SEQ ID NO: 8)), albúmina sérica equina (tal como la albúmina sérica de caballo (SEQ ID NO: 9) o albúmina sérica de burro (SEQ ID NO: 10)), albúmina sérica de conejo (SEQ ID NO: 11), albúmina sérica de cabra (SEQ ID NO: 12), albúmina sérica de oveja (SEQ ID NO: 13), albúmina sérica canina (SEQ ID NO: 14), albúmina sérica de pollo (SEQ ID NO: 15) y albúmina sérica de cerdo (SEQ ID NO: 16).

La expresión "actividad de albúmina" se refiere a la capacidad de una albúmina, o una variante o fragmento de la misma, para prolongar la semivida de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en comparación con una nucleasa no fusionada a la albúmina. La actividad de la albúmina también puede referirse a la capacidad de la albúmina, o una variante o fragmento de la misma, para unirse al receptor de Fc neonatal (FcRn), por ejemplo, FcRn humano (SEQ ID NO: 17).

La expresión albúmina de "tipo silvestre" (TS) significa albúmina que tiene la misma secuencia de aminoácidos que se encuentra naturalmente en un animal o en un ser humano. En una realización, la albúmina de tipo silvestre es HSA (SEQ ID NO: 1).

El término "variante", cuando se usa en el contexto de la albúmina, se refiere a un polipéptido derivado de una albúmina de tipo silvestre y difiere de la albúmina de tipo silvestre por una o más alteraciones, es decir, una sustitución, inserción y/o supresión, en una o más posiciones. Una sustitución significa un reemplazo de un aminoácido que ocupa una posición con un aminoácido diferente. Una supresión significa la eliminación de un aminoácido que ocupa una posición. Una inserción significa añadir 1 o más, tal como 1-3 aminoácidos, inmediatamente adyacentes a un aminoácido que ocupa una posición. Las albúminas variantes necesariamente tienen menos del 100 % de identidad de secuencia o similitud con la albúmina de tipo silvestre. En una realización preferida, la albúmina variante tendrá una secuencia de aminoácidos de aproximadamente el 75 % a menos del 100 % de identidad o similitud de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la albúmina de tipo silvestre, más preferentemente de aproximadamente el 80 % a menos del 100 %, más preferentemente de aproximadamente el 85 % a menos del 100 %, más preferentemente de aproximadamente el 90 % a menos del 100 % (por ejemplo, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) y lo más preferentemente de al aproximadamente el 95 % a menos del 100 %, por ejemplo, sobre la longitud de la molécula variante.

Para los fines de la presente invención, el polipéptido de HSA expuesto en la SEQ ID NO: 1 se usa para determinar el resto de aminoácido correspondiente en otra albúmina, por ejemplo, una variante de albúmina o una variante de albúmina natural. La secuencia de aminoácidos de otra albúmina se alinea con el polipéptido maduro expuesto en la SEQ ID NO: 1, y en base a la alineación, el número de posición de aminoácido correspondiente a cualquier resto de aminoácido en el polipéptido maduro expuesto en la SEQ ID NO: 1 se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman and Wunsch, JMB 1970;48:443-53) tal como se implementó en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., Trends Genet 2000;16:276-7), preferentemente versión 3.0.0 o posterior. La identificación del resto de aminoácido correspondiente en otra albúmina se puede confirmar mediante una alineación de múltiples secuencias de polipéptidos usando "ClustalW" (Larkin et al., Bioinformatics 2007;23:2947-8). Cuando el otro polipéptido (o proteína) ha divergido del polipéptido maduro expuesto en la SEQ ID NO: 1, de modo que la comparación tradicional basada en la secuencia no puede detectar su relación (Lindahl y Elofsson, JMB 2000;295:613-15), se pueden utilizar algoritmos de comparación de secuencia por pares. Se puede lograr una mayor sensibilidad en la búsqueda basada en secuencias utilizando programas de búsqueda que utilizan representaciones probabilísticas de familias de polipéptidos (perfiles) para buscar bases de datos. Por ejemplo, el programa PSI-BLAST genera perfiles a través de un proceso iterativo de búsqueda

en bases de datos y es capaz de detectar homólogos remotos (Atschul et al., Nucleic Acids Res 1997;25:3389-402). Se puede lograr una sensibilidad aún mayor si la familia o superfamilia del polipéptido tiene uno o más representantes en las bases de datos de estructuras de proteínas. Programas tales como GenTHREADER (Jones, JMB 1999;287:797-815; McGuffin y Jones, Bioinformatics 2003;19:874-81) utilizan información de una variedad de fuentes (PSI-BLAST, predicción de estructura secundaria, perfiles de alineación estructural y potenciales de solvatación) como entradas a una red neuronal que predice el pliegue estructural para una secuencia de consulta. De manera similar, el método de Gough et al., JMB 2000;313:903-19, se puede usar para alinear una secuencia de estructura desconocida dentro de los modelos de superfamilia presentes en la base de datos SCOP. Estas alineaciones a su vez se pueden usar para generar modelos de homología para el polipéptido, y se puede evaluar la precisión de dichos modelos utilizando una variedad de herramientas desarrolladas para ese propósito.

El término "fragmento", cuando se usa en el contexto de la albúmina, se refiere a cualquier fragmento de albúmina de longitud completa o una variante de la misma que extiende la semivida de un dominio nucleasa al que está fusionado o conjugado en relación con el dominio nucleasa no fusionado correspondiente. Un fragmento de una albúmina puede denominarse "porción", "región", o "resto". En algunas realizaciones, un fragmento de una albúmina puede referirse a un polipéptido que comprende una fusión de múltiples dominios de albúmina (véase, por ejemplo, el documento WO 2011/124718), tal como los dominios I y III, y los dominios II y III, como se describe en más detalle *infra*.

Como se usa en el presente documento, la expresión "semivida en suero" se refiere al tiempo requerido para que la concentración de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina en suero *in vivo* disminuya en un 50%. Cuanto más corta sea la semivida en suero de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina, menor será el tiempo que tendrá para ejercer un efecto terapéutico, aunque en algunas realizaciones como se analiza *infra*, es deseable una semivida en suero más corta de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina. Se entiende que una "semivida en suero más larga" y expresiones similares están en relación con la molécula de albúmina de tipo silvestre correspondiente (por ejemplo, HSA con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1). Por lo tanto, una variante con una semivida en suero más larga significa que la variante tiene una semivida en suero más larga que la albúmina de tipo silvestre correspondiente.

Como se usa en el presente documento, el término "glicosilación" o "glicosilado" se refiere a un proceso o resultado de añadir restos de azúcar a una molécula (por ejemplo, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina).

Como se usa en el presente documento, la expresión "glicosilación alterada" se refiere a una molécula que está aglicosilada, desglicosilada o subglicosilada.

Como se usa en el presente documento, "sitio(s) de glicosilación" se refiere a ambos sitios que potencialmente podrían aceptar un resto de carbohidrato, así como a los sitios dentro de la proteína en los que se ya ha unido un resto de carbohidrato e incluye cualquier secuencia de aminoácidos que podría actuar como un aceptor de un oligosacárido y/o carbohidrato.

Como se usa en el presente documento, el término "aglicosilación" o "aglicosilado" se refiere a la producción de una molécula (por ejemplo, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina) en una forma no glicosilada (por ejemplo, mediante la modificación por ingeniería de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina para que carezca de restos de aminoácidos que sirvan como aceptores de glicosilación). De manera alternativa, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina se puede expresar en, por ejemplo, *E. coli*, para producir una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada.

Como se usa en el presente documento, el término "desglicosilación" o "desglicosilada" se refiere al proceso o resultado de la eliminación enzimática de restos de azúcar en una molécula.

Como se usa en el presente documento, El término "subglicosilación" o "subglicosilado" se refiere a una molécula en la que una o más estructuras de carbohidratos que normalmente estarían presentes si se produjeran en una célula de mamífero se han omitido, eliminado, modificado o enmascarado.

En determinados aspectos, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención pueden emplear uno o más "dominios enlazadores", tales como enlazadores de polipéptidos. Como se usa en el presente documento, el término "dominio enlazador" se refiere a una secuencia que conecta dos o más dominios en una secuencia lineal. Como se usa en el presente documento, la expresión "enlazador polipeptídico" se refiere a una secuencia de un péptido o polipéptido (por ejemplo, una secuencia de un péptido o polipéptido sintética) que conecta dos o más dominios en una secuencia de aminoácidos lineal de una cadena de polipéptido. Por ejemplo, los enlazadores polipeptídicos pueden usarse para conectar un dominio nucleasa a una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. Preferentemente, estos enlazadores polipeptídicos pueden proporcionar flexibilidad a la molécula de polipéptido. En determinadas realizaciones, el enlazador polipeptídico se usa para conectar (por ejemplo, fusionar genéticamente) una albúmina, o una variante o fragmento de la misma, con uno o más dominios nucleasa. Una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la invención puede comprender más de un dominio enlazador o enlazador peptídico. Se conocen diversos enlazadores peptídicos en la técnica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "enlazador polipeptídico gly-ser" se refiere a un péptido que

consiste en restos de glicina y serina. Un enlazador polipeptídico gly/ser ejemplar comprende la secuencia de aminoácidos (Gly₄Ser)_n. En algunas realizaciones, n es 1 o más, tal como 2 o más, 3 o más, 4 o más, 5 o más, 6 o más, 7 o más, 8 o más, 9 o más o 10 o más (p.ej., (Gly₄Ser)₁₀). Otro enlazador polipeptídico gly/ser ejemplar comprende la secuencia de aminoácidos (Gly₄Ser)_n. En algunas realizaciones, n es 1 o más, tal como 2 o más, 3 o más, 4 o más, 5 o más, 6 o más, 7 o más, 8 o más, 9 o más o 10 o más (p.ej., Ser(Gly₄Ser)₁₀).

Como se usa en el presente documento, los términos "acoplado", "unido", "fusionado", o "fusión", se usan indistintamente. Estos términos se refieren a la unión de dos elementos o componentes o dominios más, por cualquier medio que incluya conjugación química o medios recombinantes. Los métodos de conjugación química (por ejemplo, usando agentes de reticulación heterobifuncionales) son conocidos en la técnica.

Una secuencia polipeptídica o de aminoácidos "derivada de" un polipéptido o proteína designado se refiere al origen del polipéptido. Preferentemente, la secuencia polipeptídica o de aminoácidos que deriva de una secuencia particular tiene una secuencia de aminoácidos que es esencialmente idéntica a esa secuencia o una porción de la misma, en donde la porción consiste en al menos 10-20 aminoácidos, preferentemente al menos 20-30 aminoácidos, más preferentemente al menos 30-50 aminoácidos, o que de otra manera un experto en la materia puede identificar como que tiene su origen en la secuencia. Los polipéptidos derivados de otro péptido pueden tener una o más mutaciones en relación con el polipéptido de partida, por ejemplo, uno o más restos de aminoácidos que se han sustituido con otro resto de aminoácido o que tienen una o más inserciones o supresiones de restos de aminoácidos.

En una realización, hay una diferencia de aminoácidos entre una secuencia polipeptídica de partida y la secuencia derivada de la misma. La identidad o similitud con respecto a esta secuencia se define en el presente documento como el porcentaje de restos de aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticos (es decir, el mismo resto) con los restos de aminoácidos de partida, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia.

En una realización, un polipéptido de la invención consiste en, consiste esencialmente en, o comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de la Tabla 1 y variantes funcionalmente activas de la misma. En una realización, un polipéptido incluye una secuencia de aminoácidos al menos un 80 %, tal como al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica a una secuencia de aminoácidos expuesta en la Tabla 1. En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una secuencia de aminoácidos contigua al menos un 80 %, tal como al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica a una secuencia de aminoácidos contigua expuesta en la Tabla 1. En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 10, tal como al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, al menos 45, al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 95, al menos 100, al menos 200, al menos 300, al menos 400, o al menos 500 (o cualquier número entero dentro de estos números) aminoácidos contiguos de una secuencia de aminoácidos expuesta en la Tabla 1.

En algunas realizaciones, los péptidos de la invención están codificados por una secuencia de nucleótidos. Las secuencias de nucleótidos de la invención pueden ser útiles para una serie de aplicaciones, que incluyen: clonación, terapia génica, expresión y purificación de proteínas, introducción de mutaciones, vacunación con ADN de un hospedador que lo necesite, generación de anticuerpos para, por ejemplo, inmunización pasiva, PCR, generación de cebadores y sondas, diseño y generación de ARNip (véase, por ejemplo, el sitio web de Dharmacon siDesign), y similares. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos de la invención comprende, consiste en o consiste esencialmente en, una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina seleccionada de la Tabla 1. En algunas realizaciones, una secuencia de nucleótidos incluye una secuencia de nucleótidos de al menos un 80 %, tal como al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en la Tabla 1. En algunas realizaciones, una secuencia de nucleótidos incluye una secuencia de nucleótidos contigua de al menos un 80 %, tal como al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos contigua que codifica una secuencia de aminoácidos expuesta en la Tabla 1. En algunas realizaciones, una secuencia de nucleótidos incluye una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 10, tal como al menos 15, tal como al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, al menos 45, al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 95, al menos 100, al menos 200, al menos 300, al menos 400, o al menos 500 (o cualquier número entero dentro de estos números) nucleótidos contiguos de una secuencia de

nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos expuesta en la Tabla 1.

En algunas realizaciones, las secuencias polipeptídicas de la invención no son inmunogénicas y/o tienen inmunogenicidad reducida.

5 Un experto en la materia también entenderá que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención pueden alterarse de manera que varíen en secuencia de las secuencias de origen natural o naturales de las cuales derivan sus componentes (por ejemplo, dominios nucleasa, dominios enlazadores y dominios de albúmina), mientras conservan la actividad deseable de las secuencias naturales. Por ejemplo, pueden hacerse sustituciones de
10 nucleótidos o aminoácidos que conducen a sustituciones conservativas o cambios en restos de aminoácidos "no esenciales". Se puede crear una molécula de ácido nucleico aislada que codifique una variante no natural de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina derivada de una albúmina (por ejemplo, HSA) mediante la introducción de una o más sustituciones, adiciones o supresiones de nucleótidos en la secuencia de nucleótidos de la albúmina de manera que se introducen una o más sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos en la proteína codificada. Las
15 mutaciones pueden introducirse mediante técnicas convencionales, tales como mutagénesis de sitio dirigido y mutagénesis mediada por PCR.

Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención pueden comprender sustituciones conservativas de aminoácidos en uno o más restos de aminoácidos, por ejemplo, en restos de aminoácidos esenciales o no esenciales.
20 Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es aquella en la que se reemplaza el resto de aminoácido por un resto de aminoácido que tenga una cadena lateral similar. Se han definido en la técnica familias de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares, incluyendo cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por
25 ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por lo tanto, un resto de aminoácido no esencial en una molécula híbrida de nucleasa-albúmina se reemplaza preferentemente con otro resto de aminoácido de la misma familia de cadenas laterales. En otra realización, puede reemplazarse una serie de aminoácidos por una serie estructuralmente similar que difiere en cuanto a su orden
30 y/o composición de miembros de la familia de cadenas laterales. De manera alternativa, en otra realización, las mutaciones pueden introducirse aleatoriamente a lo largo de toda o parte de una secuencia codificante, tal como por mutagénesis por saturación, y los mutantes resultantes pueden incorporarse en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención y explorarse para determinar su capacidad para unirse a la diana deseada.

35 El término "mejorar" se refiere a cualquier resultado terapéuticamente beneficioso en el tratamiento de un estado de enfermedad, por ejemplo, por ejemplo, una patología autoinmunitaria (por ejemplo, LES, síndrome de Sjogren), que incluye profilaxis, disminución de la gravedad o progresión, remisión o cura de la misma.

La expresión "*in situ*" se refiere a procesos que se producen en una célula viva que crece separada de un organismo vivo, por ejemplo, que crece en cultivo de tejidos.

La expresión "*in vivo*" se refiere a procesos que se producen en un organismo vivo.

45 El término "mamífero" o "sujeto" o "paciente" como se usa en el presente documento incluye tanto seres humanos como no humanos e incluye, aunque sin limitación seres humanos, primates no humanos, cánidos, felinos, murinos, bovinos, equinos y porcinos.

La expresión porcentaje de "identidad", en el contexto de dos o más secuencias de los ácidos nucleicos o polipeptídicas, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que tienen un porcentaje específico de nucleótidos
50 o restos de aminoácidos que son iguales (por ejemplo, cuando se comparan y alinean para una correspondencia máxima, medida con uno de los algoritmos de comparación de secuencias que se describen a continuación (por ejemplo, BLASTP y BLASTN u otros algoritmos disponibles para los expertos) o mediante inspección visual. Dependiendo de la aplicación, el porcentaje de "identidad" puede existir sobre una región de la secuencia a comparar, por ejemplo, sobre un dominio funcional, o, de manera alternativa, puede existir sobre la longitud total de las dos
55 secuencias a comparar.

Para la comparación de secuencias, generalmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de subsecuencia, si fuera
60 necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. El algoritmo de comparación de secuencias entonces calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la o las secuencias de prueba respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa designados.

La alineación óptima de secuencias para la comparación puede realizarse, por ejemplo, por el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv Appl Math 1981;2:482, por el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, J Mol Biol 1970;48:443, por el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, PNAS 1988;85:2444,

mediante implementaciones informatizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante inspección visual (véase generalmente Ausubel et al, *infra*).

5 Un ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y similitud de secuencia es el algoritmo BLAST, que se describe en Altschul et al., J Mol Biol 1990;215:403-10. El software para realizar análisis BLAST está disponible públicamente a través del sitio web del Centro Nacional de Información Biotecnológica.

10 LA expresión "cantidad suficiente" significa una cantidad suficiente para producir un efecto deseado, por ejemplo, una cantidad suficiente para modular la agregación de proteínas en una célula.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" es una cantidad que es eficaz para mejorar un síntoma de una enfermedad. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una "cantidad profilácticamente eficaz", ya que la profilaxis puede considerarse terapia.

15 El término "aproximadamente" se entenderá por un experto en la materia y variará hasta cierto punto dependiendo del contexto en el que se utilice. Si hay usos del término que no están claros para los expertos en la materia dado el contexto en el que se utilizan, "aproximadamente" significará hasta más o menos un 10 % del valor particular.

20 Debe destacarse que, como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un/o", "una" y "el" o "la" incluyen referentes plurales salvo que el contexto indique claramente lo contrario.

Moléculas híbridas de nucleasa-albúmina

25 Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención incluyen una albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, que altera la semivida en suero de las moléculas de nucleasa a las que está fusionada en comparación con las moléculas de nucleasa que no están fusionadas a la albúmina, o a una variante o fragmento de la misma. Dichas moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se denominan en el presente documento "moléculas híbridas de nucleasa-albúmina" o "moléculas híbridas de albúmina-nucleasa", que se utilizan indistintamente.

30 En algunas realizaciones, una composición de la invención incluye una molécula híbrida de nucleasa-albúmina. En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye un dominio nucleasa operativamente acoplado a una albúmina, o a una variante o fragmento de la misma. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es una proteína nucleasa. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es un polinucleótido de nucleasa.

35 En algunas realizaciones, el dominio nucleasa está operativamente acoplado a la albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, a través de un dominio enlazador. En algunas realizaciones, el dominio enlazador es un péptido enlazador. En algunas realizaciones, el dominio enlazador es un nucleótido enlazador.

40 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye una molécula líder, por ejemplo, un péptido líder. En algunas realizaciones, la molécula líder es un péptido líder colocado en el extremo N del dominio nucleasa. En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la invención comprende un péptido líder en el extremo N de la molécula, en donde el péptido líder se escinde más tarde de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina. Los métodos para generar secuencias de los ácidos nucleicos que codifican un péptido líder fusionado a una proteína recombinante son bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, cualquiera de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la presente invención puede expresarse con o sin un líder fusionado a su extremo N. Un experto en la materia puede predecir y/o deducir la secuencia de proteína de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la presente invención después de la escisión de un péptido líder fusionado.

45 Ejemplos de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la presente divulgación que incluyen adicionalmente un péptido líder VK3 (VK3LP), en las que el péptido líder está fusionado al extremo N de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina, se exponen en las SEQ ID NO: 18-41 (RSLV-301, RSLV-302, RSLV-303, RSLV-304, RSLV-305, RSLV-306, RSLV-307, RSLV-308, RSLV-309, RSLV-310, RSLV-311, RSLV-312, RSLV-313, RSLV-314, RSLV-315, RSLV-316, RSLV-317, RSLV-318, RSLV-319, RSLV-320, RSLV-321, RSLV-322, RSLV-323, RSLV-324, RSLV-325, RSLV-326, RSLV-327, RSLV-328, RSLV-329, RSLV-330, RSLV-331 y RSLV-332, respectivamente). Dichas secuencias líderes pueden mejorar el nivel de síntesis y secreción de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en células de mamífero. En algunas realizaciones, el líder se escinde, produciendo moléculas híbridas de nucleasa-albúmina que tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 120-122, 124 y 125. En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la presente invención se expresa sin un péptido líder fusionado a su extremo N, y la molécula híbrida de nucleasa-albúmina resultante tiene una metionina N-terminal.

60 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluirá un codón de parada. En algunas realizaciones, el codón de parada estará en el extremo C de la albúmina, o de una variante o fragmento de la misma. En otras realizaciones, el codón de parada estará en el extremo C del dominio nucleasa (por ejemplo, dominio RNasa

y/o DNasa). El posicionamiento apropiado de un codón de parada diferirá dependiendo de la configuración de los componentes dentro de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina, y será evidente para el experto en la materia.

5 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye además un segundo dominio nucleasa. En algunas realizaciones, el segundo dominio nucleasa está operativamente acoplado a la albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, a través de un segundo dominio enlazador. En algunas realizaciones, el segundo dominio enlazador estará en el extremo C de la albúmina, o de una variante o fragmento de la misma.

10 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye dos dominios nucleasa acoplados operativamente entre sí en tándem y acoplados adicionalmente de manera operativa al extremo N o C de la albúmina, o de una variante o fragmento de la misma.

15 La Figura 1 muestra configuraciones ejemplares de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina, y la Tabla 1 proporciona las secuencias de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina ejemplares de diversas configuraciones.

20 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina es un dominio multinucleasa (p. ej., tanto RNasa como DNasa) fusionado a una albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, que se une específicamente a complejos inmunitarios extracelulares. En algunas realizaciones, la albúmina, o una variante o fragmento de la misma, muestra una mayor unión al receptor FcRn, aumentando así la semivida en suero y la biodisponibilidad de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina en circulación. En otras realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina tiene actividad contra sustratos de ARN monocatenarios y bicatenarios.

25 En una realización, el dominio nucleasa está operativamente acoplado (p. ej., químicamente conjugado o genéticamente fusionado (p. ej., bien directamente o mediante un enlazador polipeptídico)) al extremo N de una albúmina, o de una variante o fragmento de la misma. En otra realización, el dominio de la nucleasa está operativamente acoplado (por ejemplo, químicamente conjugado o genéticamente fusionado (por ejemplo, bien directamente o mediante un enlazador polipeptídico)) al extremo C de una albúmina, o de una variante o fragmento de la misma. En otras realizaciones, el dominio de la nucleasa está operativamente acoplado (por ejemplo, químicamente conjugado o genéticamente fusionado (por ejemplo, bien directamente o mediante un enlazador polipeptídico)) a través de una cadena lateral de aminoácidos de una albúmina, o de una variante o fragmento de la misma.

35 En determinadas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención comprenden dos o más dominios nucleasa y al menos una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. Por ejemplo, los dominios nucleasa pueden estar acoplados operativamente tanto al extremo N como al extremo C de una albúmina, o de una variante o fragmento de la misma, con enlazadores opcionales entre los dominios nucleasa y la albúmina, o la variante o fragmento de la misma. Los dominios nucleasa pueden ser idénticos, por ejemplo, RNasa y RNasa, o DNasa1 y DNasa1. En algunas realizaciones, los dominios nucleasa son diferentes, por ejemplo, DNasa y RNasa.

40 En otras realizaciones, dos o más dominios nucleasa están acoplados operativamente entre sí (por ejemplo, a través de un enlazador polipeptídico) en serie, y la matriz en tándem de dominios nucleasa está acoplada de manera operativa (por ejemplo, químicamente conjugada o genéticamente fusionada (por ejemplo, bien directamente o mediante un enlazador polipeptídico)) bien al extremo C o al extremo N de una albúmina, o de una variante o fragmento de la misma. En otras realizaciones, la matriz en tándem de dominios nucleasa está operativamente acoplada tanto al extremo C como al extremo N de una albúmina, o de una variante o fragmento de la misma.

50 En otras realizaciones, uno o más dominios nucleasa pueden insertarse entre dos albúminas, o variantes o fragmentos de las mismas. Por ejemplo, uno o más dominios nucleasa pueden formar la totalidad o parte de un enlazador polipeptídico de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la invención.

Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina preferidas de la invención comprenden al menos un dominio nucleasa (por ejemplo, RNasa o DNasa), al menos un dominio enlazador y al menos una albúmina, o una variante o fragmento de la misma.

55 En consecuencia, en algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención comprenden albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, como se describe *supra*, aumentando así la semivida en suero y la biodisponibilidad de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina es como se muestra en cualquiera de las SEQ ID NO: 112-114 116, 117, 120-122, 124 y 125.

60 El experto en la materia entenderá que son posibles otras configuraciones de los dominios nucleasa y albúmina, con la inclusión de enlazadores opcionales entre los dominios nucleasa y/o entre los dominios nucleasa y la albúmina. También se entenderá que la orientación de los dominios se puede alterar, siempre que los dominios nucleasa estén activos en la configuración particular probada.

65 En determinadas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención tienen al menos un dominio nucleasa específico para una molécula diana que media un efecto biológico. En otra realización, la unión de

las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención a una molécula diana (por ejemplo, ADN o ARN) da como resultado la reducción o eliminación de la molécula diana, por ejemplo, de una célula, un tejido o de la circulación.

En otras realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención pueden ensamblarse juntas o con otros polipéptidos para formar proteínas de unión que tienen dos o más polipéptidos ("multímeros"), en donde al menos un polipéptido del multímero es una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la invención. Las formas multiméricas ejemplares incluyen proteínas de unión alteradas diméricas, triméricas, tetraméricas y hexaméricas y similares. En una realización, los polipéptidos del multímero son iguales (es decir, proteínas de unión alteradas homoméricas, por ejemplo, homodímeros, homotetrámeros). En otra realización, los polipéptidos del multímero son diferentes (por ejemplo, heteromérico).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina tiene una semivida en suero que aumenta al menos aproximadamente 1,5 veces, tal como al menos 3 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 100 veces, al menos aproximadamente 200 veces, al menos aproximadamente 300 veces, al menos aproximadamente 400 veces, al menos aproximadamente 500 veces, al menos aproximadamente 600 veces, al menos aproximadamente 700 veces, al menos aproximadamente 800 veces, al menos aproximadamente 900 veces, al menos aproximadamente 1000 veces, o 1000 veces o más en relación con la molécula de nucleasa correspondiente que no está fusionada a una albúmina, o a una variante o fragmento de la misma. En otras realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina tiene una semivida en suero que disminuye al menos aproximadamente 1,5 veces, tal como al menos 3 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 100 veces, al menos aproximadamente 200 veces, al menos aproximadamente 300 veces, al menos aproximadamente 400 veces, al menos aproximadamente 500 veces, o 500 veces o menos en relación con la molécula de nucleasa correspondiente que no está fusionada a una albúmina, o a una variante o fragmento de la misma. Se pueden usar métodos de rutina reconocidos en la técnica para determinar la semivida en suero de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención.

En algunas realizaciones, la actividad de la RNasa en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina no es inferior a aproximadamente 10 veces menos, tal como 9 veces menos, 8 veces menos, 7 veces menos, 6 veces menos, 5 veces menos, 4 veces menos, 3 veces menos, o 2 veces menos que la actividad de una molécula de RNasa de control. En algunas realizaciones, la actividad de la RNasa en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es aproximadamente igual a la actividad de una molécula de RNasa de control.

En algunas realizaciones, la actividad de la DNasa en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina no es inferior a aproximadamente 10 veces menos, tal como 9 veces menos, 8 veces menos, 7 veces menos, 6 veces menos, 5 veces menos, 4 veces menos, 3 veces menos, o 2 veces menos que la actividad de una molécula de DNasa de control. En algunas realizaciones, la actividad de la DNasa en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es aproximadamente igual a la actividad de una molécula de control de DNasa.

En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incluyen una albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, que, por ejemplo, permite la unión al receptor FcRn y, por lo tanto, aumenta la semivida y la biodisponibilidad en suero. En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina pueden ser activas hacia complejos inmunitarios extracelulares que contienen ADN y/o ARN, por ejemplo, bien en forma soluble o depositados como complejos insolubles.

En algunas realizaciones, la actividad de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina es detectable *in vitro* y/o *in vivo*.

En el presente documento se describe una molécula multifuncional de RNasa o DNasa que está unida a otra enzima o anticuerpo que tiene especificidad de unión, tal como un scFv dirigido a ARN o ADN o un segundo dominio nucleasa con las mismas o diferentes especificidades que el primer dominio.

En algunas realizaciones, los dominios enlazadores incluyen (Gly₄Ser) 3, 4 o variantes de 5 que alteran la longitud del enlazador por 5 progresiones de aminoácidos. En otra realización, un dominio enlazador tiene aproximadamente 18 aminoácidos de longitud e incluye un sitio de glicosilación ligado a N, que puede ser sensible a la escisión por proteasas *in vivo*. En algunas realizaciones, un sitio de glicosilación ligado a N puede proteger las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la escisión en el dominio enlazador. En algunas realizaciones, un sitio de glicosilación ligado a N puede ayudar a separar el plegamiento de dominios funcionales independientes separados por el dominio enlazador.

En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye sustancialmente la totalidad o al menos un fragmento enzimáticamente activo de una DNasa. En algunas realizaciones, la DNasa es una DNasa secretada de Tipo I. En el presente documento se describe una DNasa humana tal como la DNasa 1 pancreática humana madura (entrada de UniProtKB P24855, SEQ ID NO: 66; DNasal humana precursora, SEQ ID NO: 67). Un alelo variante de origen natural, A114F (SEQ ID NO: 68), que muestra una sensibilidad reducida a la actina, puede incluirse en una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de DNasa1 (véase Pan et al., JBC 1998;273:18374-81; Zhen et al., BBRC 1997;231:499-504; Rodriguez et al., Genomics 1997;42:507-13). Un alelo variante de origen natural, G105R (SEQ ID NO: 69), que muestra una alta actividad DNasa en relación con la DNasal de tipo silvestre, puede incluirse en una

- molécula híbrida de nucleasa-albúmina de DNasal (véase Yasuda et al., *Int J Biochem Cell Biol* 2010;42:1216-25). En algunas realizaciones, esta mutación se introduce en una molécula híbrida de nucleasa-HSA para generar un derivado más estable de DNasal humana. En algunas realizaciones, la DNasa está mutada para eliminar posibles sitios de glicosilación ligados a N, es decir, frestos de asparagina en las posiciones 18 y 106 del dominio DNasal expuesto en la SEQ ID NO: 66 (es decir, DNasa1 humana N18S/N106S/A114F, SEQ ID NO: 83), que corresponden a restos de asparagina en las posiciones 40 y 128, respectivamente, de DNasal pancreática de longitud completa con el líder natural (SEQ ID NO: 67).
- En algunas realizaciones, la DNasa es una DNasal humana que comprende una o más sustituciones de aminoácidos básicas (es decir, cargadas positivamente) para aumentar la funcionalidad de la DNasa y la escisión de la cromatina. En algunas realizaciones, los aminoácidos básicos se introducen en DNasal humana en la interfaz de unión de ADN para potenciar la unión con fosfatos cargados negativamente sobre sustratos de ADN (véanse los documentos US 7407785; US 6391607). Esta DNasa1 hiperactiva puede denominarse "cortador de cromatina".
- En algunas realizaciones, se introducen 4, 5 o 6 sustituciones de aminoácidos básicos en DNasal. Por ejemplo, tres o más de los siguientes restos están mutados para potenciar la unión al ADN: Gln9, Glu3, Thr14, His44, Asn74, Asn110, Thr205. En algunas realizaciones, tres o más de los aminoácidos anteriores están sustituidos con aminoácidos básicos tales como, arginina, lisina y/o histidina. Por ejemplo, una DNasa humana mutante puede incluir tres o más de las siguientes sustituciones: Q9R, E13R, T14K, H44K, N74K, N110R, T205K. En algunas realizaciones, la DNasal humana mutante también incluye una sustitución A114F, que reduce la sensibilidad a la actina (véase el documento US 6348343). En una realización, la DNasal humana mutante incluye las siguientes sustituciones: E13R, N74K, A114F y T205K.
- En algunas realizaciones, la DNasal humana mutante incluye además mutaciones para eliminar posibles sitios de glicosilación, por ejemplo, restos de asparagina en las posiciones 18 y 106 del dominio DNasal expuesto en la SEQ ID NO: 66, que corresponden a restos de asparaginas en las posiciones 40 y 128, respectivamente, de la DNasal pancreática de longitud completa con el líder natural (SEQ ID NO: 67). En una realización, la DNasa1 humana mutante incluye las siguientes sustituciones: E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S.
- La DNasa puede ser una enzima similar a DNasa 1 (DNasaL), 1-3 (entrada de UniProtKB Q13609; SEQ ID NO: 70). La DNasa puede ser la tres prima exonucleasa 1 de reparación (TREX1; entrada de UniProtKB Q9NSU2; SEQ ID NO: 71). La DNasa puede ser DNasa2. La DNasa2 puede ser DNasa2 alfa (es decir, DNasa2; entrada UniProtKB O00115SEQ ID NO: 72) o DNasa2 beta (es decir, DNasa ácida similar a DNasa2; entrada UniProtKB Q8WZ79; SEQ ID NO: 73). Los sitios de glicosilación ligados a N de DNasa 1L3, TREX1, DNasa2 alfa o DNasa2 beta pueden estar mutados para eliminar posibles sitios de glicosilación ligados a N.
- En algunas realizaciones, se produce una DNasa-enlazador-albúmina que contiene un dominio enlazador de 20 o 25 aa. En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incluyen RNasa-albúmina-enlazador-DNasal, en donde el dominio DNasal está ubicado en el lado COOH de la albúmina. En otras realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incluyen DNasa1-albúmina-enlazador-RNasa, en donde el dominio DNasal está ubicado en el lado NH2 de la albúmina. En algunas realizaciones, se producen moléculas híbridas de nucleasa-albúmina que incorporan DNasa1 e incluyen: DNasal-albúmina-RNasa, RNasa- albúmina-DNasa1, DNasa1-enlazador-albúmina-enlazador-RNasa, RNasa-enlazador-albúmina-enlazador-DNasa 1, DNasa 1-enlazador-RNasa-albúmina, RNasa-enlazador-DNasal-albúmina, albúmina-DNasal-enlazador-RNasa y albúmina-RNasa-enlazador-DNasal. Configuraciones ejemplares de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina que comprenden DNasal se muestran en la Figura 1. En estas realizaciones, la RNasa puede ser, por ejemplo, RNasal humana.
- Una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir TREX1 (SEQ ID NO: 71). Una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con TREX1 puede ser capaz de digerir cromatina. Una célula puede expresar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con TREX1. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina expresada puede incluir TREX-1 murina y una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. Se puede eliminar una región hidrófoba de aproximadamente 72 aa del extremo COOH de TREX-1 antes de la fusión a la albúmina, o a una variante o fragmento de la misma, a través del dominio enlazador. En algunas realizaciones, una versión de dominio enlazador de 20 aminoácidos de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina muestra altos niveles de expresión en comparación con los controles y/u otras moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. En algunas realizaciones, los ensayos de enzimas cinéticas se utilizan para comparar la actividad enzimática de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina y los controles de forma cuantitativa.
- La optimización adicional de la unión de fusión elegida para el truncamiento de una enzima TREX1 puede usarse para mejorar la expresión de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina.
- La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de dominio TREX1-enlazador-albúmina humano con dominios enlazadores de 20 y/o 25 aa. En algunas realizaciones, los dominios enlazadores son variantes de un casete (Gly₄Ser)₄ o (Gly₄Ser)₅ con uno o más sitios de restricción unidos para su incorporación en la construcción de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. Debido a la dimerización cabeza-cola útil para la actividad de la enzima TREX1; se puede usar un dominio enlazador más largo y flexible para facilitar el plegamiento adecuado.

- 5 La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede ser una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con tándem de TREX1. Un método alternativo para facilitar el plegamiento cabeza-cola de TREX1 es generar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina TREX1-TREX1-albúmina que incorpore dos dominios TREX1 en tándem, seguidos de un dominio enlazador y un dominio de albúmina. La posición de los cassettes TREX1 de manera cabeza-cola puede corregirse para el plegamiento cabeza-cola en cualquier brazo de la inmunoenzima e introducir un dominio funcional TREX1 único en cada brazo de la molécula. Cada inmunoenzima de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede tener dos enzimas TREX1 funcionales unidas a una única HSA, o a una variante o fragmento de la misma.
- 10 La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir TREX1-enlazador1-albúmina-enlazador2-RNasa. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir RNasa-albúmina -enlazador-TREX1. Se pueden derivar casetes para la fusión tanto de amino como carboxilo de cada enzima para su incorporación en moléculas híbridas de nucleasa-albúmina donde se invierte la configuración de la enzima. La enzima RNasa puede mostrar una actividad funcional comparable independientemente de su posición en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina alternativas pueden diseñarse para probar si una configuración particular demuestra una expresión y/o función mejorada de los componentes de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.
- 15 La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir DNasa 1L3-albúmina. La DNasa 1L3 puede construirse a partir de una secuencia humana (SEQ ID NO: 70) o murina (SEQ ID NO: 74) y expresarse. Se puede construir y expresar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de DNasa 1L3-albúmina-RNasa humana. La molécula puede incluir DNasa 1L3-albúmina humana, DNasa 1L3-albúmina-RNasa humana y/o RNasa-albúmina-DNasa 1L3 humana.
- 20 La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir DNasa2 alfa (SEQ ID NO: 72) o DNasa2 beta (SEQ ID NO: 73). Se puede construir y expresar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de DNasa2 alfa-albúmina-RNasa humana o de DNasa2 beta-albúmina-RNasa humana. La molécula puede incluir DNasa2 alfa-albúmina humana, DNasa2 alfa-albúmina-RNasa humana y/o RNasa-albúmina-DNasa2 alfa humana. La molécula puede incluir DNasa2 beta-albúmina, DNasa2 beta-albúmina-RNasa y/o RNasa-albúmina-DNasa2 beta humana.
- 25 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye una RNasal, preferentemente RNasal pancreática humana (entrada de UniProtKB P07998; hRNasa1 madura, SEQ ID NO: 75; precursor de hRNasa1, SEQ ID NO: 76) de la familia de RNasa A. En algunas realizaciones, la RNasa1 humana está mutada para eliminar todos los posibles sitios de glicosilación ligados a N, es decir, restos de asparagina en las posiciones 34, 76 y 88 del dominio RNasal expuesto en la SEQ ID NO: 75 (es decir, RNasa1 N34S/N76S/N88S humana, SEQ ID NO: 84), que corresponden a restos de asparagina en las posiciones 62, 104 y 116, respectivamente, de RNasa1 pancreática de longitud completa con el líder natural (SEQ ID NO: 76). Un experto en la materia podría determinar que las posiciones 34, 76 y 88 del dominio RNasa1 expuestas en la SEQ ID NO: 75 cambiarían dependiendo de la longitud de una secuencia líder incluida en la construcción. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende RNasal humana unida a la albúmina a través de un dominio enlazador de 20-25 aminoácidos. En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incluyen DNasa-albúmina-enlazador-RNasal, en donde el dominio RNasal está ubicado en el lado COOH de la albúmina. En otras realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incluyen RNasal-albúmina-enlazador-DNasa, en donde el dominio RNasal está ubicado en el lado NH2 de la albúmina. En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incorporan RNasa1 humana e incluyen: RNasa1-albúmina-DNasa, DNasa-albúmina-RNasal, RNasa1- enlazador-albúmina-enlazador-DNasa, DNasa-enlazador-albúmina-enlazador-RNasa1, RNasa1-enlazador-DNasa-albúmina, DNasa-enlazador-RNasal-albúmina, albúmina-RNasal-enlazador-DNasa, y albúmina-DNasa-enlazador-RNasal. Configuraciones ejemplares de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina que comprenden RNasal se muestran en la Figura 1. En estas realizaciones, la DNasa puede ser, por ejemplo, DNasa1 humana.
- 30 En algunas realizaciones, se optimizan las uniones de fusión entre dominios enzimáticos y los otros dominios de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.
- 35 En algunas realizaciones, las dianas de la actividad enzimática de RNasa de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de RNasa son principalmente extracelulares, que consiste en, por ejemplo, ARN contenido en complejos inmunitarios con autoanticuerpos anti-RNP y ARN expresado en la superficie de las células que sufren apoptosis. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina de RNasa es activa en el ambiente ácido de las vesículas endocíticas. En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de RNasa que incluye una albúmina, o una variante o fragmento de la misma, se adapta para ser activa tanto extracelularmente como en el entorno endocítico. En algunos aspectos, esto permite que una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de RNasa que incluye una HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, detenga la señalización de TLR7 a través de complejos inmunitarios previamente absorbidos o mediante ARN que activan TLR7 después de una infección vírica. En algunas realizaciones, la RNasa de tipo silvestre de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de RNasa no es resistente a la inhibición por un inhibidor citoplasmático de RNasa. En algunas realizaciones, la RNasa de tipo silvestre de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina de RNasa no es activa en el citoplasma de una célula.
- 40 En las realizaciones reivindicadas, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina incluyen tanto DNasa como RNasa.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

En algunas realizaciones, estas moléculas híbridas de nucleasa-albúmina pueden mejorar la terapia del LES porque pueden, por ejemplo, digerir complejos inmunitarios que contienen ARN, ADN o una combinación tanto de ARN como de ADN; y cuando además incluyen una albúmina, o una variante o fragmento de la misma, son activas tanto extracelularmente como en el compartimento endocítico donde se pueden ubicar TLR7 y TLR9.

5

Albúmina o una variante o fragmento de la misma

Las albúminas adecuadas para su uso en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina pueden ser de ser humano, de primate, de roedor, bovina, equina, de burro, de conejo, de cabra, de oveja, de perro, de pollo o de cerdo. En algunas realizaciones, la albúmina es una albúmina sérica, por ejemplo, una albúmina sérica humana (SEQ ID NO: 1), albúmina sérica de primates (p. ej., albúmina sérica de chimpancé, albúmina sérica de gorila), albúmina sérica de roedores (p. ej., albúmina sérica de hámster, albúmina sérica de cobaya, albúmina sérica de ratón y albúmina sérica de rata), albúmina sérica bovina, albúmina sérica equina, albúmina sérica de burro, albúmina sérica de conejo, albúmina sérica de cabra, albúmina sérica de oveja, albúmina sérica de perro, albúmina sérica de pollo y albúmina sérica de cerdo.

10

15

La porción de albúmina, o una variante o fragmento de la misma, de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina de acuerdo con la invención generalmente tiene una identidad de secuencia con la secuencia de HSA de tipo silvestre como se expone en la SEQ ID NO: 1 de al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %.

20

En un aspecto, el número de alteraciones, por ejemplo, sustituciones, inserciones o supresiones, en las variantes de albúmina de la presente invención es 1-20, por ejemplo, 1-10 y 1-5, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 alteraciones en comparación con la albúmina de tipo silvestre correspondiente (p. ej., HSA).

25

Además de la albúmina de tipo silvestre, las variantes de albúmina con una semivida en suero aumentada en relación con la albúmina de tipo silvestre, y/o que aumentan la semivida en suero de las moléculas con las que están fusionadas o conjugadas, se consideran aplicables como compañeros de fusión con las moléculas de nucleasa de la invención. Ejemplos no limitantes de tales variantes incluyen una o más alteraciones (por ejemplo, sustituciones, supresiones o inserciones) en una o más posiciones correspondientes a las posiciones 417, 440, 464, 490, 492, 493, 494, 495, 496, 499, 500, 501, 503, 504, 505, 506, 510, 535, 536, 537, 538, 540, 541, 542, 550, 573, 574, 575, 577, 578, 579, 580, 581, 582 y 584 de HSA (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, una variante comprende una alteración de al menos una de estas posiciones, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, o todas estas posiciones. Las sustituciones pueden ser cualquier sustitución donde el aminoácido en la secuencia de albúmina natural se sustituye con un aminoácido diferente seleccionado entre los 19 aminoácidos de origen natural restantes, siempre que la(s) sustitución(es) aumenten la semivida de la molécula de nucleasa con la que está fusionada o conjugada en relación con la molécula de nucleasa no fusionada con la variante o una molécula de nucleasa fusionada con la albúmina de tipo silvestre. Variantes ejemplares con semivida en suero alterada y/o unión a FcRn son aquellas que incluyen una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos en HSA (SEQ ID NO: 1), como se describe en la solicitud publicada de EE. UU. N.º 2012-0220530: Q417A, Q417H, H440Q, H464Q, A490D, E492G, E492P, E492H, V493P, V493L, D494N, D494Q, D494A, D494E, D494P, E495Q, E495A, T496A, P499A, K500E, K500G, K500A, K500S, K500C, K500P, K500H, K500F, K500N, K500W, K500T, K500M, K500Y, K500V, K500Q, K500L, K500I, K500R, E501A, E501P, E501Q, N503K, N503D, E503H, A504E, E505K, E505D, T506F, T506S, H510Q, H535Q, K536A, P537A, K538A, K538H, T540S, K541A, K541D, K541G, K541N, K541E, E542P, E542D, D550N, K573Y, K573W, K573P, K573H, K573F, K573V, K573I, K573T, K573N, K573S, K573G, K573M, K573C, K573A, K573E, K573Q, K573R, K573L, K573D, K574N, Q580K, L575F, A577T, A577E, A578R, A578S, S579C, S579T, Q580K, A581D, A582T, G584A. En realizaciones particulares, la variante tiene la posición 573 de HSA (SEQ ID NO: 1) sustituida con prolina (P), triptófano (W) o tirosina (Y). En otras realizaciones más, la variante comprende múltiples alteraciones, tales como sustituciones, en las posiciones correspondientes a 494 y 496; 492 y 493; 494 y 417; 492 y 503; 492 y 573 (p.ej., E492G+K573P, E492G+K573A); y 492, 503 y 573 (p.ej., E492G+N503H+K573P). Debe entenderse que las variantes que contienen cualquier alteración (por ejemplo, sustitución, inserción, supresión) en cualquiera de las posiciones anteriores de HSA (SEQ ID NO: 1), o en cualquier otra posición o posiciones, son adecuadas para su uso en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención siempre que alteren la semivida de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en relación con un dominio nucleasa no fusionado o no conjugado o un dominio nucleasa fusionado o conjugado con la albúmina de tipo silvestre correspondiente.

35

40

45

50

55

Variantes de albúmina con semivida en suero aumentada, como se describe en el documento WO2011/051489, incluyen E492G, K500R, N503H, N503K, D550E, K573Y, K573W, K573P, K573H, K573F, K573V, K573I, K573T, K573N, K573S, K573G, K573M, K573C, K573A, K573E, K573Q, K573R, K573L, K573D, K574N, Q580K, E492G+N503K, E492G+N503H, E492G+K573A, E492G+K573P, E492G+N503K+K573P, E492G+N503H+K573P, E492G+N503K+K573A, K573P+L575F+G584A, K573P+A578S+S579T+G584A, K573P+A577E+A578S+Q580K+A582T, K573P+K574N+A577T+A578R+S579C+Q580K+A581D+G584A y E492H+E501P+N503H+E505D+T506S+T540S+K541E. Será evidente para el experto en la materia que las variantes con otras sustituciones de aminoácidos o combinaciones de sustituciones de aminoácidos se pueden probar fácilmente

60

65

con métodos de rutina para determinar si muestran una semivida en suero aumentada.

Algunas variantes naturales de albúmina también muestran una semivida en suero incrementada, y son adecuadas para su uso en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención. Dichas variantes naturales de HSA con una semivida en suero incrementada son conocidas en la técnica, tal como E501K, E570K (Iwao et al. 2007, B.B.A. Proteins and Proteomics 1774,1582-90), E505K (Gallino et al., *supra*), K536E, K574N (Minchiotti et al., Biochim Biophys Acta 1987:916:411-418), D550G (Takahashi et al., PNAS 1987:84:4413-7), y D550A (Carlson et al., PNAS 1992:89:8225-9).

El experto en la materia entenderá que cualquier variante de albúmina o variante natural con una semivida en suero incrementada en comparación con la albúmina de tipo silvestre correspondiente (por ejemplo, HSA), o que aumenta la semivida en suero del dominio nucleasa al que se fusiona o conjuga, es adecuada para su uso en moléculas híbridas de nucleasa-albúmina.

En algunas realizaciones, la albúmina variante tiene una sustitución de aminoácidos que aumenta la afinidad de la albúmina a FcRn, lo que se correlaciona con un aumento de la semivida en suero. Dichas sustituciones de aminoácidos incluyen, aunque sin limitación, HSA con K573P (es decir, lisina en la posición 573 sustituida con una prolina). Se pueden usar métodos de rutina, tal como la resonancia de plasmón de superficie (SPR), como se describe en el documento WO2011/051489, para determinar si una variante de albúmina particular muestra una afinidad aumentada a FcRn con respecto a la albúmina de tipo silvestre correspondiente. Será evidente para el experto en la materia que se puede determinar una afinidad aumentada con FcRn comparando las constantes de unión KD de la variante de albúmina y la albúmina de tipo silvestre. En el contexto de la presente invención, las albúminas variantes que tienen una KD que es más baja que la KD para HSA natural se considera que tienen una semivida plasmática más alta que HSA.

En determinadas realizaciones, puede ser deseable que la albúmina variante, o fragmento de la misma, disminuya la semivida en suero de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina. Dichas albúminas variantes, o fragmentos de las mismas, pueden disminuir la unión de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina a FcRn en relación con las moléculas de nucleasa fusionadas sin albúmina o las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en las que la albúmina es la albúmina de tipo silvestre correspondiente. Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina con semividas en suero disminuidas, por ejemplo, aquellas con afinidad de unión a FcRn disminuida, son útiles, por ejemplo, para la administración a un mamífero donde puede ser ventajoso un tiempo de circulación acortado, por ejemplo, para imágenes de diagnóstico *in vivo* o en situaciones en las que el polipéptido de partida tiene efectos secundarios tóxicos cuando está presente en la circulación durante períodos prolongados. Las variantes de albúmina con disminución de la afinidad de unión a FcRn también tienen menos probabilidades de cruzar la placenta y, por lo tanto, también son útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos en mujeres embarazadas. Además, otras aplicaciones en las que puede desearse una afinidad de unión a FcRn reducida incluyen aquellas aplicaciones en las que se desea la localización en el cerebro, riñón y/o hígado. En una realización ejemplar, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención muestran un transporte reducido a través del epitelio de los glomérulos renales desde la vasculatura. En otra realización, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención muestran un transporte reducido a través de la barrera hematoencefálica (BBB) desde el cerebro, hacia el espacio vascular. En una realización, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con unión a FcRn alterada comprende al menos un dominio de albúmina (por ejemplo, dominio III de HSA) que tiene una o más sustituciones de aminoácidos dentro de la "región de unión de FcRn" de un dominio de albúmina. Ejemplos de variantes de albúminas que muestran una semivida en suero disminuida se divulgan en, por ejemplo, el documento WO2011/124718 e incluyen Q417A, H464Q, D494N, D494Q, D494A, E495Q, E495A, T496A, P499A, K500E, K500G, K500D, K500A, K500S, K500C, K500P, K500H, K500F, K500N, K500W, K500T, K500M, K500Y, K500V, K500Q, K500L, K500I, K500R, D500N, E501A, E501Q, N503K, N503D, H510Q, H535Q, K536A, P537A, K541G, K541D, K541A, K541N, E492T+N503D, E492G+V493P, D494E+Q417H, E495Q+T496A, D494N+E495Q+T496A, E492G+K538H+K541N+E542D, E492G+V493P+K538H+K541N+E542D, A490D+E492T+V493L+E501P+E503D+A504E+E505K+T506F+K541D. Las variantes de albúmina natural ejemplares que exhiben una semivida en suero disminuida incluyen D494N (Peach et al., Biochim Biophys Acta 1991;1097:49-54), y K541E y K560E (Iwao et al., B.B.A. Proteins and Proteomics 2007;1774:1582-90).

Se pueden alterar una o más posiciones de albúmina, o una variante o fragmento de la misma, para proporcionar restos de superficie reactivos para, por ejemplo, conjugación con un dominio DNasa y/o RNasa. Las posiciones ejemplares en HSA (SEQ ID NO: 1) que se pueden alterar para proporcionar restos de cisteína competentes para conjugación incluyen, aunque sin limitación, los descritos en el documento WO2010/092135, tales como, D1C, A2C, T79C, E82C, E86C, D121C, D129C, S270C, A364C, A504C, E505C, D549C, D562C, A578C, A579C, A581C, L585C y L595C. De manera alternativa, se puede añadir un resto de cisteína al extremo N o C de la albúmina. Los métodos adecuados para producir albúmina, o una variante o péptido de la misma competente para conjugación, así como para unir covalentemente albúmina, o una variante o fragmento de la misma, con un compañero o compañeros de conjugación (por ejemplo, un dominio RNasa y/o DNasa) son rutinarios en la técnica y se describen en, por ejemplo, los documentos WO2010/092135 y WO 2009/019314. En una realización, los conjugados pueden unirse convenientemente a través de un grupo tio libre presente en la superficie de HSA (resto de aminoácido 34 de HSA madura) usando métodos reconocidos en la técnica.

Además de la albúmina o variantes de la misma descritas *supra*, los fragmentos de albúmina, o los fragmentos de variantes de la misma, son adecuados para su uso como componente de albúmina de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención. Fragmentos ejemplares de albúmina que son adecuados para su uso en las fusiones híbridas de nucleasa-albúmina se describen en el documento WO 2011/124718. Un fragmento de albúmina (por ejemplo, un fragmento de HSA) generalmente tendrá al menos 20 aminoácidos de longitud, tal como al menos 40 aminoácidos, al menos 60 aminoácidos, al menos 80 aminoácidos, al menos 100 aminoácidos, al menos 150 aminoácidos, al menos 200 aminoácidos, al menos 300 aminoácidos, al menos 400 aminoácidos, o al menos 500 aminoácidos de longitud, y alterarán (por ejemplo, aumentarán) la semivida en suero del dominio nucleasa al que está fusionado (por ejemplo, dominio RNasa y/o DNasa) en relación con el dominio nucleasa no fusionado.

En algunas realizaciones, un fragmento puede comprender al menos un subdominio completo de albúmina. Los dominios de HSA se han expresado como proteínas recombinantes (Dockal et al., JBC 1999;274:29303-10), donde el dominio I se definió como que consiste en los aminoácidos 1-197 (SEQ ID NO: 77), el dominio II se definió el dominio II como que consiste en los aminoácidos 189-385 (SEQ ID NO: 78), y el dominio III se definió como que consiste en los aminoácidos 381-585 (SEQ ID NO: 79) de HSA (SEQ ID NO: 1). El solapamiento parcial de los dominios se produce dada la estructura extendida de la hélice α (h10-h1) que existe entre los dominios I y II, y entre los dominios II y III (Peters, 1996, op. cit, Tabla 2-4). HSA también comprende seis subdominios (subdominios IA, IB, NA, NB, INA y NIB). El subdominio IA comprende los aminoácidos 6-105, el subdominio IB comprende los aminoácidos 120-177, el subdominio NA comprende los aminoácidos 200-291, el subdominio NB comprende los aminoácidos 316-369, el subdominio INA comprende los aminoácidos 392-491 y el subdominio NIB comprende los aminoácidos 512-583 de la SEQ ID NO: 1.

Un fragmento puede comprender la totalidad o parte de uno o más dominios o subdominios como se define anteriormente, o cualquier combinación de esos dominios y/o subdominios. Un fragmento puede comprender o consistir en al menos el 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % de una albúmina o de un dominio de una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. De manera adicional, pueden usarse fusiones heterólogas simples o múltiples que comprenden cualquiera de los anteriores; o fusiones heterólogas simples o múltiples a albúmina, o a una variante o fragmento de cualquiera de estos. Dichas fusiones incluyen fusiones de albúmina N-terminal, fusiones de albúmina C-terminal y fusiones de albúmina N-terminal y C-terminal conjuntamente como se ejemplifica en el documento WO 01/79271. En algunas realizaciones, el fragmento de albúmina o una variante de la misma conserva la capacidad de unirse a FcRn. En una realización, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina contienen el dominio III de albúmina, o una variante de la misma. En otra realización, las moléculas híbridas de nucleasa albúmina contienen el dominio III de la albúmina y un dominio adicional seleccionado del grupo que consiste en el dominio I, el dominio II y el dominio III. En otra realización más, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina contienen dominios I, II y III de albúmina.

Dominios Enlazadores

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye un dominio enlazador. En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina incluye una pluralidad de dominios enlazadores. En algunas realizaciones, el dominio enlazador es un enlazador polipeptídico. En determinados aspectos, es deseable emplear un enlazador polipeptídico para fusionar la albúmina, o una variante o fragmento de la misma, con uno o más dominios nucleasa para formar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina.

En una realización, el enlazador polipeptídico es sintético. Como se usa en el presente documento, el término "sintético" con respecto a un enlazador polipeptídico incluye péptidos (o polipéptidos) que comprenden una secuencia de aminoácidos (que puede ser o no de origen natural) que está unida en una secuencia lineal de aminoácidos a una secuencia (que puede ser o no ser de origen natural) (p. ej., una secuencia de albúmina) a la que no está naturalmente unida en la naturaleza. Por ejemplo, el enlazador polipeptídico puede comprender polipéptidos de origen no natural que son formas modificadas de polipéptidos de origen natural (p. ej., que comprenden una mutación tal como una adición, sustitución o supresión) o que comprenden una primera secuencia de aminoácidos (que puede ser o no de origen natural). Los enlazadores polipeptídicos de la invención pueden emplearse, por ejemplo, para asegurar que la albúmina, o una variante o fragmento de la misma, se yuxtapone para asegurar el plegamiento y la formación adecuados de una albúmina funcional, o una variante o fragmento de la misma. Preferentemente, un enlazador polipeptídico compatible con la presente invención será relativamente no inmunogénico y no inhibirá ninguna asociación no covalente entre las subunidades monoméricas de una proteína de unión.

En determinadas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención emplean un enlazador polipeptídico para unir dos o más dominios en marco en una única cadena de polipéptidos. En una realización, los dos o más dominios pueden seleccionarse independientemente de cualquiera de las albúminas, o variantes o fragmentos de las mismas, o dominios de nucleasa analizados en el presente documento. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, se puede usar un enlazador polipeptídico para fusionar fragmentos de albúmina idénticos, formando así una región de albúmina homomérica. En otras realizaciones, se puede usar un enlazador polipeptídico para fusionar diferentes fragmentos de albúmina (por ejemplo, dominios I y III, o dominios II y III de HSA), formando así una región de albúmina heteromérica. En otras realizaciones, un enlazador polipeptídico de la invención puede usarse para fusionar genéticamente el extremo C de un primer fragmento de albúmina al extremo N de un segundo fragmento de

albúmina para formar un dominio completo de albúmina.

En una realización, un enlazador polipeptídico comprende una porción de una albúmina, o una variante o fragmento de la misma. Por ejemplo, en una realización, un enlazador polipeptídico puede comprender un fragmento de albúmina (por ejemplo, dominio I, II o III), o una porción diferente de una albúmina o una variante de la misma.

En otra realización, un enlazador polipeptídico comprende o consiste en un enlazador gly-ser. Como se usa en el presente documento, la expresión "enlazador gly-ser" se refiere a un péptido que consiste en restos de glicina y serina. Un ejemplo de enlazador gly/ser comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$, en la que n es un número entero positivo (p. ej., 1, 2, 3, 4 o 5). En determinadas realizaciones, el enlazador gly/ser es $(\text{Gly}_4\text{Ser})_1$. En determinadas realizaciones, el enlazador gly/ser es $(\text{Gly}_4\text{Ser})_2$. En determinadas realizaciones, el enlazador gly/ser es $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$. En determinadas realizaciones, el enlazador gly/ser es $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$. En determinadas realizaciones, el enlazador gly/ser es $(\text{Gly}_4\text{Ser})_5$. En determinadas realizaciones, el enlazador gly-ser puede insertarse entre otras dos secuencias del enlazador polipeptídico (por ejemplo, cualquiera de las secuencias de enlazadores polipeptídicos descritas en el presente documento). En otras realizaciones, un enlazador gly-ser se une en uno o ambos extremos de otra secuencia del enlazador polipeptídico (por ejemplo, cualquiera de las secuencias de enlazadores polipeptídicos descritas en el presente documento). En otras realizaciones más, dos o más enlazadores gly-ser se incorporan en serie en un enlazador polipeptídico.

En otras realizaciones, un enlazador polipeptídico de la invención comprende una secuencia peptídica biológicamente relevante o una porción de secuencia de la misma. Por ejemplo, una secuencia peptídica biológicamente relevante puede incluir, pero sin limitación, secuencias derivadas de un péptido antirrechazo o antiinflamatorio. Dichos péptidos antirrechazo o antiinflamatorios pueden seleccionarse del grupo que consiste en un péptido inhibidor de citocinas, un péptido inhibidor de la adhesión celular, un péptido inhibidor de trombina y un péptido inhibidor de plaquetas. En una realización preferida, un enlazador polipeptídico comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en una secuencia peptídica inhibidora o antagonista de IL-1, una secuencia peptídica mimética de eritropoyetina (EPO), una secuencia peptídica mimética de trombopoyetina (TPO), secuencia peptídica mimética de G-CSF, una secuencia peptídica antagonista de TNF, una secuencia peptídica de unión a integrina, una secuencia peptídica antagonista de selectina, una secuencia peptídica antipatogénica, una secuencia peptídica mimética de péptido intestinal vasoactivo (VIP), una secuencia peptídica antagonista de calmodulina, un antagonista de mastocitos, una secuencia peptídica antagonista de SH3, una secuencia peptídica antagonista del receptor de uroquinasa (UKR), una secuencia peptídica mimética de somatostatina o cortistatina, y una secuencia peptídica inhibidora de macrófagos y/o linfocitos T. Se divulgan secuencias peptídicas ejemplares, cualquiera de las cuales puede emplearse como un enlazador polipeptídico, en la patente de EE.UU. N.º 6.660.843.

Otros enlazadores que son adecuados para su uso en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina son conocidos en la técnica, por ejemplo, los enlazadores ricos en serina divulgados en el documento US 5.525.491, los enlazadores peptídicos formadores de hélice (por ejemplo, $A(\text{EAAAK})_nA$ ($n = 2-5$)) divulgados en Arai et al., Protein Eng 2001;14:529-32, y los enlazadores estables divulgados en Chen et al., Mol Pharm 2011;8:457-65, es decir, el enlazador dipeptídico LE, un enlazador ciclopeptídico disulfuro sensible a la trombina, y el enlazador formador de hélice alfa $\text{LEA}(\text{EAAAK})_4\text{ALEA}(\text{EAAAK})_4\text{ALE}$ (SEQ ID NO: 89).

Otros enlazadores ejemplares incluyen enlazadores GS (es decir, $(\text{GS})_n$), enlazadores GGSG (SEQ ID NO: 81) (es decir, $(\text{GGSG})_n$), enlazadores GSAT (SEQ ID NO: 82), enlazadores SEG y enlazadores GGS (es decir, $(\text{GGSGGS})_n$), en los que n es un número entero positivo (p. ej., 1, 2, 3, 4 o 5). Se pueden encontrar otros enlazadores adecuados para su uso en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina usando bases de datos disponibles públicamente, tales como la base de datos Linker (ibi.vu.nl/programs/linkerdbwww). La Base de Datos Linker es una base de datos de enlazadores interdominio en enzimas multifuncionales que sirven como enlazadores potenciales en nuevas proteínas de fusión (véase, por ejemplo, George et al., Protein Engineering 2002;15:871-9).

Se entenderá que se pueden crear formas variantes de estos enlazadores polipeptídicos ejemplares introduciendo una o más sustituciones, adiciones o supresiones de nucleótidos en la secuencia de nucleótidos que codifica un enlazador polipeptídico de tal manera que se introduzcan una o más sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos en el enlazador polipeptídico. Las mutaciones pueden introducirse mediante técnicas convencionales, tales como mutagénesis de sitio dirigido y mutagénesis mediada por PCR.

Los enlazadores polipeptídicos de la invención tienen al menos un aminoácido de longitud y pueden tener longitudes variables. En una realización, un enlazador polipeptídico de la invención tiene una longitud de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 aminoácidos. Tal como se usa en este contexto, el término "aproximadamente" indica +/- dos restos de aminoácidos. Debido a que la longitud del enlazador debe ser un número entero positivo, la longitud de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, significa una longitud de 1 a 48-52 aminoácidos de longitud. En otra realización, un enlazador polipeptídico de la invención tiene una longitud de aproximadamente 10-20 aminoácidos. En otra realización, un enlazador polipeptídico de la invención tiene una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 50 aminoácidos.

En otra realización, un enlazador polipeptídico de la invención tiene una longitud de aproximadamente 20 a

aproximadamente 45 aminoácidos. En otra realización, un enlazador polipeptídico de la invención tiene una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 aminoácidos. En otra realización, un enlazador polipeptídico de la invención tiene una longitud de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 o 61 o más aminoácidos.

Los enlazadores polipeptídicos pueden introducirse en secuencias de polipéptidos usando técnicas conocidas en la técnica. Las modificaciones pueden confirmarse mediante análisis de secuencia de ADN. El ADN plasmídico puede usarse para transformar células hospedadoras para la producción estable de los polipéptidos producidos.

Moléculas híbridas de nucleasa-albúmina ejemplares

Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención son modulares y pueden configurarse para incorporar diversos dominios individuales. Por ejemplo, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio DNasal A114F humana mutante expuesto en la (SEQ ID NO: 68). La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante expuesto en la SEQ ID NO: 83. En otra realización más, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K humana mutante expuesto en la SEQ ID NO: 108 y/o el dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S humana mutante expuesto en la SEQ ID NO: 109.

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio RNasal humana de tipo silvestre expuesto en la SEQ ID NO: 75. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio RNasal N34S/N76S/N88S humana mutante expuesto en la SEQ ID NO: 84. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir la HSA expuesta en la SEQ ID NO: 1. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede incluir el dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ expuesto en la SEQ ID NO: 85. En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-HSA puede incluir un líder VK3LP (SEQ ID NO: 86). Los expertos en la materia entenderán que estos dominios individuales se pueden acoplar operativamente entre sí en cualquier orden para formar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que sea enzimáticamente activa. Por ejemplo, como se detalla en los ejemplos específicos a continuación, RNasal se puede acoplar operativamente a HSA. En otro ejemplo, RNasal se puede acoplar operativamente a HSA a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃. En otro ejemplo más, DNasal A114F se puede acoplar operativamente a HSA. En otro ejemplo más, DNasal A114F se puede acoplar operativamente a HSA madura a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃. Son posibles otras configuraciones diversas, con configuraciones ejemplares no limitantes detalladas a continuación y en la Figura 1.

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a una albúmina de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, operativamente acoplada en su extremo C a un dominio RNasa1 humana. En el presente documento se describe una molécula de HSA-RNasa; RSLV-301 (SEQ ID NO: 18). La molécula de HSA-RNasa puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 42).

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasa-HSA; RSLV-302 (SEQ ID NO: 19). La molécula de RNasa-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 43).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma operativamente acoplada en su extremo C a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ a un dominio RNasal humana. En el presente documento se describe una molécula de HSA-enlazador-RNasa; RSLV-303 (SEQ ID NO: 20). La molécula de HSA-enlazador-RNasa puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 44).

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, o de una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasa - enlazador-HSA; RSLV-304 (SEQ ID NO: 21). La molécula de RNasa-enlazador-HSA carece del líder VK3LP (SEQ ID NO: 45).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a un segundo dominio RNasal humana de tipo silvestre. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un primer dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado al extremo N de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, y un segundo dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado al extremo C de la HSA de tipo

silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasa-HSA-RNasa; RSLV-305; (SEQ ID NO: 22). La molécula de RNasa-HS-RNasa puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 46).

5 Una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede comprender un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a un segundo dominio RNasal humana de tipo silvestre. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede comprender un líder VK3LP, seguido de un primer dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de la HSA de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, y un segundo dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma (por ejemplo, una molécula RNasa-enlazador-HSA-enlazador-RNasa; RSLV-306; (SEQ ID NO: 23)). La molécula de RNasa-enlazador-HSA-enlazador-RNasa puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 47).

15 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a un dominio DNasal humana mutante. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y el dominio DNasal A114F humana mutante está operativamente acoplado al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasa-HSA-DNasa A114F; RSLV-307 (SEQ ID NO: 24). La RNasa-HSA-DNasa A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 48).

25 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasal A114F humana mutante operativamente acoplado al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y el dominio RNasa humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de DNasa A114F-HSA-RNasa; RSLV-309 (SEQ ID NO: 26)). La molécula de DNasa A114F-HSA-RNasa puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 50).

35 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a un dominio DNasal humana mutante. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y el dominio DNasa A114F mutante está operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasa-enlazador-HSA-enlazador-DNasa A114F; RSLV-308 (SEQ ID NO: 25). La molécula de RNasa-enlazador-HSA-enlazador-DNasa A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 49).

45 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasa1 A114F mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y el dominio RNasal humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe, una molécula DNasal A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1; RSLV-310 (SEQ ID NO: 27). La molécula de DNasal A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 51).

50 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio DNasal humana mutante operativamente acoplado a una albúmina de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasal A114F humana mutante operativamente acoplado al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula DNasal A114F-HSA; RSLV- 311 (SEQ ID NO: 28). La molécula de DNasa A114F-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 52).

60 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, operativamente acoplado en su extremo C a una DNasa A114F humana mutante. En el presente documento se describe una molécula de HSA-DNasa A114F; RSLV-312 (SEQ ID NO: 29). La molécula de HSA-DNasa A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 53).

65 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio DNasa1 humana mutante operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o a una variante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasal A114F humana mutante operativamente acoplado a través de un dominio

enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, o de una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula DNasal A114F-enlazador-HSA; RSLV-313 (SEQ ID NO: 30). La molécula de DNasa A114F-enlazador-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 54).

5 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, operativamente acoplada en su extremo C a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ a un DNasaI humana mutante. En el presente documento se describe una molécula de HSA-enlazador-DNasa A114F; RSLV-314 (SEQ ID NO: 31). La molécula de HSA-enlazador-DNasa A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 55).

10 En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina está aglicosilada y comprende un dominio RNasal humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante operativamente
15 acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, o de una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasal N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA; RSLV-315 (SEQ ID NO: 32). La molécula de RNasal N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 56).

20 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, operativamente acoplada en su extremo C a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ a un dominio RNasal N34S/N76S/N88S humana. En el presente documento se describe una molécula HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S; RSLV-316 (SEQ ID NO: 33). La molécula de HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 57).

25 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un dominio DNasa1 humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasal N18S/N106S/A114F humana mutante operativamente
30 acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, o de una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de DNasal N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA; RSLV-317 (SEQ ID NO: 34). La molécula de DNasal N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 58).

35 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma operativamente acoplada en su extremo C a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ a un dominio DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante. En el presente documento se describe una molécula HSA-enlazador-DNasa1 N18S/N106S/A114F; RSLV-318 (SEQ ID NO: 35). La molécula de HSA-enlazador-DNasal N18S/N106S/A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 59).

40 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un dominio RNasal humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a un dominio DNasal humana mutante. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un
45 líder VK3LP, seguido de un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y un dominio DNasa A114F mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasal A114F; RSLV-319 (SEQ ID NO: 36). La molécula de
50 RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasal A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 60).

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasal A114F mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de DNasal A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S; RSLV-320 (SEQ ID NO: 37). La molécula de DNasa1 A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 61).

60 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasal N34S/N76S/N88S humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y un dominio DNasa N18S/N106S/A114F mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de
65 RNasal N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasa1 N18S/N106S/A114F; RSLV-321 (SEQ ID NO: 38). La molécula de RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasa1 N18S/N106S/A114F puede carecer del

líder VK3LP (SEQ ID NO: 62).

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicolisada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasa N18S/N106S/A114F mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de DNasa N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S; RSLV-322 (SEQ ID NO: 39). La molécula de DNasa1 N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 63).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio DNasal A114F mutante operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre, que está operativamente acoplado a una albúmina de tipo silvestre o mutante o fragmento de la misma. En una realización, un dominio DNasal A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ a un dominio RNasal humana de tipo silvestre, y el dominio RNasal humana tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo N de una HSA de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula DNasal A114F-enlazador-RNasa-HSA; RSLV-323 (SEQ ID NO: 40)). La molécula de DNasal A114F-enlazador-RNasa-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 64).

En otra realización, un dominio RNasal humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo C de una HSA de tipo silvestre que comprende una secuencia líder VK3LP, o mutante o fragmento de la misma, y un dominio DNasal A114F humana mutante adicional operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al dominio RNasa1 humana de tipo silvestre. En el presente documento se describe una molécula de HSA-RNasa-enlazador-DNasa A114F; RSLV-324 (SEQ ID NO: 41)). La molécula de HSA-RNasa-enlazador-DNasa A114F puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 65).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio DNasal humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma operativamente acoplada en su extremo C a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ a un dominio DNasal E13R/N74K/A114F/T205K humana mutante. En el presente documento se describe una molécula de HSA-enlazador-DNasal E13R/N74K/A114F/T205K; RSLV-325 (SEQ ID NO: 110). La molécula de HSA-enlazador-DNasal E13R/N74K/A114F/T205K puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 118).

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasal E13R/N74K/A114F/T205K humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre o de una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA; RSLV-326 (SEQ ID NO: 111). La molécula de DNasal E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 119).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a un dominio DNasa1 humana mutante. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y el dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K humana mutante está operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, (por ejemplo, una molécula de RNasal-enlazador-HSA-enlazador-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K; RSLV-327 (SEQ ID NO: 112)). En una realización, la molécula de RNasa1-enlazador-HSA-enlazador-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K carece del líder VK3LP (SEQ ID NO: 120).

En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre o de una variante o fragmento de la misma y un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma (por ejemplo, la molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1; RSLV-328 (SEQ ID NO: 113)). En una realización, la molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 carece del líder VK3LP (SEQ ID NO: 121).

En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina comprende un líder VK3LP, seguido de una RNasa1 operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre, y en donde la HSA humana de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia NLG a un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K (por ejemplo, una molécula de RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-NLG-DNasa1

E13R/N74K/A114F/T205K; RSLV-329 (SEQ ID NO: 114). En una realización, la molécula de RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-NLG-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K carece del líder VK3LP (SEQ ID NO: 122). RSLV-329 tiene un enlazador NLG que conecta la DNasa a la HSA.

5 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre o de una variante o fragmento de la misma. En el presente documento se describe una molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA; RSLV-330 (SEQ ID NO: 115). La molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 123).

15 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma, que está operativamente acoplada a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)_n a un dominio DNasa1 humana mutante. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de la HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma, y el dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S humana mutante está operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma, (por ejemplo, una molécula de RNasa1-enlazador- HSA-enlazador-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S; RSLV-331 (SEQ ID NO: 116). En una realización, la molécula de RNasa1-enlazador-HSA-enlazador-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S carece del líder VK3LP (SEQ ID NO: 124).

25 En otra realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder GdVK3LP, seguido de un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre o de una variante o fragmento de la misma y un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre operativamente acoplado a través de un dominio enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de la HSA de tipo silvestre, o una variante o fragmento de la misma (por ejemplo, la molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1; RSLV-332 (SEQ ID NO: 117). En una realización, la molécula de DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA-enlazador-RNasa1 carece del líder VK3LP (SEQ ID NO: 125).

35 En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un dominio DNasa1 humana mutante operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)_n a una albúmina de tipo silvestre, o mutante o fragmento de la misma. En una realización, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada comprende un líder VK3LP, seguido de una HSA de tipo silvestre o una variante o fragmento de la misma operativamente acoplada en su extremo C a través de un enlazador(Gly₄Ser)₃ a un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S humana mutante. En el presente documento se describe una molécula HSA-enlazador-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S. La molécula de HSA-enlazador-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S puede carecer del líder VK3LP (SEQ ID NO: 138).

45 Una molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede tener una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica, tal como un 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o al menos un 99,5 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18-65.

50 Un experto en la materia entenderá que las secuencias líder y de enlazadores son opcionales y no están limitadas a las descritas en las realizaciones anteriores. Por ejemplo, los dominios RNasa y/o DNasa pueden fusionarse directamente con el extremo N y/o C de HSA, o una variante o fragmento de la misma; el dominio líder puede ser cualquiera de los conocidos en la técnica que sean útiles para su propósito previsto, por ejemplo, para aumentar la expresión y/o secreción de proteínas (por ejemplo, un péptido señal de luciferasa de *Gaussia* (MGVKVLFALICIAVAEA; SEQ ID NO: 87)); el enlazador puede ser cualquier enlazador conocido en la técnica, por ejemplo, (Gly₄Ser)_n, NLG (VDGAAASPVNVSSPSVQDI; SEQ ID NO: 88), LE, enlazador ciclopeptídico disulfuro sensible a la trombina, LEA(EAAAK)₄ALEA(EAAAK)₄ (SEQ ID NO: 80), o un enlazador disulfuro escindible *in vivo*, tal como se describe en el presente documento. También se entenderá que está dentro de las capacidades de un experto en la materia realizar los cambios correspondientes en las secuencias de aminoácidos de la molécula de nucleasa híbrida utilizando métodos de clonación y recombinación de rutina. También se entenderá que los restos de asparagina en los dominios nucleasa (es decir, N34, N76 y N88 en RNasa1, y N18 y N106 en DNasa1) pueden sustituirse con un aminoácido que no sea serina (por ejemplo, glutamina), siempre que ya que el aminoácido no sirva como un aceptor para la glicosilación ligada a N.

Métodos para Producir Moléculas Híbridas de Nucleasa-Albúmina

65 Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la presente invención pueden producirse en gran medida en células hospedadoras transformadas o transfectadas usando técnicas de ADN recombinante. Para ello, se prepara una molécula de ADN recombinante que codifica el péptido. Los métodos para preparar tales moléculas de ADN son bien

conocidos en la técnica. Por ejemplo, las secuencias que codifican los péptidos podrían eliminarse del ADN utilizando enzimas de restricción adecuadas. De manera alternativa, la molécula de ADN podría sintetizarse usando técnicas de síntesis química, tales como el método del fosforamidato. También, se podría utilizar una combinación de estas técnicas.

5 La invención también incluye un vector capaz de expresar los péptidos en un hospedador apropiado. El vector comprende la molécula de ADN que codifica los péptidos operativamente acoplado a secuencias de control de expresión apropiadas. Los métodos para influir en esta unión operativa, ya sea antes o después de que la molécula de ADN se inserte en el vector, son bien conocidos. Las secuencias de control de expresión incluyen promotores, 10 activadores, potenciadores, operadores, dominios de nucleasa ribosómicos, señales de inicio, señales de parada, señales de protección con caperuza, señales de poliadenilación y otras señales implicadas en el control de la transcripción o la traducción.

15 El vector resultante que tiene la molécula de ADN en el mismo se usa para transformar o transfectar un hospedador apropiado. Esta transformación o transfección puede realizarse usando métodos bien conocidos en la técnica.

Puede usarse cualquiera de un gran número de células hospedadoras disponibles y bien conocidas en la práctica de la presente invención. La selección de un hospedador determinado depende de una serie de factores reconocidos por la técnica. Estos incluyen, por ejemplo, compatibilidad con el vector de expresión elegido, toxicidad de los péptidos 20 codificados por la molécula de ADN, velocidad de transformación o transfección, facilidad de recuperación de los péptidos, características de expresión, bioseguridad y costes. Se debe lograr un equilibrio de estos factores con el entendimiento de que no todos los hospedadores pueden ser igualmente eficaces para la expresión de una secuencia de ADN particular. Dentro de estas pautas generales, los hospedadores microbianos útiles incluyen bacterias (tal como *E. coli*), levaduras (tal como *Saccharomyces*) y otras células de hongos, insectos, plantas, mamíferos (incluidos seres humanos) en cultivo u otros hospedadores conocidos en la técnica. En una realización preferida, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se producen en células CHO. 25

A continuación, el hospedador transformado o transfectado se cultiva y purifica. Las células hospedadoras pueden cultivarse en condiciones de fermentación o cultivo convencionales para que se expresen los compuestos deseados. Dichas condiciones de fermentación y cultivo son bien conocidas en la técnica. Finalmente, los péptidos se purifican a partir del cultivo mediante métodos bien conocidos en la técnica. 30

Los compuestos también pueden prepararse por métodos sintéticos. Por ejemplo, se pueden utilizar técnicas de síntesis en fase sólida. Las técnicas adecuadas son bien conocidas en la técnica e incluyen las descritas en Merrifield (1973), *Chem. Polypeptides*, pág. 335-61 (Katsoyannis and Panayotis eds.); Merrifield (1963), *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2149; Davis et al., *Biochem Intl* 1985; 10: 394-414; Stewart y Young (1969), *Solid Phase Peptide Synthesis*; Patente de los EE.UU. N.º 3.941.763; Finn et al. (1976), *The Proteins* (3ª ed.) 2: 105-253; y Erickson et al. (1976), *The Proteins* (3ª ed.) 2: 257-527. La síntesis en fase sólida es la técnica preferida para producir péptidos individuales, ya que es el método más rentable para producir péptidos pequeños. Los compuestos que contienen péptidos derivados o que 40 contienen grupos no peptídicos pueden sintetizarse mediante técnicas de química orgánica bien conocidas.

Otros métodos son de expresión/síntesis de moléculas generalmente conocidos en la técnica para un experto en la materia.

45 Moléculas híbridas de nucleasa-albúmina con glicosilación alterada

La glicosilación (p. ej., glicosilación ligada a O o ligada a N) puede influir en la semivida en suero de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención, por ejemplo, minimizando su eliminación de la circulación por los receptores de manosa y asialoglicoproteína y otros receptores tipo lectina. En consecuencia, en algunas realizaciones, 50 las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la presente invención se preparan en forma aglicosilada, desglicosilada o subglicosilada. Preferentemente, la glicosilación ligada a N se altera y la molécula híbrida de nucleasa-albúmina se aglicosila.

En algunas realizaciones, todos los restos de asparagina en una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que se ajustan al consenso Asn-X-Ser/Thr (X puede ser cualquier otro aminoácido de origen natural excepto Pro) se mutan a restos que no sirven como aceptores de la glicosilación ligada a N (p. ej., serina, glutamina), eliminando así la glicosilación de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina cuando se sintetiza en una célula que glicosila proteínas. 55

En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina que carecen de sitios de glicosilación ligados a N se producen en células de mamíferos. En una realización, la célula de mamífero es una célula CHO. En consecuencia, en una realización específica, se produce una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada en una célula CHO. 60

En otras realizaciones, se logra una reducción o falta de N-glicosilación, por ejemplo, produciendo moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en un hospedador (por ejemplo, bacterias tales como *E. coli*), células de mamífero modificadas por ingeniería para carecer de una o más enzimas importantes para la glicosilación, o células de mamífero tratadas 65

con agentes que evitan la glicosilación, tales como tunicamicina (un inhibidor de la formación de Dol-PP-GlcNAc).

En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se producen en eucariotas inferiores modificados por ingeniería para producir glucoproteínas con N-glucanos complejos, en lugar de azúcares de alto contenido en manosa (véase, por ejemplo, el documento US2007/0105127).

En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina glicosiladas (p. ej., las producidas en células de mamífero tal como las células CHO) se tratan química o enzimáticamente para eliminar uno o más restos de carbohidratos (p. ej., uno o más restos de manosa, fucosa y/o N-acetilglucosamina) o para modificar o enmascarar uno o más restos de carbohidratos. Dichas modificaciones o enmascaramiento pueden reducir la unión de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina a receptores de manosa, y/o receptores de asialoglicoproteína, y/u otros receptores tipo lectina. La desglicosilación química se puede lograr tratando una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con ácido trifluorometano sulfónico (TFMS), como se divulga en, por ejemplo, Sojar et al., JBC 1989;264:2552-9 y Sojar et al., Methods Enzymol 1987;138:341-50, o tratando con fluoruro de hidrógeno, como se divulga en Sojar et al. (1987, *supra*). La eliminación enzimática de los carbohidratos ligados a N de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se puede lograr tratando una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con la proteína N-glucosidasa (PNGasa) A o F, como se divulga en Thotakura et al. (Methods Enzymol 1987;138:350-9). Otras enzimas desglicosilantes comercialmente reconocidas en la técnica que son adecuadas para su uso incluyen endo-alfa-N-acetil-galactosaminidasa, endoglicosidasa F1, endoglicosidasa F2, endoglicosidasa F3 y endoglicosidasa H. En algunas realizaciones, se pueden usar una o más de estas enzimas para desglicosilar las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención. Métodos alternativos para la desglicosilación se describen en, por ejemplo, el documento US 8.198.063.

En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina están parcialmente desglicosiladas. La desglicosilación parcial se puede lograr tratando las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina con una endoglicosidasa (por ejemplo, endoglicosidasa H), que escinde carbohidratos de alto contenido en manosa ligados a N pero no carbohidratos de tipo complejo, dejando un solo resto de GlcNAc unido a la asparagina. Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina tratadas con endoglicosidasa H carecerán de carbohidratos de alto contenido en manosa, dando como resultado una interacción reducida con el receptor de manosa hepático. Aunque este receptor reconoce GlcNAc terminal, la probabilidad de una interacción productiva con el GlcNAc único en la superficie de la proteína no es tan grande como con una estructura intacta de alto contenido en manosa.

En otras realizaciones, se modifica la glicosilación de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, por ejemplo, por oxidación, reducción, deshidratación, sustitución, esterificación, alquilación, sialilación, escisión de enlaces carbono-carbono, o similares, para reducir el aclaramiento de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la sangre. En algunas realizaciones, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se tratan con peryodato y borohidruro de sodio para modificar la estructura de los carbohidratos. El tratamiento con periodato oxida los dioles adyacentes, escinde el enlace carbono-carbono y reemplaza los grupos hidroxilo con grupos aldehído; el borohidruro reduce los aldehídos a hidroxilos. Muchos restos de azúcar incluyen dioles adyacentes y, por lo tanto, se escinden con este tratamiento. La semivida en suero prolongada con peryodato y borohidruro de sodio se ejemplifica mediante el tratamiento secuencial de la enzima lisosómica β -glucuronidasa con estos agentes (véase, por ejemplo, Houba et al. (1996) Bioconjug Chem 1996:7:606-11; Stahl et al. PNAS 1976;73:4045-9; Achord et al. Pediat. Res 1977;11:816-22; Achord et al. Cell 1978;15:269-78). Un método para el tratamiento con peryodato y borohidruro de sodio se describe en Hickman et al., BBRC 1974;57:55-61. Un método para el tratamiento con peryodato y cianoborohidruro, que aumenta la semivida en suero y la distribución en los tejidos de ricina, se divulga en Thorpe et al. Eur J Biochem 1985; 147:197-206.

En una realización, las estructuras de carbohidratos de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina se pueden enmascarar mediante la adición de uno o más restos adicionales (por ejemplo, grupos de carbohidratos, grupos fosfato, grupos alquilo, etc.) que interfieren con el reconocimiento de la estructura por un receptor de manosa o asialoglicoproteína u otros receptores tipo lectina.

En algunas realizaciones, uno o más sitios potenciales de glicosilación se eliminan mediante la mutación del ácido nucleico que codifica la molécula híbrida de nucleasa-albúmina, reduciendo así la glicosilación (subglicosilación) de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina cuando se sintetiza en una célula que glicosila proteínas, por ejemplo, una célula de mamífero tal como una célula CHO. En algunas realizaciones, puede ser deseable subglicosilar selectivamente el dominio nucleasa de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina mediante la mutación de los posibles sitios de glicosilación ligados a N de las mismas si, por ejemplo, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina subglicosilada muestra una actividad aumentada o contribuye a un aumento de la semivida en suero. En otras realizaciones, puede ser deseable subglicosilar porciones de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina de modo que regiones distintas al dominio nucleasa carezcan de N-glicosilación si, por ejemplo, dicha modificación mejora la semivida en suero de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina. De manera alternativa, pueden modificarse otros aminoácidos en la zona adyacente de los aceptores de glicosilación, interrumpiendo un motivo de reconocimiento para las enzimas de glicosilación sin cambiar necesariamente el aminoácido que normalmente estaría glicosilado.

En algunas realizaciones, la glicosilación de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina se puede alterar mediante la introducción de sitios de glicosilación. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de la molécula híbrida de nucleasa-

albúmina puede modificarse para introducir la secuencia consenso para la glicosilación ligada a N de Asp-X-Ser/Thr (X es cualquier aminoácido que no sea prolina). Se pueden añadir sitios de glicosilación ligados a N adicionales en cualquier lugar a lo largo de la secuencia de aminoácidos de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina. Preferentemente, los sitios de glicosilación se introducen en la posición en la secuencia de aminoácidos que no reduce sustancialmente la actividad nucleasa (p. ej., RNasa y/o DNasa) de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.

Se ha informado que la adición de sitios de glicosilación ligados a O altera la semivida en suero de las proteínas, tales como la hormona del crecimiento, hormona estimulante de folículos, IGFBP-6, Factor IX y muchos otros (por ejemplo, como se divulga en Okada et al., *Endocr Rev* 2011;32:2-342; Weenen et al., *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5204-12; Marinaro et al., *European Journal of Endocrinology* 2000;142:512-6; documento US 2011/0154516). En consecuencia, en algunas realizaciones, se altera la glicosilación ligada a O (en restos de serina/treonina) de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. Los métodos para alterar la glicosilación ligada a O son rutinarios en la técnica y se pueden lograr, por ejemplo, mediante eliminación beta (véase, por ejemplo, Huang *et al.*, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2002; 16:1199-204; Conrad, *Curr Protoc Mol Biol* 2001; Capítulo 17:Unidad 17.15A; Fukuda, *Curr Protoc Mol Biol* 2001;Capítulo 17:Unidad 17.15B; Zachara et al., *Curr Protoc Mol Biol* 2011; Unidad 17.6.); mediante el uso de kits disponibles comercialmente (por ejemplo, Kit de eliminación beta GlycoProfile™, Sigma); o sometiendo la molécula híbrida de nucleasa-albúmina a tratamiento con una serie de exoglucosidasas tal como, pero sin limitación, β -1-4 galactosidasa y β -N -acetilglucosaminidasa, hasta que solo quede Gal β 1-3GalNAc y/o GlcNAc β 1-3GalNAc, seguido de un tratamiento con, por ejemplo, endo- α -N-acetilgalactosaminidasa (es decir, O-glucosidasa). Dichas enzimas están disponibles comercialmente en, por ejemplo, New England Biolabs. En otras realizaciones más, las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se alteran para introducir la glicosilación ligada a O en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina como se divulga en, por ejemplo, Okada et al. (*supra*), Weenen et al. (*supra*), documento US2008/0274958; y documento US2011/0171218. En algunas realizaciones, se introducen uno o más sitios de consenso de glicosilación ligados a O en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina, tal como CXXGGT/S-C (SEQ ID NO: 101) (van den Steen et al., *In Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, Michael Cox, ed., 1998;33:151-208), NST-E/D-A (SEQ ID NO: 102), NITQS (SEQ ID NO: 103), QSTQS (SEQ ID NO: 104), D/EFT-R/K-V (SEQ ID NO: 105), C-E/D-SN (SEQ ID NO: 106) y GGSC-K/R (SEQ ID NO: 107). Se pueden añadir sitios de glicosilación ligados a O adicionales en cualquier lugar a lo largo de la secuencia de aminoácidos de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina. Preferentemente, los sitios de glicosilación se introducen en la posición en la secuencia de aminoácidos que no reduce sustancialmente la actividad nucleasa (p. ej., RNasa y/o DNasa) de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina. De manera alternativa, los restos de azúcar ligados a O se introducen modificando químicamente un aminoácido en la molécula híbrida de nucleasa-albúmina como se describe en, por ejemplo, el documento WO 87/05330 y Aplin et al., *CRC Crit Rev Biochem* 1981;259-306).

En algunas realizaciones, los sitios de glicosilación tanto ligados a N como ligados a O se introducen en las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina, preferentemente en posiciones en la secuencia de aminoácidos que no reducen sustancialmente la actividad nucleasa (por ejemplo, RNasa y/o DNasa) de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.

Está dentro de las capacidades del experto en la materia introducir, reducir o eliminar la glicosilación (por ejemplo, glicosilación ligada a N o ligada a O) en una molécula híbrida de nucleasa-albúmina y determinar usando métodos de rutina en la técnica si tales modificaciones en el estado de glicosilación, aumenta o disminuye la actividad nucleasa o la semivida en suero de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.

En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina puede comprender una glicofoma alterada (por ejemplo, un glicano subfucosilado o sin fucosa).

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con glicosilación alterada tiene una semivida en suero que aumenta al menos aproximadamente 1,5 veces, tal como al menos 3 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 100 veces, al menos aproximadamente 200 veces, al menos aproximadamente 300 veces, al menos aproximadamente 400 veces, al menos aproximadamente 500 veces, al menos aproximadamente 600 veces, al menos aproximadamente 700 veces, al menos aproximadamente 800 veces, al menos aproximadamente 900 veces, al menos aproximadamente 1000 veces, o 1000 veces o más en relación con las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina glicosiladas correspondientes (por ejemplo, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en la que no están mutados los posibles sitios de glicosilación ligados a N). Se pueden usar métodos de rutina reconocidos en la técnica para determinar la semivida en suero de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina con estado de glicosilación alterado.

En algunas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con glicosilación alterada (por ejemplo, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina aglicosilada, desglucosilada o subglucosilada) conserva al menos un 50 %, tal como al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 %, al menos al menos un 99,5 % o 100 % de la actividad de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina glicosiladas correspondiente (por ejemplo, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en la que no están mutados los posibles sitios de glicosilación ligados a N).

En algunas realizaciones, alterar el estado de glicosilación de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina puede

aumentar la actividad nucleasa, bien aumentando directamente la actividad enzimática o aumentando la biodisponibilidad (por ejemplo, la semivida en suero). En consecuencia, en algunas realizaciones, la actividad nucleasa de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina con glicosilación alterada aumenta al menos 1,3 veces, tal como al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9 veces, al menos 9,5 veces, o 10 veces o más, en relación con las moléculas de nucleasa-albúmina híbridas glicosiladas correspondientes (por ejemplo, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en la que no están mutados los sitios potenciales de glicosilación ligados a N).

El experto en la materia puede determinar fácilmente el estado de glicosilación de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina utilizando métodos reconocidos en la técnica. En una realización preferida, el estado de glicosilación se determina mediante espectrometría de masas. En otras realizaciones, las interacciones con la Concanavalina A (Con A) se pueden evaluar para determinar si una molécula híbrida de nucleasa-albúmina está subglicosilada. Se espera que una molécula híbrida de nucleasa-albúmina subglicosilada muestre una unión reducida a ConA-Sepharose en comparación con la molécula híbrida de nucleasa-albúmina glicosilada correspondiente. El análisis SDS-PAGE también se puede usar para comparar la movilidad de una proteína subglicosilada y la proteína glicosilada correspondiente. Se espera que la proteína subglicosilada tenga una mayor movilidad en SDS-PAGE en comparación con la proteína glicosilada. Otros métodos adecuados reconocidos en la técnica para analizar el estado de glicosilación de proteínas se divulga en, por ejemplo, Roth et al., International Journal of Carbohydrate Chemistry 2012;2012:1-10.

La farmacocinética, tal como la semivida en suero, de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina con diferentes estados de glicosilación se pueden analizar utilizando métodos de rutina, por ejemplo, introduciendo las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en ratones, por ejemplo, por vía intravenosa, tomando muestras de sangre en puntos temporales predeterminados y analizando y comparando niveles y/o actividad enzimática de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en las muestras.

Composiciones Farmacéuticas

En determinadas realizaciones, se administra una molécula híbrida de nucleasa-albúmina sola. En determinadas realizaciones, se administra una molécula híbrida de nucleasa-albúmina antes de la administración de al menos otro agente terapéutico. En determinadas realizaciones, se administra una molécula híbrida de nucleasa-albúmina simultáneamente con la administración de al menos otro agente terapéutico. En determinadas realizaciones, se administra una molécula híbrida de nucleasa-albúmina después de la administración de al menos otro agente terapéutico. En otras realizaciones, se administra una molécula híbrida de nucleasa-albúmina antes de la administración de al menos otro agente terapéutico. Como apreciará un experto en la materia, en algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina se combina con otro agente/compuesto. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina y otro agente se administran simultáneamente. En algunas realizaciones, la molécula híbrida de nucleasa-albúmina y otro agente no se administran simultáneamente, y la molécula híbrida de nucleasa-albúmina se administra antes o después de que se administre el agente. En algunas realizaciones, el sujeto recibe tanto la molécula híbrida de nucleasa-albúmina como el otro agente durante un mismo período de prevención, aparición de un trastorno y/o período de tratamiento.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse en terapia de combinación, es decir, combinadas con otros agentes. En determinadas realizaciones, la terapia de combinación comprende la molécula híbrida de nucleasa-albúmina, en combinación con al menos otro agente. Los agentes incluyen, aunque sin limitación, composiciones químicas, anticuerpos, regiones de unión a antígeno y combinaciones y conjugados de los mismos preparados de forma sintética *in vitro*. En determinadas realizaciones, un agente puede actuar como un agonista, antagonista, modulador alostérico o toxina.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula híbrida de nucleasa-albúmina junto con un diluyente, transportador, solubilizante, emulsionante, conservante y adyuvante farmacéuticamente aceptable.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula híbrida de nucleasa-albúmina y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, junto con un diluyente, transportador, solubilizante, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

En determinadas realizaciones, los materiales de formulación aceptables preferentemente no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas. En algunas realizaciones, los materiales de formulación son para administración s.c. y/o I.V. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica puede contener materiales de formulación para modificar, mantener o conservar, por ejemplo, el pH, osmolalidad, viscosidad, claridad, color, isotonicidad, olor, esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, adsorción o penetración de la composición. En determinadas realizaciones, materiales de formulación adecuados incluyen, aunque sin limitación, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina); agentes antimicrobianos; antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito de sodio o hidrogenosulfito de sodio); tampones (tales como borato, bicarbonato,

Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos); agentes de carga (tal como manitol o glicina); agentes quelantes (tal como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)); agentes complejantes (tal como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina); cargas; monosacáridos; disacáridos; y otros carbohidratos (tales como glucosa, manosa o dextrinas); proteínas (tal como gelatina); colorantes, agentes aromatizantes y diluyentes; agentes emulsionantes; polímeros hidrófilos (tales como polivinilpirrolidona); polipéptidos de bajo peso molecular; contra iones formadores de sal (tales como sodio); conservantes (tal como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenético, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno); disolventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol); alcoholes de azúcar (tales como manitol o sorbitol); agentes de suspensión; tensioactivos o agentes humectantes (tal como pluronic, PEG, ésteres de sorbitán, polisorbato tales como polisorbato 20, polisorbato 80, triton, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal); agentes potenciadores de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol); agentes potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metales alcalinos, preferentemente cloruro de sodio o potasio, manitol sorbitol); vehículos de suminitro; diluyentes; excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995). En algunas realizaciones, la formulación comprende PBS; NaOAC 20 mM, pH 5,2, NaCl 50 mM; y/o NaOAC 10 mM, pH 5,2, sacarosa al 9 %.

En determinadas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina y/o una molécula terapéutica está unida a un vehículo de extensión de la semivida conocido en la técnica. Dichos vehículos incluyen, aunque sin limitación, polietilenglicol, glucógeno (por ejemplo, glicosilación de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina) y dextrano. Dichos vehículos se describen, por ejemplo, en la solicitud de EE.UU. N.º de serie 09/428.082, actualmente Patente de EE.UU. 6.660.843 y la solicitud PCT publicada N.º WO 99/25044.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica óptima se determinará por un experto en la materia dependiendo de, por ejemplo, la ruta de administración prevista, el formato de suministro y la dosis deseada. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, *supra*. En determinadas realizaciones, tales composiciones pueden influir en el estado físico, estabilidad, la estabilidad, la velocidad de liberación *in vivo* y la velocidad de aclaramiento *in vivo* de los anticuerpos de la invención.

En determinadas realizaciones, el vehículo o transportador primario en una composición farmacéutica puede ser bien de naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, un vehículo o transportador adecuado puede ser agua para inyección, solución salina fisiológica o líquido cefalorraquídeo artificial, posiblemente complementado con otros materiales comunes en composiciones para administración parenteral. En algunas realizaciones, la solución salina comprende solución salina tamponada con fosfato isotónica. En determinadas realizaciones, otros vehículos ejemplares son solución salina tamponada neutra o solución salina mezclada con albúmina de suero. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden tampón Tris de aproximadamente pH 7,0-8,5, o un tampón acetato de aproximadamente pH 4,0-5,5, que puede incluir además sorbitol o un sustituto adecuado para el mismo. En determinadas realizaciones, una composición que comprende una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, puede prepararse para almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tiene el grado deseado de pureza con agentes de formulación opcionales (Remington's Pharmaceutical Sciences, *supra*) en la forma de una torta o una solución acuosa liofilizada. Adicionalmente, en determinadas realizaciones, una composición que comprende una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, puede formularse como un liofilizado usando excipientes apropiados tal como la sacarosa.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica puede seleccionarse para suministro parenteral. En determinadas realizaciones, las composiciones pueden seleccionarse para inhalación o para suministro a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de tales composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de la capacidad de un experto en la materia.

En determinadas realizaciones, los componentes de la formulación están presentes en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. En determinadas realizaciones, los tampones se usan para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente más bajo, generalmente dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8.

En determinadas realizaciones, cuando se contempla la administración parenteral, una composición terapéutica puede estar en forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable sin pirógenos que comprende una molécula híbrida de nucleasa-albúmina deseada, con o sin agentes terapéuticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, un vehículo para inyección parenteral es agua destilada estéril en la que una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, se formula como una solución isotónica estéril, adecuadamente conservada. En determinadas realizaciones, la preparación puede implicar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bioerosionables, compuestos poliméricos (tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas o liposomas, que pueden proporcionar la liberación controlada o sostenida del producto que se va a suministrar después a través de una inyección de depósito. En determinadas realizaciones, el ácido hialurónico también puede usarse y puede tener el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. En determinadas realizaciones, pueden usarse dispositivos implantables de suministro de fármacos para introducir la molécula deseada.

- 5 En determinadas realizaciones, se puede formular una composición farmacéutica para inhalación. En determinadas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, se puede formular como un polvo seco para inhalación. En determinadas realizaciones, una solución para inhalación que comprende una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, puede formularse con un propelente para la administración por aerosol. En determinadas realizaciones, las soluciones se pueden nebulizar. La administración pulmonar se describe adicionalmente en la solicitud PCT n.º PCT/US94/001875, que describe el suministro pulmonar de proteínas modificadas químicamente.
- 10 En determinadas realizaciones, se contempla que las formulaciones pueden administrarse por vía oral. En determinadas realizaciones, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, que se administra de esta manera puede formularse con o sin los transportadores utilizados habitualmente en la composición de formas de dosificación sólidas tales como comprimidos y cápsulas. En determinadas realizaciones, se puede diseñar una cápsula para liberar la porción activa de la formulación en el punto del tracto
- 15 gastrointestinal cuando se maximiza la biodisponibilidad y se minimiza la degradación presistémica. En determinadas realizaciones, se puede incluir al menos un agente adicional para facilitar la absorción de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina y/o cualquier agente terapéutico adicional. En determinadas realizaciones, se pueden emplear también diluyentes, aromatizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes desintegrantes de comprimidos y aglutinantes.
- 20 En determinadas realizaciones, una composición farmacéutica puede implicar una cantidad eficaz de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. En determinadas realizaciones, disolviendo los comprimidos en agua estéril u otro vehículo apropiado, las soluciones se pueden preparar en forma de dosis unitarias.
- 25 En determinadas realizaciones, excipientes adecuados incluyen, aunque sin limitación, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico, carbonato o bicarbonato de sodio, lactosa o fosfato de calcio; o agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o goma arábiga; o agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.
- 30 Las composiciones farmacéuticas adicionales serán evidentes para los expertos en la materia, incluidas las formulaciones que implican una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos uno o más agentes terapéuticos adicionales, en formulaciones de suministro sostenido o controlado. En determinadas realizaciones, los expertos en la materia también conocen técnicas para formular una variedad de otros medios de suministro sostenido o controlado, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o perlas porosas e inyecciones de depósito. Véase, por ejemplo, la Solicitud PCT N.º PCT/US93/00829 que describe la liberación controlada de
- 35 micropartículas poliméricas porosas para el suministro de composiciones farmacéuticas. En determinadas realizaciones, las preparaciones de liberación sostenida pueden incluir matrices de polímeros semipermeables en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, polilactidas (Patente de Estados Unidos N.º 3.773.919 y EP 058.481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma etil-L-glutamato (Sidman et al, Biopolymers, 22:547-556 (1983)), poli(2-hidroxietilmetacrilato) (Langer et al., J Biomed Mater Res, 15: 167-277 (1981) y Langer, Chem Tech, 12:98-105 (1982)), acetato de etileno y vinilo (Langer et al, *supra*) o poli-D(-)-ácido-3-hidroxibutírico (documento EP 133.988). En determinadas realizaciones, las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas, que pueden prepararse por cualquiera de varios métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Eppstein et al, PNAS, 82:3688-3692 (1985); los documentos EP 036.676; EP 088.046 y EP 143.949.
- 45 La composición farmacéutica que se utilizará para la administración *in vivo* es generalmente estéril. En determinadas realizaciones, esto se lleva a cabo fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. En determinadas realizaciones, donde la composición está liofilizada, la esterilización usando este método puede realizarse antes o después de la liofilización y la reconstitución. En determinadas realizaciones, la composición para administración parenteral puede almacenarse en forma liofilizada o en una solución. En determinadas realizaciones, las composiciones parenterales generalmente se colocan en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, por ejemplo, una bolsa o vial de solución intravenosa que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica.
- 50 En determinadas realizaciones, una vez que se ha formulado la composición farmacéutica, se puede almacenar en viales estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido o como un polvo deshidratado o liofilizado. En determinadas realizaciones, tales formulaciones pueden almacenarse en una forma lista para su uso o en una forma (por ejemplo, liofilizada) que se reconstituya antes de la administración.
- 55 En determinadas realizaciones, se proporcionan kits para producir una unidad de administración de dosis única. En determinadas realizaciones, el kit puede contener tanto un primer recipiente que tiene una proteína seca como un segundo recipiente que tiene una formulación acuosa. En determinadas realizaciones, se incluyen kits que contienen jeringas precargadas de una o varias cámaras (p. ej., jeringas con líquido y liojeringas).
- 60 En determinadas realizaciones, se proporcionan kits para producir una unidad de administración de dosis única. En determinadas realizaciones, el kit puede contener tanto un primer recipiente que tiene una proteína seca como un segundo recipiente que tiene una formulación acuosa. En determinadas realizaciones, se incluyen kits que contienen jeringas precargadas de una o varias cámaras (p. ej., jeringas con líquido y liojeringas).
- 65 En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, a emplear terapéuticamente

5 dependerá, por ejemplo, del contexto terapéutico y los objetivos. Un experto en la materia apreciará que los niveles de dosificación apropiados para el tratamiento, de acuerdo con determinadas realizaciones, variarán de este modo dependiendo, en parte, de la molécula suministradas, la indicación para la que se está utilizando una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, la vía de administración y el tamaño (peso corporal, superficie corporal u tamaño del órgano) y/o condición (edad y estado general de salud) del paciente. En determinadas realizaciones, el médico puede valorar la dosis y modificar la vía de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo. En determinadas realizaciones, una dosis típica puede variar de aproximadamente 0,1 µg/kg a aproximadamente 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En determinadas realizaciones, la dosificación puede variar desde 0,1 µg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg; o de 1 µg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg; o de 5 µg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg.

15 En determinadas realizaciones, la frecuencia de dosificación tendrá en cuenta los parámetros farmacocinéticos de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina y/o cualquier agente terapéutico adicional en la formulación utilizada. En determinadas realizaciones, un médico administrará la composición hasta que se alcance una dosis que logre el efecto deseado. En determinadas realizaciones, por lo tanto, la composición puede administrarse como una dosis única, o como dos o más dosis (que pueden contener o no la misma cantidad de la molécula deseada) a lo largo del tiempo, o como una infusión continua a través de un dispositivo de implantación o catéter. El perfeccionamiento adicional de la dosificación apropiada se realiza rutinariamente por los expertos en la materia y está dentro del ámbito de las tareas realizadas rutinariamente por ellos. En determinadas realizaciones, se pueden determinar las dosis apropiadas mediante el uso de datos de dosis-respuesta apropiados.

25 En determinadas realizaciones, la ruta de administración de la composición farmacéutica está de acuerdo con los métodos conocidos, por ejemplo, por vía oral, a través de inyección por vía intravenosa, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimática), intracerebroventricular, intramuscular, subcutánea, intraocular, intraarterial, intraportal o intralesional; por sistemas de liberación sostenida o por dispositivos de implantación. En determinadas realizaciones, las composiciones pueden administrarse mediante inyección en bolo o continuamente mediante infusión, o mediante dispositivo de implantación.

30 En determinadas realizaciones, la composición puede administrarse localmente mediante la implantación de una membrana, esponja u otro material apropiado sobre el cual se ha encapsulado o absorbido la molécula deseada. En determinadas realizaciones, cuando se usa un dispositivo de implantación, el dispositivo puede implantarse en cualquier tejido u órgano adecuado, y el suministro de la molécula deseada puede realizarse por difusión, bolo de liberación programada o administración continua.

35 En determinadas realizaciones, puede ser deseable usar una composición farmacéutica que comprenda una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, de manera *ex vivo*. En dichos casos, las células, tejidos y/u órganos que se han extraído del paciente se exponen a una composición farmacéutica que comprende una molécula híbrida de nucleasa-albúmina, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, después de lo cual las células, tejidos y/u órganos se implantan posteriormente de nuevo en el paciente.

40 En determinadas realizaciones, se puede suministrar una molécula híbrida de nucleasa-albúmina y/o cualquier agente terapéutico adicional mediante la implantación de determinadas células que se han modificado por ingeniería genética, utilizando métodos como los descritos en el presente documento, para expresar y secretar los polipéptidos. En determinadas realizaciones, tales células pueden ser células animales o humanas, y pueden ser autólogas, heterólogas o xenogénicas. En determinadas realizaciones, las células se pueden inmortalizar. En determinadas realizaciones, para disminuir la posibilidad de una respuesta inmunitaria, las células pueden encapsularse para evitar la infiltración de los tejidos circundantes. En determinadas realizaciones, los materiales de encapsulación suelen ser carcasas o membranas poliméricas semipermeables biocompatibles que permiten la liberación de los productos proteicos pero evitan la destrucción de las células por el sistema inmunitario del paciente o por otros factores perjudiciales de los tejidos circundantes.

Ensayos *In vitro*

55 Se pueden usar varios ensayos *in vitro* conocidos en la técnica para evaluar la eficacia de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la presente invención.

60 Por ejemplo, los ensayos de actividad RNasa se pueden realizar utilizando kits comercialmente disponibles para medir la actividad RNasa, por ejemplo, el Sistema de Control de Calidad RNaseAlert™. De manera similar, los ensayos de actividad DNasa se realizaron usando kits disponibles comercialmente para medir la actividad DNasa, por ejemplo, el Sistema de Control de Calidad DNaseAlert™ (Life Technologies).

65 Además, Las PBMC humanas cultivadas de pacientes normales o con lupus se pueden aislar, cultivar y tratar con diversos estímulos (p. ej., ligandos de TLR, anticuerpos coestimuladores, complejos inmunitarios y sueros normales o autoinmunitarios), en presencia o ausencia de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. La producción de citocinas por las células estimuladas se puede medir utilizando reactivos disponibles comercialmente, tales como los kits de pares de anticuerpos de Biolegend (San Diego, CA) para diversas citocinas (por ejemplo, IL-6, IL-8, IL-10, IL-4, IFN-

gamma y TNF-alfa). Los sobrenadantes de cultivo se cosechan en varios puntos temporales según sea apropiado para el ensayo (por ejemplo, 6, 12, 24, 48 horas o puntos temporales posteriores) para determinar los efectos que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina tienen sobre la producción de citocinas. Se pueden emplear ensayos ELISA específicos para medir la producción de citocinas. Por ejemplo, los kits ELISA disponibles comercialmente están disponibles de Thermo Fisher Scientific, Inc. Se realizan ensayos similares usando subpoblaciones de linfocitos humanos (monocitos aislados, linfocitos B, CDp, linfocitos T, etc.); purificados usando, por ejemplo, kits de aislamiento basados en perlas magnéticas disponibles comercialmente disponibles de Miltenyi Biotech (Auburn, CA).

La citometría de flujo multicolor puede usarse para evaluar los efectos de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en la activación de las células inmunitarias después de la exposición a ligandos de TLR y/o complejos inmunitarios midiendo la expresión de receptores de activación de linfocitos tales como CD5, CD23, CD69, CD80, CD86 y CD25 en PBMC o subpoblaciones de células aisladas en varios puntos temporales después de la estimulación utilizando métodos de rutina reconocidos en la técnica.

La eficacia de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina también se puede probar incubando suero de pacientes con LES con CDp humanas normales para activar la producción de IFN, como se describe en, por ejemplo, Ahlin et al., *Lupus* 2012;21:586-95; Mathsson et al., *Clin Expt Immunol* 2007;147:513-20; y Chiang et al., *J Immunol* 2011;186:1279-1288. Sin quedar ligado a la teoría, los complejos inmunitarios circulantes que contienen ácidos nucleicos en los sueros de pacientes con LES facilitan la entrada del antígeno de los ácidos nucleicos en los endosomas de CDp a través de la endocitosis mediada por el receptor Fc, seguido de la unión de los ácidos nucleicos y la activación de los TLR endosómicos 7, 8 y 9. Para evaluar el impacto de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina, los sueros o plasma de pacientes con LES se tratan previamente con las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina, seguido de la adición a cultivos de células CDp aisladas de voluntarios sanos. Los niveles de IFN- α producidos se determinan en múltiples puntos temporales. Al degradar los complejos inmunitarios que contienen ácidos nucleicos, se espera que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina eficaces reduzcan la cantidad de IFN- α producido.

La eficacia de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se puede evaluar perfilando su capacidad para degradar los ligandos de receptores tipo Toll (TLR). Las células HEK Blue (Invivogen) pueden modificarse por ingeniería para expresar TLR humanos, incluidos TLR3 y TLR9. Cuando se cultivan en presencia de un ligando apropiado, las células HEK Blue secretan una fosfatasa alcalina (SEAP) que se detecta fácilmente en el medio acondicionado usando un sustrato colorométrico. Por ejemplo, TLR3 reconoce los ligandos de ARNbc, tales como poli(I:C), mientras que TLR9 reconoce secuencias específicas de CpG-ODN no metiladas. La incubación del ligando apropiado con diversas construcciones RSLV provocará una inhibición dependiente de la concentración en la producción de SEAP. Tras el tratamiento, la cantidad de SEAP producida se reduce a los niveles generados por las células no estimuladas por TLR. Esto será consistente con la actividad nucleasa (RNasa o DNasa).

La eficacia de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se demuestra al comparar los resultados de un ensayo de células tratadas con las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina divulgadas en el presente documento con los resultados del ensayo de células tratadas con formulaciones de control. Tras el tratamiento, los niveles de los diversos marcadores (p. ej., citocinas, receptores de la superficie celular, proliferación) descritos anteriormente generalmente mejoran en un grupo tratado con una molécula híbrida de nucleasa-albúmina eficaz en relación con los niveles de marcadores existentes antes del tratamiento, o en relación con los niveles medidos en un grupo de control.

Métodos de tratamiento

Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención son particularmente eficaces en el tratamiento de trastornos autoinmunitarios o respuestas inmunitarias anormales. En este sentido, se apreciará que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la presente invención pueden usarse para controlar, suprimir, modular, tratar o eliminar respuestas inmunitarias no deseadas tanto a antígenos externos como a autoantígenos.

En otro aspecto, una molécula híbrida de nucleasa-albúmina está adaptada para prevenir (profilácticamente) o tratar (terapéuticamente) una enfermedad o trastorno, tal como una enfermedad autoinmunitaria, en un mamífero mediante la administración de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina en una cantidad terapéuticamente eficaz o una cantidad suficiente para el mamífero que lo necesita, en el que se previene o trata la enfermedad. La invención contempla cualquier vía de administración adecuada para lograr el efecto deseado (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea). El tratamiento de la patología puede dar como resultado una disminución de los síntomas asociados con la afección, que puede ser a largo o corto plazo, o incluso un efecto beneficioso transitorio.

Numerosas patologías son adecuadas para el tratamiento con las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención. Por ejemplo, en algunos aspectos, la enfermedad o trastorno es una enfermedad autoinmunitaria o cáncer. En algunos de estos aspectos, la enfermedad autoinmunitaria es diabetes mellitus insulín dependiente, esclerosis múltiple, encefalomielite autoinmunitaria experimental, artritis reumatoide, artritis autoinmunitaria experimental, miastenia grave, tiroiditis, una forma experimental de uveorretinitis, tiroiditis de Hashimoto, mixoedema primario, tirotoxicosis, anemia perniciosa, gastritis atrófica autoinmunitaria, enfermedad de Addison, menopausia prematura, infertilidad masculina, diabetes juvenil, síndrome de Goodpasture, pénfigo vulgar, penfigoide, oftalmia del simpático,

uveítis facogénica, anemia hemolítica autoinmunitaria, leucopenia idiopática, cirrosis biliar primaria, hepatitis crónica activa Hbs negativa, cirrosis criptogénica, colitis ulcerosa, síndrome de Sjogren, esclerodermia, granulomatosis de Wegener, polimiositis, dermatomiositis, LE discoide, LES o enfermedad de tejido conectivo.

5 En una realización específica, se usa una molécula híbrida de nucleasa-albúmina para prevenir o tratar LES o el síndrome de Sjogren. La eficacia de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina se demuestra al comparar los niveles de IFN-alfa, los niveles del gen de respuesta de IFN-alfa, los títulos de autoanticuerpos, la función y patología renal y/o los niveles de complejos inmunitarios circulantes en mamíferos tratados con una molécula híbrida de nucleasa-albúmina divulgada en el presente documento a los de los mamíferos tratados con formulaciones de control.

10 Por ejemplo, se selecciona o identifica a un sujeto humano que necesita tratamiento (por ejemplo, un paciente que cumple con los criterios del American College of Rheumatology para LES, o un paciente que cumple con los Criterios de Clasificación de Sjogren del Consenso Americano-Europeo). El sujeto puede necesitar, por ejemplo, reducir una causa o síntoma de LES o síndrome de Sjogren. La identificación del sujeto puede producirse en un entorno clínico, o en otro lugar, por ejemplo, en el hogar del sujeto a través del uso del sujeto de un kit de autoevaluación.

15 En el momento cero, se administra al sujeto una primera dosis adecuada de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina se formula como se describe en el presente documento. Después de un período de tiempo después de la primera dosis, por ejemplo, 7 días, 14 días y 21 días, se evalúa la afección del sujeto, por ejemplo, midiendo los niveles de IFN-alfa, los niveles del gen de respuesta de IFN-alfa, los títulos de autoanticuerpos, la función y patología renal y/o los niveles de complejos inmunitarios circulantes. También se pueden medir otros criterios relevantes. El número y el valor de las dosis se ajustan de acuerdo con las necesidades del sujeto. Tras el tratamiento, los niveles de IFN-alfa, los niveles del gen de respuesta de IFN-alfa, los títulos de autoanticuerpos, la función y patología renal y/o los niveles de complejos inmunitarios circulantes se reducen y/o mejoran en relación con los niveles existentes antes del tratamiento, o en relación con los niveles medidos en un sujeto similarmente afectado pero no tratado/control.

20 En otro ejemplo, se selecciona o identifica un sujeto roedor que necesita tratamiento (véase, por ejemplo, el Ejemplo 9). La identificación del sujeto puede producirse en un laboratorio o en otro lugar. En el momento cero, se administra al sujeto una primera dosis adecuada de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina. La molécula híbrida de nucleasa-albúmina se formula como se describe en el presente documento. Después de un período de tiempo después de la primera dosis, por ejemplo, 7 días, 14 días y 21 días, se evalúa la afección del sujeto, por ejemplo, midiendo los niveles de IFN-alfa, los niveles del gen de respuesta de IFN-alfa, los títulos de autoanticuerpos, la función y patología renal y/o los niveles de complejos inmunitarios circulantes. También se pueden medir otros criterios relevantes. El número y el valor de las dosis se ajustan de acuerdo con las necesidades del sujeto.

30 Tras el tratamiento, los niveles de IFN-alfa, los niveles del gen de respuesta de IFN-alfa, los títulos de autoanticuerpos, la función y patología renal y/o los niveles de complejos inmunitarios circulantes se reducen y/o mejoran en relación con los niveles existentes antes del tratamiento, o en relación con los niveles medidos en un sujeto similarmente afectado pero no tratado/control.

35 Otro aspecto de la presente divulgación es usar métodos de terapia génica para tratar o prevenir trastornos, enfermedades y afecciones con una o más moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. Los métodos de terapia génica se refieren a la introducción de secuencias de los ácidos nucleicos de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina (ADN, ARN y ADN o ARN antisentido) en un animal que lo necesita para lograr la expresión del polipéptido o polipéptidos de la presente invención. Este método puede incluir la introducción de uno o más polinucleótidos que codifican un polipéptido de molécula híbrida de nucleasa-albúmina de la presente invención operativamente acoplado a un promotor y cualquier otro elemento genético necesario para la expresión del polipéptido por el tejido diana.

40 En aplicaciones de terapia génica, los genes de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina se introducen en las células para lograr la síntesis *in vivo* de un producto génico terapéuticamente eficaz. La "terapia génica" incluye tanto terapias génicas convencionales en las que se logra un efecto duradero mediante un solo tratamiento, como la administración de agentes terapéuticos génicos, que implica la administración única o repetida de un ADN o ARNm terapéuticamente eficaz. Los oligonucleótidos pueden modificarse para potenciar su captación, por ejemplo, sustituyendo sus grupos fosfodiéster con carga negativa por grupos sin carga.

Ejemplos

45 A continuación hay ejemplos de realizaciones específicas para llevar a cabo la presente invención. Los ejemplos se ofrecen con fines meramente ilustrativos y no se pretende limitar con ellos el alcance de la invención de modo alguno. Se han realizado esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero, por supuesto, deberían permitirse algunos errores y desviaciones experimentales.

50 La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología, dentro de la habilidad en la técnica. Tales técnicas se explican por completo en la bibliografía. Véase, por ejemplo, T.E. Creighton, Proteins: Structures

and Molecular Properties (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2ª Edición, 1989); Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey y Sundberg Advanced Organic Chemistry 3ª Ed. (Plenum Press) Vols A and B (1992).

Ejemplo 1

Generación de vectores de expresión que codifican moléculas híbridas de nucleasa-albúmina

RSLV-132 y RSLV-133 son construcciones de fusión de nucleasas modificadas por ingeniería en el armazón de Fc de IgG1 humana, descrito en el documento WO 2012/149440. La porción Fc extiende la semivida circulatoria de las construcciones *in vivo*. La albúmina sérica humana (HSA), como IgG1, posee una semivida circulatoria prolongada como resultado de ser reciclada a través del receptor de Fc neonatal (FcRn). A diferencia de una construcción de Fc que forma de manera natural un dímero, HSA es monomérica. Para explorar si el armazón de HSA ofrecía ventajas para construir construcciones de fusión de nucleasas de larga duración, se diseñaron, expresaron y caracterizaron una serie de nuevas construcciones de fusión de HSA que contenían nucleasa dual (tanto RNasa como DNasa).

En la Figura 1 se muestran diversas realizaciones de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención, con las secuencias de aminoácidos de cada una presentadas en la Tabla 1. Se construyeron varias de las siguientes moléculas híbridas de nucleasa-albúmina ejemplares, RSLV-301, RSLV-302, RSLV-303, RSLV-304, RSLV-305, RSLV-306, RSLV-307, RSLV-308, RSLV-309, RSLV-310, RSLV-311, RSLV-312, RSLV-313, RSLV-314, RSLV-315, RSLV-316, RSLV-317, RSLV-318, RSLV-319, RSLV-320, RSLV-321, RSLV-322, RSLV-323, RSLV-324, RSLV-325, RSLV-326, RSLV-327, RSLV-328, RSLV-329, RSLV-330, RSLV-331 y RSLV-332. Específicamente, a partir de la secuencia de aminoácidos de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina, los polinucleótidos que codifican las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se sintetizaron directamente utilizando la optimización de codones por Genescript (Genescript, Piscataway, N.J.) para permitir una expresión óptima en células de mamíferos. El proceso de optimización implicaba, por ejemplo, evitar regiones de contenido de GC muy alto (> 80 %) o muy bajo (<30 %) cuando fuera posible, y evitar motivos de secuencia que actúen en *cis*, tal como cajas TATA internas, sitios chi y sitios de entrada al ribosoma, tramos de secuencias ricas en AT o ricas en GC, motivos de inestabilidad de ARN, secuencias repetidas y estructuras secundarias de ARN y sitios donadores y aceptores de corte empalme críptico en eucariotas superiores. Los plásmidos que codifican las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se obtuvieron de GeneArt en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3.1+. Las siguientes moléculas híbridas de nucleasa-albúmina denominadas RSLV-301, RSLV-302, RSLV-303, RSLV-304, RSLV-308, RSLV-310, RSLV-311, RSLV-312, RSLV-313, RSLV-314, RSLV-319, RSLV-320, RSLV-323, RSLV-324, RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329 se generaron transformando los plásmidos en células competentes DH10B. Los cultivos se expandieron en selección con ampicilina y el ADN se preparó para la transfección usando el Maxi kit Qiagen Plasmid Plus.

RSLV-301 (SEQ ID NO: 18) tiene la configuración HSA-RNasa1, en donde un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre (SEQ ID NO: 75) está operativamente acoplado al extremo C de HSA de tipo silvestre (SEQ ID NO: 1). La secuencia del ácido nucleico de RSLV-301 se expone en la SEQ ID NO: 90.

RSLV-302 (SEQ ID NO: 19) tiene la configuración RNasa1-HSA, en donde un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo N de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-302 se expone en la SEQ ID NO: 91.

RSLV-303 (SEQ ID NO: 20) tiene la configuración HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1, en donde un dominio RNasa 1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ (SEQ ID NO: 85) al extremo C de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-303 se expone en la SEQ ID NO: 92.

RSLV-304 (SEQ ID NO: 21) tiene la configuración RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA, en donde un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-304 se expone en la SEQ ID NO: 93.

RSLV-305 (SEQ ID NO: 22) tiene la configuración RNasa1-HSA-RNasa1, en donde un primer dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un segundo dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo C del HSA de tipo silvestre.

RSLV-306 (SEQ ID NO: 23) tiene la configuración RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1, en donde un primer dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un segundo dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está acoplado operablemente a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre.

RSLV-307 (SEQ ID NO: 24) tiene la configuración RNasa1-HSA-RNasa1 A114F, en donde un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo N de HSA de tipo silvestre y un dominio DNasa1 A114F humana mutante (SEQ ID NO: 68) está operativamente acoplado al extremo C de la HSA de tipo silvestre.

- 5 RSLV-308 (SEQ ID NO: 25) tiene la configuración RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 A114F, en donde un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-308 se expone en la SEQ ID NO: 94.
- 10 RSLV-309 (SEQ ID NO: 26) tiene la configuración DNasa1 A114F-HSA-RNasa1, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado al extremo C del HSA de tipo silvestre.
- 15 RSLV-310 (SEQ ID NO: 27) tiene la configuración DNasa1 A114F-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplado a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-310 se expone en la SEQ ID NO: 95.
- 20 RSLV-311 (SEQ ID NO: 28) tiene la configuración DNasa1 A114F-HSA, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado al extremo N de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-311 se expone en la SEQ ID NO: 96.
- 25 RSLV-312 (SEQ ID NO: 29) tiene la configuración HSA-DNasa1 A114F, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado al extremo C de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-312 se expone en la SEQ ID NO: 97.
- 30 RSLV-313 (SEQ ID NO: 30) tiene la configuración DNasa1 A114F-(Gly₄Ser)₃-HSA, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-313 se expone en la SEQ ID NO: 98.
- 35 RSLV-314 (SEQ ID NO: 31) tiene la configuración HSA-(Gly₄Ser)₃DNasa1 A114F, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre. La secuencia del ácido nucleico de RSLV-314 se expone en la SEQ ID NO: 99.
- RSLV-315 (SEQ ID NO: 32) tiene la configuración RNasa1 N34S/N76S/N88S-(Gly₄Ser)₃-HSA, en donde un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante (SEQ ID NO: 84) está operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre. Los restos de asparaginas en las posiciones 62, 104 y 116 (aceptores potenciales de la glicosilación ligada a N) de la RNasa 1 humana están mutados a serina.
- 40 RSLV-316 (SEQ ID NO: 33) tiene la configuración HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1 N34S/N76S/N88S, en donde un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante está operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre.
- 45 RSLV-317 (SEQ ID NO: 34) tiene la configuración DNasa1 N/40S/N128S/A114F-(Gly₄Ser)₃-HSA, en donde un dominio DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante (SEQ ID NO: 83) está operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre. Los restos de asparagina en las posiciones 40 y 128 de la DNasa1 humana son posibles aceptores de glicosilación ligada a N.
- 50 RSLV-318 (SEQ ID NO: 35) tiene la configuración HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 N18S/N106S/A114F, en donde un dominio DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de un enlazador (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre.
- 55 RSLV-319 (SEQ ID NO: 36) tiene la configuración RNasa1 N34S/N76S/N88S-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 A114F, en donde un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre.
- 60 RSLV-320 (SEQ ID NO: 37) tiene la configuración DNasa1 A114F-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1 N34S/N76S/N88S, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante está operativamente acoplado a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre.
- 65 RSLV-321 (SEQ ID NO: 38) tiene la configuración RNasa1 N34S/N76S/N88S-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 N18S/N106S/A114F, en donde un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃

al extremo C de HSA de tipo silvestre.

5 RSLV-322 (SEQ ID NO: 39) tiene la configuración DNasa1 N18S/N 106S/A114F-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1 N34S/N76S/N88S, en donde un dominio DNasa1 N18S/N106S/A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una primera secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo N de HSA de tipo silvestre, y un dominio RNasa1 N34S/N76S/N88S humana mutante está operativamente acoplado a través de una segunda secuencia (Gly₄Ser)₃ al extremo C de HSA de tipo silvestre.

10 RSLV-323 (SEQ ID NO: 40) tiene la configuración DNasa1 A114F-(Gly₄Ser)₃-RNasa1-HSA, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una RNasa1 humana de tipo silvestre, y en donde la RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplada al extremo N de la HSA de tipo silvestre.

15 RSLV-324 (SEQ ID NO: 41) tiene la configuración HSA-RNasa1-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 A114F, en donde un dominio DNasa1 A114F humana mutante está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una RNasa1 humana de tipo silvestre, y en donde la RNasa1 humana de tipo silvestre está operativamente acoplada al extremo C de la HSA de tipo silvestre.

20 RSLV-325 (SEQ ID NO: 110) tiene la configuración HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K, en donde la HSA humana de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K.

25 RSLV-326 (SEQ ID NO: 111) tiene la configuración DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K-(Gly₄Ser)₃-HSA, en donde un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre.

30 RSLV-327 (SEQ ID NO: 112) tiene la configuración RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K, en donde RNasa1 está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre, y en donde la HSA de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K.

35 RSLV-328 (SEQ ID NO: 113) tiene la configuración dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1, en donde DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre, y en donde la HSA de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a un dominio RNasa1.

40 RSLV-329 (SEQ ID NO: 114) tiene la configuración RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-NLG-DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K, en donde RNasa1 está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre, y en donde la HSA humana de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia NLG a un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K. RSLV-330 (SEQ ID NO: 115) tiene la configuración DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N 106S-(Gly₄Ser)₃-HSA, en donde un dominio DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre

45 RSLV-331 (SEQ ID NO: 116) tiene la configuración RNasa1-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-DNasa1E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S, en donde RNasa1 está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre, y en donde la HSA de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a un dominio DNasa1E13R/N74K/A114F/T205K/ N18S/N106S.

50 RSLV-332 (SEQ ID NO: 117) tiene la configuración dominio DNasa1E13R/N74K/A114F/T205K/ N18S/N106S-(Gly₄Ser)₃-HSA-(Gly₄Ser)₃-RNasa1, en donde DNasa1 E13R/N74K/A114F/T205K/ N18S/ N106S está operativamente acoplado a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a una HSA de tipo silvestre, y en donde la HSA de tipo silvestre está operativamente acoplada a través de una secuencia (Gly₄Ser)₃ a un dominio RNasa1.

55 Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina de la invención también pueden generarse usando técnicas de clonación convencionales bien conocidas en la técnica, por ejemplo, preparando casetes modulares de cada componente de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina (por ejemplo, dominio nucleasa, dominio enlazador, HSA) con sitios de enzimas de restricción compatibles para permitir la transferencia y el intercambio de dominios. Se puede obtener fácilmente un polinucleótido que codifica cada componente de la molécula híbrida de nucleasa-albúmina (por ejemplo, RNasa, DNasa, HSA) amplificando el componente de interés usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de una biblioteca de ADNc apropiada. Por ejemplo, las secuencias de nucleótidos de longitud completa de RNasa1, DNasa1 y HSA humanas pueden amplificarse a partir de ADNc cebado al azar y cebado con oligo dT derivado de ARN pancreático humano total disponible comercialmente (Ambion/Applied Biosystems, Austin, TX) usando los cebadores 5' y 3' específicos de secuencia basados en secuencias publicadas del componente que se está amplificando (o como se muestra en la Tabla 1). Los amplicones de PCR se purifican mediante electroforesis en gel de agarosa y posterior aplicación a columnas de purificación de gel QIAquick. Los amplicones purificados se clonan en un vector conveniente para la subclonación y el posterior intercambio y transferencia de dominios (por ejemplo, el vector de clonación pC42.1

TOPO; Invitrogen, Carlsbad, CA). Los polinucleótidos que codifican dominios de nucleasa mutantes o variantes de HSA se generan mediante la introducción de mutaciones en el dominio de interés utilizando kits disponibles comercialmente (por ejemplo, kit de mutagénesis de sitio dirigido QuickChange™; Stratagene), o PCR de extensión solapante para introducir mutaciones en las posiciones deseadas, seguido de secuenciación de ADN para confirmar que se introducen las mutaciones previstas. Los enlazadores (p. ej., enlazadores (Gly₄Ser)₃) pueden generarse mediante solapamiento de PCR utilizando métodos de rutina, o mediante síntesis directa utilizando servicios disponibles comercialmente, y diseñarse para tener salientes o ser romos para facilitar la posterior clonación y permitir la fusión con otros dominios de interés.

10 Ejemplo 2

Expresión transitoria de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina

15 Para la expresión transitoria, los vectores de expresión del Ejemplo 1 que contienen los insertos de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina (es decir, RSLV-301, RSLV-302, RSLV-303, RSLV-304, RSLV-308, RSLV-310, RSLV-311, RSLV-312, RSLV-313, RSLV-314, RSLV-319, RSLV-320, RSLV-323, RSLV-324, RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329) se transfectaron transitoriamente usando el reactivo FreeStyle™ MAX en células de ovario de hámster chino (CHO), por ejemplo, células CHO-S (por ejemplo, células FreeStyle™ CHO-S, Life Technologies).

20 Las transfecciones se realizaron utilizando el Sistema de Expresión FreeStyle MAX CHO obtenido de Life Technologies. Un día antes de la transfección, las células CHO-S se sembraron a una densidad de 5×10^6 células/ml en 150 ml de medio de expresión FreeStyle CHO suplementado con glutamina 8 mM; los matraces se colocaron posteriormente en un agitador orbital que giraba a 120-135 rpm y se incubaron durante la noche en una incubadora de CO₂ al 8 % a 37 °C. En el día de la transfección, las células CHOS se cosecharon y luego se volvieron a sembrar a una densidad de 1×10^6 células/ml en 150 ml de Medio de Expresión FreeStyle CHO suplementado con L-glutamina 8 mM. 187,5 µg de un plásmido de ADN individual se diluyeron en 3 ml de OptiPRO SFM y se mezclaron por inversión repetida. En un tubo separado, se mezclaron 187,5 µl de reactivo de transfección FreeStyle MAX con 3 ml de OptiPro SFM y por inversión. El reactivo de transfección FreeStyle MAX diluido se añadió inmediatamente a la solución de ADN plasmídico diluido (volumen total = 6 ml); la solución resultante se mezcló suavemente por inversión y se dejó que se formaran complejos durante 10 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de transfección se añadió después lentamente al cultivo de 150 ml de células CHO-S mientras se agitaba suavemente el matraz. Los cultivos se incubaron en una plataforma agitadora orbital (120-135 rpm) a 37 °C en una incubadora con CO₂ al 8 %. Después de 5 días de crecimiento, las células se cosecharon por centrifugación (1000 rpm durante 10 minutos) y el medio acondicionado se recuperó, se filtró por paso a través de una membrana de 0,22 µm y se congeló. Los volúmenes de transfección se ampliaron para obtener mayores volúmenes de sobrenadante.

La expresión de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se analizó mediante análisis de transferencia Western convencional. La expresión de cada una de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina generadas se observó al tamaño esperado.

40 Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se purificaron usando un proceso de purificación de dos etapas. Lo siguiente se basa en la purificación de RSLV-308. En primer lugar, se realizó una cromatografía de intercambio iónico utilizando resina Q Sepharose Fast Flow (GE Healthcare). Específicamente, los sobrenadantes de cultivo se diluyeron con 2 volúmenes de HEPES 75 mM pH 7,2 y se pasaron sobre una columna Q Sepharose Fast Flow, previamente equilibrada con tampón A (HEPES 50 mM pH 7,2, NaCl 50 mM, CaCl₂ 1 mM), con un volumen de lecho de 20 ml a 6 ml/minuto con monitorización continua (DO₂₈₀). La columna se lavó después con 100 ml de Tampón A. Se ejecutó un gradiente lineal de 100 % de Tampón A a 100 % de Tampón B (HEPES 50 mM pH 7,2, NaCl 1 M, CaCl₂ 1 mM) en 400 ml, durante el cual se recogieron fracciones de seis ml (Figura 2). Para identificar fracciones que contienen RSLV-308, se sometieron a electroforesis partes alícuotas de las fracciones individuales en gel de SDS. Las fracciones se diluyeron añadiendo 10 µl de 4x Tampón de Carga de Proteínas (Licor) a 30 µl de la fracción individual y se desnaturalizaron por calor. Las muestras se sometieron a electroforesis usando geles de gradiente de Tris-Glicina al 4-20 % de Novex, 1,0 mm x 10 pocillos (Invitrogen), 30 µl de cada muestra diluida cargada/pocillo y se visualizaron con Simply Blue Safe Stain (Invitrogen) (Figura 3). Como se muestra en la Figura 3, se detectó una importante banda de tinción Simply Blue en el material de partida (MP débil) con un PM aparente de 110 kDa. La masa teórica de RSLV-308 basada en su secuencia de aminoácidos es de 112 kDa. Después de la aplicación del medio acondicionado, el flujo continuo (carril FC) se agotó de la especie de 110 kDa, lo que indica la unión de esta especie a la resina. Después del inicio del gradiente de NaCl, la especie de 110 kDa se recuperó predominantemente en las fracciones 16-22. Estas fracciones correspondieron al máximo de DO₂₈₀ eluyendo entre 96 y 108 minutos (Figura 2). Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina también se visualizaron mediante análisis de Transferencia Western para migrar al tamaño esperado.

60 Como una segunda etapa de purificación, se realizó una cromatografía preparativa de exclusión por tamaño usando Superdex 200 10/300 (GE Healthcare). Las fracciones Q Sepharose 17-21 se agruparon y la proteína incluida se concentró a 1 ml usando concentradores de proteína Pierce con un corte de PM de 9K y se filtró a 0,22 µm. Se inyectaron 500 µl del conjunto concentrado en una columna SuperDex 200 10/300 que se había equilibrado con HEPES 25 mM, pH 7,0, CaCl₂ 1 mM y tampón de ejecución de NaCl 150 mM. El caudal fue de 0,5 ml/minuto y se recogieron

fracciones de 0,5 ml a lo largo de la ejecución. Como se muestra en la Figura 4A, el perfil de elución a OD₂₈₀ resultante indicó la presencia de un máximo directo heterogéneo grande y un máximo posterior más pequeño. Las alícuotas de las fracciones individuales se analizaron mediante SDS PAGE para visualizar la elución de las especies RSLV-308 de 110 kDa. Las fracciones se diluyeron añadiendo 10 µl de 4x Tampón de Carga de Proteínas (Licor) a 30 µl de cada fracción. Las muestras se sometieron a electroforesis usando geles de gradiente de Tris-Glicina al 4-20 % de Novex, 1,0 mm x 10 pocillos (Invitrogen), 30 µl de muestra/pocillo diluido y se visualizaron con Simply Blue Safe Stain (Invitrogen) (Figura 4B). Como se muestra en la Figura 4B, las especies de 110 kDa eluyeron como un solo máximo correspondiente a las fracciones 10-14. Se detectaron numerosas especies de PM inferior en las fracciones 13-19; se desconoce la identidad de estos polipéptidos. Para maximizar la pureza, solo las fracciones 10-13 se agruparon como producto final. Los 0,5 ml restantes de Q Sepharose concentrada se sometieron a la misma etapa de cromatografía Superdex y las fracciones agrupadas resultantes se combinaron con las generadas durante la primera ejecución como rendimiento final. Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina purificadas también se visualizaron mediante análisis de Transferencia Western al tamaño esperado.

15 Cada una de las construcciones de la serie RSLV-300 que se purificaron siguió el esquema descrito en el presente documento para RSLV-308. Los perfiles de elución Q Sepharose y Superdex 200 fueron muy similares para cada construcción. La Tabla 2 resume los rendimientos globales que se lograron a partir de los esfuerzos de purificación. Las concentraciones finales de proteína de los grupos purificados por SEC se calcularon basándose en los valores de DO₂₈₀ medidos y los coeficientes de extinción teóricos.

20 Tabla 2: Recuperación de construcciones RSLV-300 después de la transfección transitoria en células CHO-S

Construcción RSLV-300	Volumen Inicial del Medio Acondicionado de la Transfección de CHO-S (ml)	Rendimiento Total de Proteínas de la Purificación en 2 Etapas * (mg)	Título de Producción (ug/ml)
RSLV-308	150	0,65	4,3
RSLV-310	250	1,65	6,6
RSLV-319	150	0,79	5,3
RSLV-320	300	2,18	7,3
RSLV-323	150	2,10	14,0
RSLV-324	195	0,56	2,9
RSLV-327	300	0,74	2,5
RSLV-328	300	1,55	5,2

* En algunos casos, solo se aplicaron 0,5 ml de cada uno de los grupos concentrados de Q Sepharose (de las construcciones individuales RSLV-300) a la columna Superdex 200. Los rendimientos globales se basan en la recuperación de proteínas de esta alícuota de 0,5 ml y se corrigen para el volumen total del grupo de Q Sepharose.

Ejemplo 3

Caracterización Bioquímica

5

Análisis de transferencia de Western

Para confirmar que las construcciones purificadas contenían los dominios antigénicos previstos, se realizó un análisis de Transferencia Western usando anticuerpos específicos para HSA, RNasa1 y DNasa1. Se cargaron 1,5 µg de proteína en cada carril y las muestras se sometieron a electroforesis en un gel Tris-Glicina al 4-20 % en condiciones desnaturalizantes/no reductoras. Después de la electroforesis, las proteínas se transfirieron a nitrocelulosa y las manchas posteriormente se extinguieron por incubación en Tampón de Bloqueo Odyssey durante 1 hora. Una mancha se expuso secuencialmente a: 1 µg/ml de anti-RNasaA de conejo, dilución de 1 a 10.000 de anti-IgG de conejo de cabra etiquetada con AlexaFluor680, 1 µg/ml de anti-HSA de ratón y una dilución de 1 a 10.000 de anti-IgG de ratón de cabra etiquetada con DyLight800. Las manchas se fotografiaron usando un Licor Odyssey. Cuando se sondeó con anti-RNasa (etiqueta roja fluorescente) y anti-HSA (etiqueta verde fluorescente), las ocho construcciones aparecieron de color amarillo, indicando que ambos anticuerpos se unieron a las construcciones (Figura 5A). Otra mancha se expuso secuencialmente a: 1 µg/ml de anti-DNasa A1 de conejo, dilución de 1 a 10.000 de anti-IgG de conejo de cabra etiquetada con AlexaFluor680, 1 µg/ml de anti-HSA de ratón y una dilución de 1 a 10.000 de anti-IgG de ratón de cabra etiquetada con DyLight800. De manera similar, cuando se sondeó con anti-DNasa 1 (etiqueta roja fluorescente) y anti-HSA (etiqueta verde fluorescente), las ocho construcciones nuevamente aparecieron de color amarillo, indicando la unión de ambos anticuerpos (Figura 5B). Por lo tanto, las construcciones purificadas de 110 kDa parecen poseer los dominios antigénicos previstos.

Cromatografía de exclusión por tamaño HPLC

El comportamiento cromatográfico de tres construcciones individuales de la serie RSLV-300 se evaluó mediante cromatografía de exclusión por tamaño HPLC para proporcionar información adicional sobre la pureza. Una columna TSK-Gel G300SW_{XL} (Tosoh Bioscience LLC) se equilibró en sulfato de sodio 0,1 M, acetato de sodio 0,1, pH 6, y se eluyó a un caudal de 1 ml/min. Cada una de las construcciones eluyó principalmente como un máximo único con un tiempo de elución cercano a 7,6 minutos (Figura 6). Basado en la comparación de los tiempos de elución de los patrones de peso molecular, esto equivaldría a un PM aparente entre 158 kDa y 330 kDa. El máximo principal en el cromatograma de RSLV-308 (Figura 6A) estaba bien definido (máximo a 7,64 minutos) con varias especies más pequeñas y menos abundantes también presentes. Por el contrario, los máximos principales en los cromatogramas de RSLV-327 (máximo a los 7,64 minutos) (Figura 6B) y RSLV-328 (máximo a los 7,73 minutos) (Figura 6C) fueron más amplios y contenían salientes posteriores. Los tiempos de retención observados caen entre los tiempos de retención de 6,99 minutos y 8,12 minutos de los patrones de calibración de IgG (158 kDa) y monómero de tiroglobulina (330 kDa) (no mostrados).

Ejemplo 4

Actividad nucleasa de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina purificadas

Para evaluar la actividad catalítica relativa de las nucleasas, las construcciones se perfilaron una al lado de otra utilizando los kits de sustrato RNaseAlert® o DNaseAlert®. En este análisis, se calcularon las tasas de hidrólisis para cada sustrato y se compararon con la actividad de RSLV-133, una construcción de fusión de nucleasa que contiene tanto RNasa como DNasa. Cuando se expresaron como un porcentaje de la actividad de RSLV-133, las actividades RNasa observadas de las construcciones de la serie RSLV-300 fueron consistentemente menores, variando del 15 % para RSLV-323 al 31 % para RSLV-310 (Tabla 3). De manera análoga, la actividad DNasa de las construcciones de

la serie 300 tiene una lectura consistentemente menor que la derivada de RSLV-133 (Tabla 3); el intervalo es 5 % para RSLV-310 a 18 % para RSLV-319. Las dos excepciones destacables son RSLV-327 y RSLV-328, que arrojaron valores de actividad DNasa de 3,3 veces y 6,6 veces, respectivamente, mayores que RSLV-133. RSLV-327 y -328 contienen mutaciones dentro del dominio DNasa que se informa que potencian la actividad DNasa. De manera adicional, RSLV-319 y RSLV-320, que poseen ambas mutaciones en el dominio RNasa para reducir la glicosilación ligada a N, demostraron una actividad RNasa comparable a sus homólogos glicosiladas.

Tabla 3: Comparación de la actividad RNasa y DNasa de construcciones RSLV-300 usando formatos Alert

Construcción	% de actividad RNasa relativa a RSLV-133	% de actividad DNasa relativa a RSLV-133
RSLV-308	25 %	8 %
RSLV-310	31 %	5 %
RSLV-319	20 %	18 %
RSLV-320	25 %	6 %
RSLV-323	15 %	6 %
RSLV-324	16 %	23 %
RSLV-327	18 %	330 %
RSLV-328	24 %	662 %
RSLV-133	100 %	100 %

Las construcciones de HSA parecían consistentemente menos activas en el formato RNaseAlert que RSLV-132 o RSLV-133. Los formatos de ensayo tanto RNase Alert como DNase Alert emplean sustratos de oligonucleótidos pequeños con grandes fluoróforos y desactivadores en los extremos opuestos de las moléculas. Si bien estos sustratos ofrecen una alta sensibilidad para monitorizar la actividad, su naturaleza no fisiológica puede crear problemas al comparar diferentes construcciones de proteínas. A pesar de que el resto RNasa de RSLV-132 es idéntico en secuencia de aminoácidos a la RNasa1 humana, RSLV-132 parece poseer una mayor actividad catalítica RNasa según se evalúa usando el sustrato RNaseAlert (Figura 7). A pesar de que RSLV-327 contiene la misma secuencia de dominio RNasa, esta construcción parece poseer menos actividad que la RNasa1 recombinante (Figura 7). La explicación más probable para esta observación es que estas diferencias aparentes no son un reflejo verdadero de la capacidad catalítica, sino que, más bien, significan interacciones diferenciales de los oligonucleótidos fluorescentes desactivados con las diversas construcciones de proteínas. Es probable que la unión de estos sustratos no naturales sea altamente dependiente de las interacciones de carga que variarán con cada construcción. Como se muestra en el Ejemplo 7, usando un formato de ensayo basado en células dependiente de poli(I:C), las actividades RNasa de las diversas construcciones parecen similares.

Ejemplo 5

Purificación Rápida de RSLV-308

Las construcciones de la serie RSLV-300 que carecen de las mutaciones de activación de DNasa mostraron de manera consistente actividad DNasa reducida en relación con RSLV-133. En el proceso de purificación convencional, se procesaron múltiples construcciones de la serie RSLV-300 en paralelo; por tanto, con frecuencia, las construcciones se mantuvieron durante períodos de tiempo prolongados en un estado intermedio del proceso de purificación. Una explicación para la actividad catalítica menor observada es que el dominio DNasa puede no ser tan estable como el dominio RNasa (por ejemplo, se sabe que el dominio DNasa se une a cationes divalentes) y que la actividad DNasa reducida de las construcciones de HSA puede reflejar la pérdida diferencial de actividad DNasa durante el esquema de purificación. Para explorar esto, se preparó una única cosecha de cultivo de RSLV-308 y se procesó rápidamente a través de la purificación cromatográfica en 2 etapas. La actividad total, tanto RNasa como DNasa, se calculó en función de la cantidad de actividad observada en el medio acondicionado bruto cosechado utilizando los formatos RNaseAlert® y DNaseAlert®. En cada etapa de la purificación posterior, se calculó la recuperación de la actividad. Tal como se muestra en la Tabla 4, la recuperación relativa de las actividades RNasa y DNasa se produjo en paralelo. Al final del proceso de purificación, se logró una recuperación global del 41 % de la actividad RNasa con una recuperación similar del 46 % de la actividad DNasa. No obstante, cuando se comparó con RSLV-133, la preparación final de RSLV-308 contenía el 50 % de la actividad RNasa esperada (basada en la hidrólisis del sustrato RNaseAlert normalizado a proteína) y solamente el 17 % de la actividad DNasa esperada (basada en la tasa de hidrólisis de el sustrato DNaseAlert normalizado a proteína). La actividad DNasa reducida de RSLV-308 en relación con RSLV-133 en ausencia de una pérdida preferencial de actividad DNasa durante la purificación sugiere que RSLV-308, y por inferencia, las otras construcciones de la serie RSLV-300 que carecen de mutaciones activadoras de DNasa, poseen inherentemente actividad catalítica DNasa reducida en relación con RSLV-133 según se evaluó usando el sustrato fluorescente desactivado.

Tabla 4: Contabilización de actividades durante la purificación de RSLV-308

Fracción	Actividad RNasa Total	Actividad DNasa Total
Medio Acondicionado	100 %	100 %

(continuación)

Fracción	Actividad RNasa Total	Actividad DNasa Total
Flujo Continuo de Q sepharose	0 %	0 %
Lavado de Q-Sepharose	0 %	0 %
Eluato de Q-Sepharose	66 %	68 %
Q-Eluato Concentrado	52 %	68 %
Eluato agrupado de Superdex 200	41 %	46 %

Ejemplo 6

Dominios Enlazadores

5 RSLV-133 y RSLV-308 son similares en que los dominios RNasa y DNasa están posicionados en los extremos N y C, respectivamente, del dominio del armazón. No obstante, la actividad DNasa recuperada en asociación con el armazón de HSA (RSLV-308) es menor que la observada con la construcción de armazón de Fc (RSLV-133). RSLV-133 es dimérico como resultado del armazón de Fc. Por lo tanto, en los extremos N y C de RSLV-133, están yuxtapuestos dos dominios nucleasa; esta disposición puede de alguna manera potenciar la actividad del dominio DNasa, explicando así, la mayor actividad aparente observada para RSLV-133 frente a RSLV-308. Existe otra diferencia entre RSLV-133 y RSLV-308 en la naturaleza del enlazador entre el dominio DNasa y el extremo C del armazón. En RSLV-133, el dominio DNasa se coloca en el extremo C del dominio Fc a través de una secuencia de enlazador de dieciocho aminoácidos compuesta por: VDGASSPVNVSSPSVQDI. Este enlazador contiene un sitio potencial de glucosilación ligada a N (Sequen NVS). Por el contrario, en las construcciones de la serie RSLV-300 el dominio DNasa, ya sea en el extremo N o C del armazón de HSA, está unido a través de un enlazador (Gly₄S)₃ que no contiene un sitio de glucosilación ligada a N. La colocación de un enlazador con un oligosacárido hidrófilo entre el armazón y el dominio DNasa puede proporcionar una estructura de dominio que favorezca la función catalítica de DNasa. Para explorar esta posibilidad, se diseñó una construcción adicional de la serie 300. RSLV-329 es idéntica a RSLV-327 en el sentido de que contiene el dominio RNasa en el extremo N del armazón de HSA y el dominio DNasa, que posee 3 mutaciones de activación de DNasa, ubicado en el extremo C. Sin embargo, el segmento enlazador entre el armazón de HSA y el dominio DNasa se cambió de (Gly₄S)₃ en RSLV-327 a VDGASSPVNVSSPSVQDI en RSLV-329.

Las células CHO-S se transfectaron con el vector de expresión que codifica RSLV-329 y el producto proteico resultante se aisló usando el mismo esquema de purificación de 2 etapas descrito en el presente documento. Las concentraciones de proteínas de RSLV-300 se determinaron mediante mediciones de A₂₈₀ y las muestras se diluyeron a 200 ug/ml con 1x tampón de carga de proteínas (número de catálogo Licor 928-40004) y se desnaturalizaron por calor. Se cargaron 6 µg de proteína total en cada carril y las muestras se sometieron a electroforesis en un gel de Tris-Glicina al 4-20 % en condiciones desnaturalizantes. Los geles se tiñeron con Simply Blue Safe stain. Cuando se analizó mediante electroforesis en gel de SDS, la preparación de RSLV-329 parecía contener más contaminantes de bajo PM que otras construcciones de la serie 300, pero todas las preparaciones estaban altamente enriquecidas para las especies de 110 kDa (Figura 8). Cuando se analizó usando el formato RNaseAlert, RSLV-329 produjo el 29 % de la actividad observada para RSLV-132. Usando el formato DnaseAlert, RSLV-329 parecía poseer el 266 % de la actividad DNasa asociada con RSLV-133, consistente con la presencia de mutaciones activadoras de DNasa.

Ejemplo 7

Comparación de la actividad RNasa y DNasa en formatos de ensayo celular

40 RNasa

Para comparar la actividad usando sustratos de oligonucleótidos, las construcciones seleccionadas se perfilaron por su capacidad para degradar los ligandos de TLR. Cuando se cultivan en presencia de un ligando de ARNbc apropiado, las células HEK Blue modificadas por ingeniería para expresar el receptor 3 tipo Toll humano (TLR3) secretan fosfatasa alcalina (SEAP) que se detecta fácilmente en el medio acondicionado usando un sustrato colorimétrico. Las células transfectadas con TLR3 se obtuvieron de Invivogen. Poli(I:C), un análogo sintético del ARNbc, actúa como un ligando en este sistema y se adquirió de Invivogen (poli (I:C) -LMW); la CE₅₀ para poli(I:C) como inductor de SEAP en el ensayo de células con TLR3 se determinó que era 1,3 ng/ml. La producción de SEAP (medida como absorbancia a 620 nm) se evaluó a partir de células HEK Blue hTLR3 estimuladas durante la noche en presencia de 80 ng/ml de poli(I:C). El poli (I:C) se incubó previamente con la concentración indicada de una construcción de RNasa durante 45 minutos antes de la adición de -50.000 células HEK Blue hTLR3 a los pocillos de la placa de 96 pocillos. Como se muestra en la Figura 9, la incubación previa del ligando poli (I:C) con diversas construcciones RSLV provocó una inhibición dependiente de la concentración en la producción de SEAP. Esto es consistente con la actividad RNasa procedente de las construcciones que son capaces de degradar ARNbc. Una comparación de los valores observados de CI₅₀ (Tabla 5) indica que RSLV-132 y RSLV-133 tienen actividades RNasa comparables en este formato. La RNasa1 humana recombinante también fue eficaz en la degradación de poli (I:C) produciendo un valor de CI₅₀ 1,5

veces más potente que el de RSLV-133 (Tabla 5). RSLV-308, RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329 produjeron valores de CI_{50} ligeramente más altos, sugiriendo una reducción de 1,3-3,3 veces en la actividad RNasa en relación con RSLV-133. Esta reducción aparente puede, en parte, reflejar la pureza más baja de las construcciones de la serie 300 en relación con las construcciones purificadas por cromatografía de afinidad con Proteína A.

Estos datos muestran que parece haber flexibilidad en el posicionamiento del dominio RNasa ya que la actividad RNasa observada para construcciones que contienen el dominio RNasa en el extremo N (p. ej., RSLV-308) o en el extremo C (p. ej., RSLV-328) del armazón de HSA fue muy similar en potencia a la de RSLV-133. Además, este ensayo demostró la funcionalidad RNasa de RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329 ya que la actividad degradante de poli(I:C) estaba dentro de 2,5 veces de la observada con RSLV-133.

Tabla 5: Comparación de la inhibición mediada por RNasa de la producción de SEAP de células HEK Blue TLR3

Construcción	RSLV-132	RSLV-133	RSLV-308	RSLV-327	RSLV-328	RSLV-329	hRNasa
Media de CI_{50}	2,18E-09	1,97E-09	5,75E-09	2,37E-09	4,54E-09	3,30E-09	1,20E-09
N	8	2	2	4	4	4	2
DE	1,09E-09	1,67E-09	1,31E-09	8,97E-10	1,27E-09	1,66E-09	1,27E-11
Potencia relativa a RSLV-133 (veces)	0,8	1	0,3	0,8	0,4	0,6	1,5

DNasa

La actividad DNasa se comparó usando células HEK Blue modificadas por ingeniería para expresar el receptor tipo Toll 9 humano (TLR9) que, al igual que las células HEK Blue TLR3, secretan SEAP cuando se activan mediante un ligando apropiado. ODN-2006-G5, un oligonucleótido basado en fosfodiéster, actúa como un ligando en este sistema y se adquirió de Invivogen; se determinó que la CE_{50} para este oligonucleótido como inductor de SEAP en el ensayo de células con TLR9 era 1,26 μ M. La producción de SEAP (medida como absorbancia a 620 nm) se evaluó a partir de células HEK Blue hTLR9 estimuladas durante la noche en presencia de ODN-2006-G5 2 μ M. El desoxi oligonucleótido se incubó previamente con la concentración indicada de una construcción de DNasa durante 60 minutos antes de la adición de -80.000 células HEK Blue hTLR9 a los pocillos de la placa de 96 pocillos. Como se muestra en la Figura 10, la incubación previa de ODN-2006-G5 con hDNasa1 recombinante (ProSpec) condujo a una inhibición dependiente de la concentración de su actividad inductora de SEAP. Una segunda fuente de hDNasa recombinante (Abcam) mostró una inhibición dependiente de la concentración similar (datos no mostrados). RSLV-308 también fue capaz de reducir la producción de SEAP; los valores de CI_{50} fueron $3,57 \times 10^{-8}$ M, comparables con el valor de CI_{50} observado para las preparaciones de hDNasa recombinante (Tabla 6). La curva de respuesta a la concentración para RSLV-133 se desplazó a la izquierda de RSLV-308 y hDNasa (Figura 10). Los valores observados de CI_{50} para RSLV-308 y la hDNasa recombinante fueron de 33 a 100 veces menos potentes que los observados para RSLV-133 (Tabla 6), sugiriendo quizás, que la estructura dimerica de RSLV-133 facilita la hidrólisis del sustrato ODN-2006-G5 en relación con RSLV-308 monomérico y construcciones de hDNasa recombinante. RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329 demostraron una actividad catalítica potenciada en relación con RSLV-133 (Figura 10). Los valores observados de CI_{50} para RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329 fueron $2,35 \times 10^{-11}$, $4,07 \times 10^{-11}$ y $5,58 \times 10^{-11}$, respectivamente (Tabla 6). Por lo tanto, las mutaciones de activación insertadas en los dominios DNasa de estas tres construcciones aumentaron la actividad aparente en 42, 24 y 17 veces para RSLV-327, RSLV-328 y RSLV-329, respectivamente, en relación con RSLV-133. Se observaron valores de CI_{50} similares para RSLV-327 y RSLV-329, indicando que la sustitución del dominio enlazador entre el armazón de albúmina y el dominio DNasa C-terminal de como se encuentra en RSLV-327 a VDGASSP VNVSSPSVQDI como se encuentra en RSLV-329 no dio como resultado una actividad DNasa mejorada. Por tanto, la actividad DNasa reducida asociada con RSLV-308 y las otras construcciones que carecen de mutaciones activadoras de DNasa en relación con RSLV-133 no parece ser dependiente del enlazador. Sin embargo, la introducción de las mutaciones activadoras de DNasa en las construcciones de la serie RSLV-300 (p. ej., RSLV-327) da lugar a construcciones que poseen actividad DNasa aparente mayor que RSLV-133.

Tabla 6: Comparación de la inhibición mediada por DNasa de la producción de SEAP de células HEK Blue TLR9

Construcción	hDNasa1 *	RSLV-133	RSLV-308	RSLV-327	RSLV-328	RSLV-329
Media de CI_{50}	8,41E-09	9,75E-10	3,57E-08	2,35E-11	4,07E-11	5,58E-11
N	8	4	4	4	6	2
DE	1,06E-08	4,35E-10	2,58E-08	8,51E-12	1,79E-11	3,24E-11
Potencia relativa a RSLV-133 (veces)	0,01	1	0,03	42	24	17

(continuación)

* Se supone que las preparaciones comerciales de DNasa1hr corresponden a la DNasa1 humana de tipo silvestre. El dominio DNasa que se encuentra en todas las construcciones RSLV contiene una mutación puntual (A114F) que se sabe que reduce la unión de acción, un inhibidor de la actividad DNasa. Debido a que los medios empleados en los experimentos celulares contenían suero, es posible que se introdujera actina en los productos de digestión. Por tanto, la actividad reducida de la rhDNasa con respecto al RSLV-133 puede, en parte, derivar de la inhibición de la rhDNasa por la actina.

Caracterización adicional de la expresión

5 La expresión de las construcciones de la serie 300 se examinó utilizando un sistema de expresión transitoria. Los cultivos de células CHO-3E7 (125 ml) se transfectaron con vectores que codifican RSLV-132, RSLV-133 o RSLV-327; cada condición se realizó por duplicado para asegurar la consistencia. Después de 5 días de crecimiento, los sobrenadantes de los cultivos se recogieron y analizaron mediante electroforesis en gel de SDS. Se analizaron veinticinco µl de cada medio en condiciones no reductoras y el gel se tiñó con azul de Coomassie para visualizar las proteínas. La figura 11 indica que RSLV-132 produjo una buena expresión en este sistema, mientras que los rendimientos de RSLV-133 fueron bajos. RSLV-327 se expresó bien, con una producción cercana a la observada con RSLV-132.

15 Para confirmar que los productos celulares CHO-3E7 poseían actividad nucleasa, se perfilaron partes alícuotas de los medios usando los formatos de RNase y DNase Alert. Como se muestra en la Figura 12 y en la Tabla 7, los sobrenadantes cosechados de los transfectantes con RSLV-132 demostraron una actividad RNasa fuerte pero no actividad DNasa; se espera la ausencia de esta última ya que el RSLV-132 contiene solo un resto RNasa. Los sobrenadantes derivados de los transfectantes RSLV-133 demostraron actividades RNasa y DNasa bajas; esto es consistente con la baja expresión observada con esta construcción (Figura 11). Los sobrenadantes derivados de los transfectantes RSLV-327 mostraron una baja actividad RNasa en relación con los sobrenadantes de cultivo de RSLV-132, pero una actividad DNasa muy fuerte. La baja actividad RNasa de RSLV-327 en relación con RSLV-132 en el formato de RNase Alert se atribuye al sustrato fluorescente desactivado como se indica anteriormente. Por tanto, los perfiles de actividad observados en los medios acondicionados fueron consistentes con los niveles de expresión observados por electroforesis en gel de SDS. Por lo tanto, cuando se expresa de forma transitoria en células CHO-3E7, RSLV-327 se expresa a niveles significativamente más altos que RSLV-133 y se acerca a los niveles alcanzados por RSLV-132.

Tabla 7: Actividad nucleasa observada en medios acondicionados derivados de células CHO-3E7 que expresan transitoriamente construcciones RSLV

Construcción	Actividad RNasa (nM)	Actividad DNasa (nM)
RSLV-132-1	1459	0,099
RSLV-132-2	1314	0,086
RSLV-133-1	52	165
RSLV-133-2	62	216
RSLV-327-1	71	5735
RSLV-327-2	75	5620

30 Ejemplo 8

Semivida de moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en monos *Cinomolgus*

35 Los monos *Cinomolgus* se inyectan por vía intravenosa con una inyección única de una molécula híbrida de nucleasa-albúmina del Ejemplo 2 en el momento cero. Las muestras de sangre se recogen en varios puntos temporales después de la inyección (por ejemplo, todos los días durante el transcurso de siete días) y se analizan para detectar la presencia de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina. Las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina se pueden detectar con ensayos de formato ELISA convencionales que capturan HSA humana del suero de mono, seguidos de la detección de RNasa1 humana o DNasa1 humana. Se pueden usar las mismas muestras de sangre para medir la actividad enzimática (es decir, la actividad nucleasa) de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina utilizando kits disponibles comercialmente (por ejemplo, el Sistema de Control de Calidad RNaseAlert™, Ambion; Sistema de Control de Calidad DNaseAlert™, Invitrogen; Kit de DNasa ELISA, Abnova; Actividad DNasa ORG 590, ORGENTEC Diagnostika GmbH), siguiendo las instrucciones de los fabricantes.

45 Ejemplo 9

Eficacia *in vitro* de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina

Efectos de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina sobre la expresión de citocinas

50 Las PBMC humanas se aíslan de voluntarios sanos y pacientes con lupus y se cultivan. Las células se tratan con

5 varios ligandos de TLR estimuladores, anticuerpos coestimuladores, complejos inmunitarios y sueros normales o autoinmunitarios, con o sin las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina del Ejemplo 2. El sobrenadante de cultivo se recoge en varios momentos (p. ej., 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, etc.) y se miden los niveles de un grupo de citocinas, incluida IL-6, IL-8, IL-10, IL-4, IFN- gamma, IFN-alfa y TNF-alfa humanas usando kits ELISA disponibles comercialmente de, por ejemplo, Thermo Fisher Scientific, Inc. Se espera que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina eficaces reduzcan los niveles de citocinas producidas por las PBMC estimuladas en relación con los controles.

10 Efectos de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en la expresión de receptores de activación de linfocitos

10 Las PBMC humanas se aíslan de voluntarios sanos y pacientes con lupus y se cultivan posteriormente. Las células se tratan con varios ligandos de TLR estimuladores, anticuerpos coestimuladores, complejos inmunitarios y sueros normales o autoinmunitarios, con o sin las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina del Ejemplo 2. Después, las células se someten a citometría de flujo multicolor para medir la expresión de los receptores de activación de linfocitos CD5, CD23, CD69, CD80, CD86, y CD25 en diversos puntos temporales (p.ej., 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, etc.) después de la estimulación utilizando métodos de rutina reconocidos en la técnica. Anticuerpos adecuados para estos receptores están disponibles comercialmente en, por ejemplo, BD/PharMingen. Se espera que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina eficaces reduzcan la expresión de los receptores de activación de linfocitos en las PBMC estimuladas en relación con los controles.

20 Efectos de las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina en la producción de interferón por células dendríticas plasmocitoides (CDp)

25 Las CDp de voluntarios sanos se aíslan utilizando métodos o kits disponibles comercialmente reconocidos en la técnica, tal como el Kit de selección positiva EasySep™ Human EpCAM (StemCell Technologies, Inc.). La CDp aisladas se cultivan en, por ejemplo, placas de fondo plano de 96 pocillos, a densidades que varían de 5×10^4 a $2,5 \times 10^5$ /pocillo en 0,1 ml en un medio apropiado (p. ej., medio RPMI completo que contiene FBS al 10 %, glutamina 2 mM, β -mercaptoetanol 55 μ M, piruvato sódico 1 mM, 100 U/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin). La CDp cultivadas se activan mediante la adición de suero o plasma de pacientes con LES individuales diluidos con medio de cultivo en una proporción de 1:5, y se añaden 0,1 ml de estas muestras a los pocillos que contienen células (la concentración sérica final del paciente es del 10 %). Los cultivos se incuban a 37 °C durante 40 h, después de lo cual se cosechan los medios acondicionados y se evalúa el contenido de IFN α usando un kit ELISA disponible comercialmente. Las muestras de suero obtenidas de voluntarios sanos se utilizan como controles. Para evaluar el impacto de las construcciones híbridas de nucleasa-albúmina, los sueros o el plasma de pacientes con LES se tratan previamente con las construcciones híbridas de nucleasa-albúmina (1-10 μ g/ml) durante 30 minutos y se añaden a los cultivos de CDp. Se espera que las moléculas híbridas de nucleasa-albúmina eficaces reduzcan la cantidad de IFN α producido como resultado de la degradación de las CI que contienen ácidos nucleicos.

Tabla 1. Resumen de secuencias

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
1	Albúmina sérica humana (madura) (HSA)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQ QCPFEDHV KLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLV RPEVDVMCTAFHD NEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLY EYARRHPDYSVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
2	Albúmina sérica de chimpancé (precursor)	MNESSCCSTSLPAFGVSVLDSGHSSSSAYSIRGVFRRDAHKSEV AHRFKDLGEEENFKALVAVAFQYLQQCPEFDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLREKYGEMADCCAK QEPERNECFLOHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEGTFK KYLVEVARRHPYFYAPELFFFAERYKAAATECCQAADKAAACLL PKLDELRLDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQR FPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLCADDRADLAKYIC ENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCLAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKEVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAK TYETLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC FEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQI KKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET CFAEEGKKLVAASQAALGL
3	Albúmina sérica de macaco	MKWVTFISLLFLFSSAYSIRGVFRRDTHKSEVAHRFKDLGEEHF KGLVLVAFSQYLQQCPEEHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH KDDNPNLPLVLRPEVDVMCTAFHDNEATFLKLYLVEVARRHPY FYAPELFFFAARYKAAFAECCQAADKAAACLLPKLDELRLDEGKA SSAKQRLKCASLQKFGDRAFKAWAVARLSQKFPKAEFAEVSKL VTDLTKVHTECCHGDLLCADDRADLAKYMCENQDSISSKLEK CCDKPLLEKSHCLAEVENDEMPADLPSLAADYVESKDVCKNYA EAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVMLLLRLAKAYEATLEKCCAA ADPHECYAKVFDEFQPLVEEPQNLVKQNCLEFEQLGEYKFNAL LLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGAKCKLPEAKRMPCA EDYLSVVLNRLCVLHEKTPVSEKVTKCTESLVNRRPCFSALE LDEAYVPKAFNAETFFHADMCTLSEKEKQVKKQTALVELVKH KPKATKEQLKGVMDNFAAFVEKCKKADDKAEACFAEEGPKFVAA SQAALA
4	Albúmina sérica de hámster	MKWVTFLLLLFVSDSAF SRGLFRRDAHKSEIAHRFKDLGEQHF KGLVLIASFQFLQKCPYEEHVKLVNEVTDFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCAIPTLRDSYGELADCCAKKEPERNECFLOH KDDHPNLPFVRPDAEAMCTSFQENAVTFMGHYLHEVARRHPY FYAPELLYYAEKYSAIMTECCGEADKAACITPKLDALKEKALA SSVNQRLKCSSLQRFQRAFKAWAVARMSQKFPKADFAEITKL ATDLTKLTEECCHGDLLCADDRAELAKYMCENQASISSKLEK CCDKPVLKSHCLSEVENDLADLPSLAADVFEDKEVCKNYA EAKDVF LGTFLYEYARRHPDYSVALLRLAKKYEATLEKCCAE ADPSACYGKVLDEFQPLVEEPKLVKANCELFKLEGEYGFQNA LIVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGKVGSKCCVLPEAQRPCV EDYISAILNLRVCLHEKTPVSEQVTKCC TGSVVERRPCFSALE VDETYVPKEFKAETFFHADICSLPEKEKQMKQALVELVKH KPKATGQRLRTVLGEFTAF LDKCKAEDKEACFSEDGPKLVA SQAALA
5	Albúmina sérica de cobaya	MKWVTFISLLFLFSSVYSIRGVFRREAHKSEIAHRFNLDLGEHF KGLVLIITLSQHLQKSPFEEHVKLVNEVTDFAKACVADESAQNC GKAIATLFGDKVCAIPSLRETYGELADCCAKEDPDRVECFLOH KDDNPNLPPFERPEPEALCTAFKENNDRFIGHYLVEVSRRHPY FYAPELLYYAEKYKNALTECCEAADKAACTPKLDALKEKALV SSAQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQKFPKAEFAEISTIT VTS LTKVTECCHGDLLCADDRQELAKYMCHEQDSISSKLEK CCVKPTLQKAHCILEIQRDELPTLPLAVDFVEDKEVCKNFA EAKDVF LGTFLYEYSRRHPEYSIGMLLRIAKGYEAKLEKCCAE ADPHACYAKVFDELQPLIDEPKLVQNCLEFDKLEGEYGFQNA LAVRYTQKAPQVSTPTLVEYARKLGSVGTKCCSLPETERLSCT ENYLALILNRLCILHEKTPVSEKVTKCTESLVNRRPCFSALE VDETYVPKPFHADSFTFHADICTLPEKEKQVKKQALVELVKH KPKASEEQMKTVMGDFAAF LKKCCDADNKEACFTEDGPKLVAK CQATLA

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
6	Albúmina sérica de ratón	MKWVTFLLLLFVSGSAF SRGVFRREAHKSEIAHRYNDLGEQHF KGLVLIASFQYLQKCSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANC DKSLHTLFGDKLCAIPNLRENYGELADCCTKQEPERNECFLOH KDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPY FYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVEKALV SSVRQRMKCSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQTFPNADFAEITKL ATDLTKVNKECCHGDLLCADDRAELAKYMCENQATISSKLQT CCDKPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYA EAKDVFGLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAE ANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCDLYEKLGEYGFQNA ILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGRVGTCCCTLPEDQRLPCV EDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALT VDETYVPKEFKAETFTFHSDICTLPEKEKQIKKQATALAEVLVKH KPKATAEQLKTVMDDFAQFLDTCCKAADKDTCFSTEGPNLVTR CKDALA
7	Albúmina sérica de rata	MKWVTFLLLLFISGSAF SRGVFRREAHKSEIAHRFKDLGEQHF KGLVLIASFQYLQKCPYEEHIKLVQEVTDFAKTCVADENAENC DKS IHTLFGDKLCAIPKLRDNYGELADCCAKQEPERNECFLOH KDDNPNLPPFQRPEAEAMCTSFQENPTSF LGHYLHEVARRHPY FYAPELLYYAEKYNEVLTQCCTESDKAACLTPLKLDVAVEKALV AAVRQRMKCSSMQRFGERAFKAWAVARMSQRFPNADFAEITKL ATDLTKINKECCHGDLLCADDRAELAKYMCENQATISSKLQA CCDKPVLYKQSCLAEIEHDNIPADLPSIAADFVEDKEVCKNYA EAKDVFGLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAE GDPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCELYEKLGEYGFQNA ILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGRVGTCCCTLPQAQRLPCV EDYLSAILNRLCVLHEKTPVSEKVTKCCSGSLVERRPCFSALT VDETYVPKEFKAETFTFHSDICTLPDKEKQIKKQATALAEVLVKH KPKATEDQLKTVMGDFAQFVVKCCAADKDNCFATEGPNLVAR SKEALA
8	Albúmina sérica de vaca	MKWVTFISLLLLFSSAYS RGVFRDRDTHKSEIAHRFKDLGEEHF KGLVLIASFQYLQCCPFDEHVKLVNELTEFAKTCVADESHAGC EKSLHTLFGDELCKVASLRETYGDMADCCQEPERNECFLSH KDDSPDLPKLPDPNTLCDEFKADEKKGWGYLYEIARRHPYF YAPELLYYANKYNGVFQECQAEDKGACLLPKIETMREKVLTS SARQRLRCASIQKFGERALKAWSVARLSQKFPKAEFVEVTKLV TDLTKVHKECCHGDLLCADDRADLAKYICDNQDTISSKLKEC CDKPLLEKSHCIAEVEKDAIPENLPPLTADFAEDKDVCKNYQE AKDAFLGSLYLYEYSRRHPYAVSVLLRLAKEYEATLECCAKD DPHACYSTVFDKHLVDEPQNLIKQNCQDFEKLGEYGFQNAL IVRYTRKVPQVSTPTLVEVSRSLGKVGTRCCTKPESERMPCTE DYLSLILNRLCVLHEKTPVSEKVTCCCTESLVNRRPCFSALTP DETYVPKAFDEKLFTHADICTLPDTEKQIKKQATALVELLKHK PKATEEQKKTVMENFVAFVVKCCAADDKEACFAVEGPKLVVST QTALA
9	Albúmina sérica de caballo	MKWVTFVSLFLFSSAYS RGVLRDRDTHKSEIAHRFNLDLGEKHF KGLVLIASFQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKKAADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRATY GELADCCQEPERNECFLTH KDDHNPPLPKLPPEPDAQCAAFQEDPDKFLGKYLYEVARRHPYF YGPELLFHAEEYKADFTECCPADKLA CLIPKLDALKERILLS SAKERLKCSSFQNFGERAVKAWSVARLSQKFPKADFAEVSKIV TDLTKVHKECCHGDLLCADDRADLAKYICEHQDSISGKLCAC CDKPLLQKSHCIAEVKEDDLPSDLPALAADFAEDKEICKHYKD AKDVFGLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRIAKTYEATLEKCCAEA DPPACYRTVFDQFTPLVEEPKSLVKKNCDFEEVGEYDFQNAL IVRYTKKAPQVSTPTLVEIGRTLKGVGSRCKLPESERLPCSE NHLALALNRLCVLHEKTPVSEKITKCCDLSLAERRPCFSALEL DEGYVPKEFKAETFTFHADICTLPEDEKQIKKQSALAEVLVKH PKATKEQLKTVLGNFSAFVAKCCGREDEACFAEEGPKLVASS QLALA

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
10	Albúmina sérica de burro	MKWVTFVSLFLFSSAYFRGVLRRDTHKSEIAHRFNDLGEKHF KGLVLVAFSQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKKCAADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRATYGELADCCQEPPERNECFLTH KDDHPNLPKPKPEPDAQCAAFQEDDPKFLGKLYEVARRHPYF YGPELLFHAEYKADFTECCPADDKAGCLIPKLDALKERILLS SAKERLKCSSFQKFGERAFAKAWSVARLSQKFPKADFAEVSKIV TDLTKVHKECCHGDLLCADDRADLTKYICEHQDSISGKLGKAC CDKPLLQKSHCIAEVKEDDLPDLPALAADFAEDKEICKHYKD AKDVLGTFLEYEYSRRHPDYSVSLLLRIAKTYEATLEKCCA DPPACYATVFDQFTPLVEEPKSLVKKNCDLFEVGEYDFQNAL IVRYTKKAPQVSTPTLVEIGRTLKGVGSRCKLPESERLPCSE NHLALALNRLCVLHEKTPVSEKITKCTDLSLAERRPCFSALEL DEGYIPKEFKAETFTFHADICTLPEDEKQIKKQSALAEVLKHK PKATKEQLKTVLGNFSAFVAKCCGAEDKEACFAEEGPKLVASS QLALA
11	Albúmina sérica de conejo	MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRREAHKSEIAHRFNDVGEEHF IGLVLI TFSQYLQKCPYEEHAKLVKEVTDLAKACVADESAANC DKSLHDIFGDKICALPSLRDTYGDVADCCKEKPERNECFLHH KDDKPDLPFARPEADVLCFAFHDDKFAFFGHYLYEVARRHPY FYAPELLYYAQKYKAILTECCEAADKGA CLTPKLDALLEGKSLI SAAQERLRCASIQKFGDRAYKAWALVRLSQRFPKADFTDISKI VTDLTKVHKECCHGDLLCADDRADLAKYMCEHQETISSHLKE CCDKPILEKAHCITYGLHNDETPAGLPVAEEFVEDKDVCKNYE EAKDLFLGKFLYEYSRRHPDYSVLLLLRLGKAYEATLKKCCAT DDPHACYAKVLDEFQPLVDEPKNLVKQNCELYEQLGDYFNQNA LLVRYTKKVPQVSTPTLVEISRSLGKVGSKCKKHPEAERLPCV EDYLSVVLNRLCVLHEKTPVSEKVTKCCSESLVDRRPFSA LGPDETYVPKEFNAETFTFHADICTLPETERKIKKQTALVELVKH KPHATNDQLKTVVGEFTALLDKCCSAEDKEACFAVEGPKLVES SKATLG
12	Albúmina sérica de cabra	DTHKSEIAHRFNDLGEENFQGLVLI AFSQYLQQCPFDEHVKLV KELTEFAKTCVADESHAGCDKSLHTLFGDELCKVATLRETYGD MADCCQEPPERNECF LKHKDDSPDLPKPKPEPDTLCAEFKAD EKKFWGKLYEVARRHPYFYAPELLYYANKYNGVFQECQAED KGACLLPKIETMREKVLASSARQLRCASIQKFGERALKAWSV ARLSQKFPKADFTDVTIKIVTDLTKVHKECCHGDLLCADDRAD LAKYICDHQDTLSSKLECCDKPVLEKSHCIAEIDKDAVPENL PPLTADFAEDKEVCKNYQEAKDVLGSLYLYEYSRRHPEYAVSV LLRLAKEYEATLEDCCAKEDPHACYATVFDKLLKHLVDEPQNL I KKNCELFEKHGEYGFQNALIVRYTRKAPQVSTPTLVEISRSLG KVGTKCAKPESERMPC TEDYLSLILNRLCVLHEKTPVSEKVT KCCTESLVNRRPCFSDTLTDETYVPKPF DGESFTFHADICTLP DTEKQIKKQTALVELLKHKPKATDEQLKTVMENFVAFVDKCCA ADDKEGCFLLGPKLVASTQAALA
13	Albúmina sérica de oveja	MKWVTFISLLLLFSSAYSRGVFRDRDTHKSEIAHRFNDLGEENF QGLVLI AFSQYLQQCPFDEHVKLVKELTEFAKTCVADESHAGC DKSLHTLFGDELCKVATLRETYGDMADCCQEPPERNECFLNH KDDSPDLPKPKPEPDTLCAEFKADEKFFWGKLYEVARRHPYF YAPELLYYANKYNGVFQECQAEDKGACLLPKIDAMREKVLAS SARQLRCASIQKFGERALKAWSVARLSQKFPKADFTDVTIKIV TDLTKVHKECCHGDLLCADDRADLAKYICDHQDALSSKLEK CDKPVLEKSHCIAEVDKDAVPENL PPLTADFAEDKEVCKNYQ EAKDVLGSLYLYEYSRRHPEYAVSVLLRLAKEYEATLEDCCAKE DPHACYATVFDKLLKHLVDEPQNL I KKNCELFEKHGEYGFQNAL IVRYTRKAPQVSTPTLVEISRSLGKVGTKCAKPESERMPCTE DYLSLILNRLCVLHEKTPVSEKVT KCCTESLVNRRPCFSDTLT DETYVPKPFDEKFFTFHADICTLPDTEKQIKKQTALVELLKHK PKATDEQLKTVMENFVAFVDKCCAADDKEGCFVLEGPVLVAST QAALA

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
14	Albúmina sérica de perro	MKWVTFISLFFLFSSAYSRLVRRREAYKSEIAHRYNDLGEEHF RGLVLFVAFSQYLQCCPFEDHVKLAKVTEFAKACAAEESGANC DKSLHTLFGDKLCTVASLRDKYGDMAADCEKQEPDRNECFLAH KDDNPGFPPLVAPEPDALCAAFQDNEQLFLGKYLIEIARRHPY FYAPELLYYAQQYKGVFAECCQAADKAACLGPKEALREKVVLL SSAKERFKCASLQKFGDRAFKAWSVARLSQRFPKADFAEISKV VTDLTKVHKECCHGDLLECADDRADLAKYMCENQDSISTKLKE CCDKPVLEKSQCLAEVERDELPGDLPSLAADFVEDKEVCKNYQ EAKDVF LGTFLYEYARRHPEYSVSLLLRLAKEYEATLEKCCAT DDPPTCYAKVLDEFKPLVDEPQNLVKTNCELFEKLGEGYGFQNA LLVRYTKKAPQVSTPTLVEVSRKLGKVGTKCKKPESERMSCA EDFLSVVLNRLCVLHEKTPVSEKVTCCSESLVNRRCFSGLE VDETYVPKEFNAETFTFHADLCTLPEAEKQVKKQ TALVELLKH KPKATDEQLKTVMGDFGAFVEKCCAENKEGCFSEEGPKLVAA AQAALV
15	Albúmina sérica de pollo	MKWVTLISFIFLFSATSRLQRFARDAEHKSEIAHRYNDLKE ETFKAVAMITFAQYLQRCSEYGLSKLVKDVVDLAQKCVANEDA PECSKPLPSIILDEICQVEKLRDSYGAMADCCSKADPERNECF LSFKVSPDFVQPYQRPASDVICQEYQDNRVSFLGHFIYSVAR RHPFLYAPAILSFVDFEHALQSCCKESDVGACLDTKEIVMRE KAGVSVKQYFCGILKQFGDRVQARQLIYLSQKYPKAPFSE VSKFVHDSIGVHKECCEGDMVECMDDMARMMSNLCSQQDVFSG KIKDCEKPIVERSQCIMEAEFDEKPADLPSLVEKYIEDKEVC KSFEAGHDAFMAEFVYEYSRRHPEFSIQLIMRIAKGYESLLEK CKKTDNPAECYANAQEQNLQHIKETQDVVKTNCDLLHDHGAD FLKSLIRYTKKMPQVPTDLLLETGKMTTIGTKCCQLGEDRR MACSEGYSIVIHDTCRKQETTPINDNVSQCCS QLYANRRPCF TAMGVDTKYVPPFPNPMDFSFDEKLC SAPAEEREVGMKLLIN LIRKRPQMTEEQIKTIADGFTAMVDKCKQSDINTCFGEEGAN LIVQSRATLGIGA
16	Albúmina sérica de cerdo	MKWVTFISLFLFLSSAYSRGVFRDRDYKSEIAHRFKDLGEQYF KGLVLIAFSQHLQCCPYEEHVKLVRVTEFAKTCVADESAENC DKSIHTLFGDKLCAIPSLREHYGDLADCEKEEPERNECF LQH KNDNPDIPKLPDPVALCADFQEDQKFWGKYLIEIARRHPYF YAPELLYYAIYKDVSECCQAADKAACLKPKIEHLREKVLTS AAKQRLKCAISQKFGERAFAKAWSLARLSQRFPKADFTETSKIV TDLAKVHKECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDTISTKLKEC CDKPLLEKSHCIAEAKRDEL PADLNP LEHDFVEDKEVCKNYKE AKHVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRIAKIYEATLEDCCAKE DPPACYATVDFKQPLVDEPKNLIKQNCSELF EKLGEYGFQNAL IVRYTKKVPQVSTPTLVEVARKLGLVGSRCCKRPEEERLSCAE DYLSLVNRLCVLHEKTPVSEKVTCCTESLVNRRCFSALTP DETYKPKFVEGTFTFHADLCTLPEDEKQIKKQTALVELLKH PHATEEQRLRTVLGNFAAFVQKCCAAPDHEACFAVEGPKFVIEI RGILA
17	FcRn humano	MGVPRQPWALG LLLFLLP GSLGAESHLSLLYHLTAVSSPAPG TPAFWVSGWLGPPQYLSYNSLRGEAEP CGAWWENQVSWYWEK ETTDLR I KEKLFLEAFKALGGKGPYTLQGLLGC ELGPDNTSVP TAKFALNGEEFMNFDLKQGTWGGDWPEALAI SQRWQQDKAAN KELTFLFSCPHRLREHLERGRGNLEWKEPPSMRLKARSSPG F SVLTCSAFSFPPELQLRFLRNGLAAGTGQDGF P NSDGSFH ASSSLTVKSGDEHHYCCIVQHAGLAQPLRVELESPAKSSVLVV GIVIGVLLLTAAVGGALLWRRMRSGLPAPWISLRGDDTGVLV PTPGEAQDADLKD VNVIPATA

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
18	RSLV-301 (HSA-RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGGEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRPVRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAP ELFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEGKASSAK QRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQLGEYKFNALLVR YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AE EGK LVAASQAA LGLKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQNCYKSNSSMHI TD CRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDASVED ST</p>
19	RSLV-302 (RNasa-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQNCYKSNSSMHITD CRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTDAHKSEVAHRFKDLGGEENFKALV IAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLH TLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPE LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQ RLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDL KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKP LLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQLGEYKFNALLVRY TKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AE EGK LVAASQAA GL</p>
20	RSLV-303 (HSA-enlazador-RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGGEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRPVRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAP ELFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEGKASSAK QRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQLGEYKFNALLVR YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AE EGK LVAASQAA LGLGGGGSGGGSGGGSSKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTY CNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNG QNCYKSNSSMHITD CRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACE GSPYVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
21	RSLV-304 (RNasa-enlazador-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGKESRAKFFQRQHMSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE PERNECFLOHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKY LYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPK LDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICEN QDS ISSK LKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSV LLLLRLAKTY ET TLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGL</p>
22	RSLV-305 (RNasa-HSA-RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGKESRAKFFQRQHMSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI IAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLH TLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPE L LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDEL RDEGKASSAKQ RLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDS ISSK LKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSV LLLLRLAKTYET TLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRY TKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAAL GLKE SRAKFFQRQHMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCK PVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHI TDC RLTNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVACEGSPYVPVHFDASVEDS T</p>
23	RSLV-306 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGKESRAKFFQRQHMSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE PERNECFLOHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKY LYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPK LDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICEN QDS ISSK LKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSV LLLLRLAKTY ET TLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKE SRAKFFQRQ HMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDV QNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAY RTSPKERHI IVACEGSPYVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
24	RSLV-307 (RNasa-HSA-DNasa A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDITGKESRAKKFQRQHMSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNQCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVL IAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLH TLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKYLYE IARRHPYFYAPE LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQ RLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLCADDRADLAKY ICENQDS ISSKLEKCECEK LLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV FLGMFLYFYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFLVRY TKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAAL GLLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDIALVQEV RDSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTHYVSEPLGRNSYKERYLFVY RDPQVSAVDSYYDDGCEPCGNDTFNREP FIVRFFSRFTEVRE FAIVPLHAAPGDAVAE IDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFN AGCSYVRPSQWSS IRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAADR IVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPE VMLK</p>
25	RSLV-308 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDITGKESRAKKFQRQHMSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNQCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQ PERNECF LQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKY LYE IARRHPYFYAPE LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPK LDELREDEGKASSAKQLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLCADDRADLAKY ICEN QDS ISSKLEKCECEK LLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEF ELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTF GETKMSNATLVSYIVQILSRDIALVQEV RDSHLTAVGKLLDN LNQDAPDTHYVSEPLGRNSYKERYLFVYRDPQVSAVDSYY DDGCEPCGNDTFNREP FIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDA VAE IDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPSQWSS IRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAADRIVVAGMLLRGAVV PDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPEVMLK</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
26	RSLV-309 (DNasa A114F-HSA-RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVS YIVQILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDITYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEdVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCAyDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKDAHKSEVAHRFKDLGEEFNKA LVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLvNEVTEFAKTCVADESAENCDK SLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQEPERNECFLQHKD DNPnLpRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAfTECCQAADKAACLLPKLDELrDEGKASS AKQRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQRFpKAeFAEVSKLVT DLTkVHTeCCHGDLLecADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA KDVFLGMFLYeyARRHPDYSVvLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVfDEFKPLVEEPQNLIKQNCeLFEQLGEYKfQNALL VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMpCAED YLSVVLNQLcVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCfSALEVD ETYPKefNAETfTFHADICTLSEKERQIKKQTALEVELVKHKP KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQ AALGLKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQG RCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASV EDST</p>
27	RSLV-310 (DNasa1 A114F-enlazador-HSA- enlazador-RNasal)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVS YIVQILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDITYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEdVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCAyDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSDAHKSE VAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLvNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPnLpRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAfTECCQAADKAACL LPKLDELrDEGKASSAKQRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQ RFPKAeFAEVSKLVTDLTKVHTeCCHGDLLecADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYeyARRHPDYSVvLLLRLA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVfDEFKPLVEEPQNLIKQNCe LFEQLGEYKfQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPEAKRMpCAEDYLSVVLNQLcVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCfSALEVDETYVPKefNAETfTFHADICTLSEKERQ IKKQTALEVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE TCFEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKESRAKKF QRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPL VDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPN CAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDST</p>

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
28	RSLV-311 (DNasa A114F-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVS YIVQILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIIVPLHAAPGDVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEdVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCAyDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKDAHkSEVAHRFKDLGEENFKa LVLIaFAQYLQqCpFEDHVklVNEVTEFAKTCVADESAENCdK SLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKD DNPnLPRlVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYfY APELlFFAKRYKAAfTECCQAADKAACLlPKLDELrDEGKASS AKQRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQRfPKAEFAEVSKLVt DLTKVHTECCHGDLLEcADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEa KDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLlLRLAKTYETTLKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCeLFEQLGEYKfQNALl VRYTKKVPQVSTPtlVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPcAED YLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCfSALEVD ETYPKEFNAETfTFHADICTLSEKERQIKKQTALEVELVKHKP KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAAASQ AALGL</p>
29	RSLV-312 (HSA-DNasa A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQqCpFEDHVklVNEVTEFAKTCVADESAENCdKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRlVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYfYAP ELLFFAKRYKAAfTECCQAADKAACLlPKLDELrDEGKASSAK QRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQRfPKAEFAEVSKLVtDL TKVHTECCHGDLLEcADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCeK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLlLRLAKTYETTLKCCAAADPH ECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCeLFEQLGEYKfQNALlVr YTKKVPQVSTPtlVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPcAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCfSALEVDet YVPKEFNAETfTFHADICTLSEKERQIKKQTALEVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAAASQAA LGLLkIAAFNIQTFGETKMSNATLVSyIVQILSRDYDIALVQEV RDSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVvSEPLGRNSYKERYLFV YRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVR EFAIVPLHAAPGDVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEdVMLMGDF NAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAyD RIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAyGLSDQLAQAI SDHYPV EVMLK</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
30	RSLV-313 (DNasa A114F-enlazador-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFI VRRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEdVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTATPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGGDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCdKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPnLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDELrDEGKASSAKQRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLCADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA KTYETTLKCCAAADPHECYAKVfDEFKPLVEEPQNLIKQNCe LFEQLGEYKfQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRPCfSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQ IKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE TCFAEEGKLVAAASQAALGL</p>
31	RSLV-314 (HSA-enlazador-DNasa A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCdKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQEPERNECFLQHKDDN PNLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDELrDEGKASSAK QRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL TKVHTECCHGDLLCADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLKCCAAADPH ECYAKVfDEFKPLVEEPQNLIKQNCeLFEQLGEYKfQNALLVRY TKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCfSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKLVAAASQAA LGLGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYI VQILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNR EPFI VRRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDV QEKWGLEdVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIP DSADTATPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YG LSDQLAQAI SDHYPVEVMLK</p>
32	RSLV-315 (RNasa I N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGKESRAKfQRQHMSDSSPSSSS TYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNcYKSSSSMHI TDCRLTSGSRYPNCAYRTSPKERHI IVA CEGSPYVPVHFDA SVEDSTGGGGSGGGSGGGGDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCdKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQEP ERNECFLQHKDDNPnLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKY LYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPK LDELrDEGKASSAKQRLKcASLQKfGERAFKAWAVARLSQRFP KAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLCADDRADLAKYI CEN QDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVfDEFKPLVEEPQNLIKQNCeLFE QLGEYKfQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCfSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK Q TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGL</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
33	RSLV-316 (HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRLVREVDVMCTAFHDNEETFLLKLYE IARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAK QRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPH EYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFNALLVR YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAA LGLGGGGSGGGSGGGSSKESRAKKFQQHMSDSSPSSSSTY CNQMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNG QGNCYKSSSSMHITDCRLTSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACE GSPYVPVHFDASVEDST</p>
34	RSLV-317 (DNasa1 N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSSATLVS YIVQILSRDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWLEDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAISDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGSSDAHKSE VAHRFKDLGEEFNFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVREVDVMCTAFHDNEETFLL KLYE IARRHPYFYAPELLLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCE LFEQQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQ IKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE TCFAEEGKKLVAASQAALGL</p>
35	RSLV-318 (HSA-enlazador-DNasa1 N18S/N106S/A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRLVREVDVMCTAFHDNEETFLLKLYE IARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAK QRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPH EYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFNALLVR YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAA LGLGGGGSGGGSGGGSSKIAAFNIQTFGETKMSSATLVSYI VQILSRDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTFNR EPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDV QEKWLEDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIP DSADTTATPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYG LSDQLAQAISDHYPVEVMLK</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
36	RSLV-319 (RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasal A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGKESRAKKFQRQHMDSDSSSPSSS TYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNCYKSSSSSMHITDCRLTSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE PERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKY LYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAATECCQAADKAACLLPK LDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KAEFAEVSKLVTDDLTKVHECCGDLLECADDRADLAKYICEN QDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLLAKTY ETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCLFE QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVESRNLGVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTF GETKMSNATLVSYIVQILSRYDIALVQEVRDSHLTAVGKLLDN LNQDAPDTYHYVSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYY DDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDA VAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSS IRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVV PDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAISDHYPVEVMLK</p>
37	RSLV-320 (DNasa1 A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasal N34S/N76S/N88S)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVS YIVQILSRYDIALVQEVRDSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAISDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAATECCQAADKAACL LPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSSQ RFPKAEFAEVSKLVTDDLTKVHECCGDLLECADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLLRA KTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCE LFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVESRNLGVGSK CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQ IKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE TCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKESRAKKF QRQHMDSDSSSPSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPL VDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSSSSMHITDCRLTSGSRYPN CAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
38	RSLV-321 (RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasal N18S/N106S/A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDITGKESRAKRFQRQHMSDSSPSSS TYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNCYKSSSSSMHITDCRLTSGSRYPNCAVRTSPKERHIIVA CEGSPYVPVHFDASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE PERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKY LYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPK LDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFP KA EFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKY ICEN QDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELF E QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTF GETKMSSATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRD SHLTAVGKLLDN LNQDAPD TYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYY DDGCEPCGSDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDA VAEIDALYDVYLDVQEKWGLE DVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSS IRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVV PDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHY PVEVMLK</p>
39	RSLV-322 (DNasa1 N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasal N34S/N76S/N88S)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDITGLKIAAFNIQTFGETKMSSATLV SYIVQILSRDYDIALVQEVDRD SHLTAVGKLLDNLNQDAPD TYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDV QEKWGLE DVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHY PVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSDAHKSE VAHRFDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLL KKYLYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQ RFPKA EFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKY I CENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRLA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC E LFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQ IKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE TCFAEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKESRAKRF QRQHMSDSSPSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPL VDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSSSSMHITDCRLTSGSRYPN CAVRTSPKERHII VACEGSPYVPVHFDASVEDST</p>

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
40	RSLV-323 (DNasa A114F-enlazador-RNasa- HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTATPTHCAVDRIIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYVVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSKESRAK KFQRQHMSDSSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHE PLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRY PNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTDAHKSEV AHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK QEPERNECFLQHKDDPNLPRLVREVDVMCTAFHDNEETFLLK KYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLL PKLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQR FPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC ENQDSISSSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAK TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCEL FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQI KKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADKET CFAEEGKLVAASQAALGL</p>
41	RSLV-324 (HSA-RNasa-enlazador-DNasa- A114F)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRLVREVDVMCTAFHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDRDEGKASSAK QRLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADKETCFAEEGKLVAASQAALGLKESRAKKFQRQHMSDSSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRC KPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITD CRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDASVED STGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIV QILSRDYDIALVQEVDRDShLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSE PLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNRE PFIVRFFSRFTEVREFAIIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQ EKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPD SADTTATPTHCAVDRIIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGL SDQLAQAI SDHYVVEVMLK</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
42	RSLV-301 (HSA-RNasa; sin líder)	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHD NEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLKESRAKKFQRQHMDSDS SPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQ EKVTCCKNGQGNKYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKE RHIIVACEGSPYVPVHFASVEDST</p>
43	RSLV-302 (RNasa-HSA; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQGNKYKSNSSMHITDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFASVEDSTD AHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVN EVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDN EETF LKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAA KAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWA ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA LAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADL PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL I KQNC ELF EQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLG KVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCK ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL</p>
44	RSLV-303 (HSA-enlazador-RNasa; sin líder)	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHD NEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKE SRAKKFQRQHMDSDSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNT FVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQGNKYKSNSSMHITDCRLT NSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
45	RSLV-304 (RNasa-enlazador-HSA; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR VRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKLYEIARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDLDRDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTE CCHGDLLCADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKS HCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGL</p>
46	RSLV-305 (RNasa-HSA-RNasa; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDST DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVN EVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRVRPEVDVMCTAFHDN EETFLLKKLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAAD KAACLLPKLDLDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLCADDRAD LAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADL PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLL LLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNL IKQNCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLG KVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCK ADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLKESRAKKFQRQHMDSDSS PSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQ KVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKER HIIVACEGSPYVPVHFDASVEDST</p>
47	RSLV-306 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- RNasa; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR VRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKLYEIARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDLDRDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTE CCHGDLLCADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKS HCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGGSGGGSGGGGSKESRAKKFQRQ HMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDV QNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPNCAY RTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
48	RSLV-307 (RNasa-HSA-DNasa A114F; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEFLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGCYKSNSSMHI TDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVACEGSPYVPVHFDASVEDSTD AHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVN EVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLV RPEVDVMCTAFHDN EETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAAD KAACL LPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRAD LAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADL PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNL I QNCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLG KVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCK ADDKETCFAEEGKLV AASQAALGLLKI AAFNIQTFGETKMSN ATLVSYIVQILSR YDIALVQEV RDSHLTAVGKLLDNLNQDAPD TYHYV VSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPC GNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDAL YDVYLDVQEKWGLE DVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTS PTFQWLIPDSADTTATPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPF NFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLK</p>
49	RSLV-308 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa A114F; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEFLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGCYKSNSSMHI TDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKS HCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LY EYARRHPDYSVVL LLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFELGEYKFNALLVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKLV AASQAALGLGGG GSGGGGGGGGSLKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSR YDIALVQEV RDSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRN SYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIVR FFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGL EDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTT ATPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLA QAI SDHYPVEVMLK</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
50	RSLV-309 (DNasa A114F-HSA-RNasa; sin líder)	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRPF DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LKDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHV LVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY GEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLPRLVREVDVMCTAF HDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELLEFFAKRYKAAFTECCQ AADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKA WAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLECAD RADLAKYICENQDSISSKLECEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYS VVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSD RVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TLSEKERQIKKQ TALVELVKKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK CCKADDKETCF AE EGKLVAA SQAALGL KE SR AKKFQRQH MDSD SSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDASVEDST
51	RSLV-310 (DNasa1 A114F-enlazador-HSA- enlazador-RNasal; sin líder)	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRPF DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LK GGGGGGGGGGGGGG DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI A FAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVREVDVMCTAFHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELLE FFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRL KCASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLECADRADLAKYICENQDSISSKLECEKPLEKSHCIAE VENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARR HPDYSVVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEE PQNLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKER QIKKQ TALVELVKKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AE EGKLVAA SQAALGL GGGGGGGGGGGGGKESRAKKFQRQH MDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDASVEDST

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
52	RSLV-311 (DNasa A114F-HSA; sin líder)	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYR DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREF IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LKDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHV LVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY GEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPPLRLVLRPEVDVMCTAF HDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKA WAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYS VVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSD RVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK CKKADKETCFAEEGKLVAAASQAALGL
53	RSLV-312 (HSA-DNasa A114F; sin líder)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPPLRLVLRPEVDVMCTAFH NEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TL SEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADKETCFAEEGKLVAAASQAALGLL KIAAFNIQTFGETKMS NATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRD SHLTAVGKLLDNLNQDAP DTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRDPDQVSAVDSYYYDDGCEP CGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDA LYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTS PTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VVAGMLLRGAVVPDSALP FNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LK
54	RSLV-313 (DNasa A114F-enlazador-HSA; sin líder)	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYR DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREF IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LKGGGGSGGGSGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI A FAQYLQCCPFEDHV LVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY GEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPPLRLVLRPEVDVMCTAF HDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKA WAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYS VVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TL SEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADKETCFAEEGKLVAAASQAALGL

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
55	RSLV-314 (HSA-enlazador-DNasa A114F; sin líder)	DAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQC PFEDHV KLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLV RPEVDVMCTAFHD NEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRA DLAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDY SVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTL SEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL GGGSGGGSGGGGSLK IAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRYDIALVQEV RDSHL TAVGKLLDNLNQDAPD TYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRPDQ VSAVDSYYDDGCEPCGNDTFNREP F IVRFFSRFTEVREFAIV PLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAGCS YVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCA YDRIVVA GMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQ AISDHYVPEVMLK
56	RSLV-315 (RNasa I N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA; sin líder)	KESRAKFFQRQHMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSSSSMHI TDCRL TSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHF DASVEDSTG GGGSGGGSGGGGSD DAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQ YLQQC PFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGD LLECADDRA DLAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLEKSH CIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMF LYEYARRHPDY SVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCC KADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL
57	RSLV-316 (HSA-enlazador-RNasa1 N34S/N76S/N88S; sin líder)	DAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQC PFEDHV KLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLV RPEVDVMCTAFHD NEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRA DLAKY ICENQDSI SSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDY SVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTL SEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL GGGSGGGSGGGGSK SRAKFFQRQHMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNT FVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSSSSMHI TDCRLTS GSRYPNCA YRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHF DASVEDST

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
58	RSLV-317 (DNasa1 N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA; sin líder)	LKIAAFNIQTFGETKMS S ATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRP DQVSAVDSYYYDDGCEPCG S DTFNREP F IVRFFSRFTEVREFFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIIPDSADTTATPTHCAVDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVVEVM LK GGGGSGGGSGGGGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI FAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP PRLVREVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLPLKDELREDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
59	RSLV-318 (HSA-enlazador-DNasa1 N18S/N106S/A114F; sin líder)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLVREVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA DKAACLPLKDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDR DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSV LLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVNLQLCVLHEKTPVSDRV TKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL GGGGSGGGSGGGGS LK IAAFNIQTFGETKMS S ATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRD SHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRP DQVSAVDSYYYDDGCEPCG S DTFNREP F IVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAGCS YVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIIPDSADTTATPTHCAVDRIVVA GMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVVEVMLK

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
60	RSLV-319 (RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasal A114F; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNQCYKSSSSSMHITDCRL TSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGGGGGGGGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCKEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKLVAAASQAALGL GGGGGGGGGGGGGSKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQ MMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGN CYKSSSSSMHITDCRLTSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSP YVPVHFDASVEDST</p>
61	RSLV-320 (DNasa1 A114F-enlazador-HSA- enlazador-RNasal N34S/N76S/N88S; sin líder)	<p>LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDIALVQEVDRS HLTAVGKLLDNLNADPDTYHYVVSSEPLGRNSYKERYLFVYR DQVSAVDSYYDDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWLEDVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAYDRIV VAGMLLRGAVVPSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPEVM LKGGGGGGGGGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCKEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKLVAAASQAALGL GGGGGGGGGGGGGSKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQ MMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGN CYKSSSSSMHITDCRLTSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSP YVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
62	RSLV-321 (RNasa1 N34S/N76S/N88S-enlazador-HSA-enlazador-DNasal N18S/N106S/A114F; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMSDSSPSSSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGCYKSSSSSMHITDCRL</p> <p>TSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR VRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKLYEYIARRHPYFYAPELFFA KRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKS HCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCNKYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFNALLVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQ LCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGG GSGGGGGGGGGLKIAAFNIQTFGETKMSSATLVSYIVQILSR YDIALVQEVDRDHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSPELGRN SYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTFNREFIVR FFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGL EDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTT ATPTHCAVDRIIVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLA QAISDHYPVEVMLK</p>
63	RSLV-322 (DNasa1 N18S/N106S/A114F-enlazador-HSA-enlazador-RNasal N34S/N76S/N88S; sin líder)	<p>LKIAAFNIQTFGETKMSSATLVSYIVQILSRDIALVQEVDRD HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSPELGRNSYKERYLFVYRP DQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTFNREFIVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLDMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAISDHYPVEVM LKGGGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI A FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKLYEYIARRHPYFYAPEL FFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCNKYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGL GGGGGGGGGGGGKESRAKKFQRQHMSDSSPSSSSSTYCNQ MMRRRSMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGN CYKSSSSSMHITDCRLTSGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSP YVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
64	RSLV-323 (DNasa A114F-enlazador-RNasa- HSA; sin líder)	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYR DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LK GGGGSGGGSGGGSSKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYC NQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQ GNCYKSNSSMHIIDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEG SPYVPHFDASVEDSTDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AQYLQOCPPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLF GDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPEL FAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQ RLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECEK PELLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAE AKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLKCCAA ADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQELGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPACAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRR PCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
65	RSLV-324 (HSA-RNasa-enlazador-DNasa- A114F; sin líder)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOCPPFEDHV KLNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLVRPEVDVMCT AFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTE CCQAADKAAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQRLK CASLQK FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTEC CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECEKPLEKSH CIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG MFLYFYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQELGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP CAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPC FSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDK ETCFEAEAGKKLVAASQAALGL KESRAKKFQRQHMDSDS SPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQ EKVTCCKNGQGNCYKSNSSMHIIDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKE RHIVACEGSPYVPHFDASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSLKI AAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVY RPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTE VREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDM MLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTT ATPTHCAVDRI VVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSD QLAAQAI SDHYPVEVM
66	DNasal Humana Madura	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYR DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAAQAI SDHYPVEVM LK
67	DNasal humana Precursora	MRGMKLLGALLALAALQGAVSLKIAAFNIQTFGETKMSNATL VSYIVQILSRDYDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYH YVVSEPLGRNSYKERYLFVYRDPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGND TFNREPFIIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDV YLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQ WLIPDSADTTATPTHCAVDRI VVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQ AAYGLSDQLAAQAI SDHYPVEVM

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
68	DNasal A114F Humana Madura	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDIALVQEVDRS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRP DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPEVM LK
69	DNasal G105R Humana Madura	LKIAAFNIQTFGETKMSNATLVSYIVQILSRDIALVQEVDRS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRP DQVSAVDSYYYDDGCEPCRNDFNREPAIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCAVDRI VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPEVM LK
70	DNasalL3 Humana Madura	MRICSFNVRSEFGESKQEDKNAMDVIVKVIKRCDIILVMEIKDS NNRICPILMEKLNRSRRGITINYVISSRLGRNTYKEQYAFVLY KEKLVSVKRSYHYHDYQDGDADVFSREPFVVFQSPHTAVKDF VIIPLHTTPETSVEKIDELVEVYTDVVKHRWKAENFIFMGDFNA GCSYVPPKAWKNIRLRTDPRFVWLIGDQEDTTVKKSTNCAYDR IVLRGQEVIVSSVVPKSNVDFDFQKAYKLTSEEEALDVSDFHPVE FKLQSSRAFTNSKKSIVTLRKKTKSKRS
71	Trex Humana	MGPGRARRQGRIVQGRPEMCFPPPTPLPPLRILTLGHTPTPC SSPGSAAGTYPTMGSQALPPGPMQTLIFFDMEATGLPFSQPKV TELCCLLAVHRCALLESPTSQGPPPTVPPPRVVDKLSLCVAPG KACSPAASEITGLSTAVLAAHGRQCFDDNLANLLAFLLRRQPQ PWCLVAHNGDRYDFPLLQAE LAMLGLTSALDGAFCDVDSITALK ALERASSPSEHGPRKSYSLGSIYTRYGQSPDSDHTAEGDVL LLSICQWRPQALLRWVDAHARPFGTIRPMYGVASARTKPRPS AVTTTAHLATTRNTSPSLGESRGTKDLPPVKDPGALSREGLLA PLGLLAILTLAVATLYGLSLATPGE
72	DNasa2 alfa Humana	MIPLLLAALLCVPAGALTCYGDGQPVDFVYVYKLPALRGSGE AAQRGLQYKYLDESSGGWRDGRALINSPGAVGRSLQPLYRSN TSQLAFLLYNDQPPQPSKAQDSSMRGHTKGVLLLDHGGFWLV HSVPNFPPPASSAAYSWPHSACTYGTLLCVSFPFAQFSKMGK QLTYTYPWVYNYQLEGIFAQEFPDLENVVKGHVVSQEPWNSSI TLTSQAGAVFQSFQAKFSKFGDLDYSGWLAAAALGTNLQVQFVHK TVGILPNSCSDIWQVLNVNQIAFPGPAGPSFNSTEDHSKWCVS PKGPWTCVGDMMNRNQGEQGGGTLCALPALWKAQPLVKNY QPCNGMARKPSRAYKI
73	DNasa2 beta Humana	MKQKMMARLLRTSFALLFLGLFGLVGAATISCRNEEGKAVDWF TFYKLPKRQNKESGETGLELYLDSTTRSWRKSEQLMNDTKSV LGRITLQQLYEAYASKSNNTAYLIYNDGVKPKVNYSRKYGHTKG LLLWNRVQGFWLIHSPQFPPIPEEGYDYPPTGRRNQSGICI TFKYNQYEAIDSQLLVCNPNVYSCSIPATFHQELIHPQLCTR ASSEIPGRLLTTLQSAQGFHLHFAKSDSFLDDIFAAWMAQR LKTLLTETWQRKRQELPNSCSLPYHVYNIKAIKLSRHSYFSS YQDHAKWCISQKGTKNRWTCIGDLNRSRPHQAFRSGGFICTQNW QIYQAFQGLVLYYESCK
74	DNasa1L3 de ratón	MSLHPASPRLASLLLFILALHDTLALRLCSFNVRSEFGASKKEN HEAMDIVKIIKRCDLILLMEIKDSSNNICPMLMEKLNNGNSRR STTYNYVISSRLGRNTYKEQYAFVYKEKLVSVKTKYHYHDYQD GDTDFVFSREPFVVFHSPFTAVKDFVIVPLHTTPETSVEKIDE LVDVYTDVRSQWKTENFIFMGDFNAGCSYVPPKAWQNIIRLRTD PKFVWLIQDQEDTTVKKSTSCAYDRIVLCGQEVIVNSVVRSSG VDFDFQAYDLSEEEALDVSDFHPVEFKLQSSRAFTNNRKSIVSL KKRKKGNRS
75	RNasal Humana Madura	KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTOGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQGNCYKSNSSMHIIDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPHVDFASVEDST

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
76	RNasal humana Precursora	MALEKSLVRLLLLLVLI LLVLGWVQPSLGKESRAKKFQRQHMS DSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNV FOEKVTCKNGOGNCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSP KERHIVACEGSPYVPVHFDA SVEDST
77	Dominio I de HSA	DAHKSEVAHRFKDLGEEFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHD NEETFLLKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQR
78	Dominio II de HSA	GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
79	Dominio III de HSA	NLIKQNCLEFELQGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSD RVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK CKADDKETCF AE EGKLVAA SQAALGL
80	Enlazador	LEA(EAAAK) ₄ ALEA(EAAAK) ₄
81	Enlazador	GGSG
82	Enlazador	GSAT
83	DNasal N18S/N106S/A114F Humana Madura	LKIAAFNIQTFGETKMSATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVSRD HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRNSYKERYLFVYRP DQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTATPTHCA YDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVM LK
84	RNasal N34S/N76S/N88S Humana Madura	KESRAKKFQRQHMSDSSPSSSSTYCNQMMRRRSMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCKNGQNCYKSSSSMHI TDCRL TSGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDA SVEDST
85	(Gly ₄ Ser) ₃	GGGGSGGGGSGGGGS
86	VK3LP	METPAQLLFLLLWLPDTTG
87	Péptido señal de luciferasa de Gaussia	MGVKVLFALICIAVAEA
88	Enlazador NLG	VDGAAASPVNVSSPSVQDI
89	Enlazador	LEA(EAAAK) ₄ ALEA(EAAAK) ₄ ALE

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
90	Ácido nucleico de RSLV-301	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGCGACGCCCACAAGTCTGAGGTGGCCCA CCGGTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGGCCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGGCCGACGAGTCCGCGGAGAAGTGCACAAAGTCCCTG CACACCCTGTTCCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCTGC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAGGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCTGCAGCACAAGGACGACAAC CCCAACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGT GCACCGCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCC GAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCCTCCCTCAGC AGTGTGCCAGGCCGCCGATAAAGGCCCTGCCTGCTGCCTAA GCTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTCCGCCAAG CAGAGACTGAAGTGCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGG CCTTTAAGGCCTGGGCCGTGGCCCGGTGTCTCAGAGATTCCC CAAGGCCGAGTTTGGCGAGGTGTCCAAGCTGGTACCACGACCTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGTCACGGCGACCTGTGGAAT GCGCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCCGAGAA CCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAG CCCCTGCTGGAAAAGTCCCCTGTATCGCCGAGGTGGAAAACG ACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCCTGGCCGCCGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGGCAATGTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTTCGACGAGTTCGAAGCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGACTGTTTCGA GCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGGTCCGA TACCCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCCACCTGGTGG AAGTGTCCCGAACCTGGGCAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAA GCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGACGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT CAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTACCTTCCACG CCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAA ACAGACCGCCCTGGTTCGAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCC ACCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCT TCGTCGAGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAAACTGGTGGCCGCTCTCAGGCCGCC CTGGGCCTGAAAGAGTCCCGGCCAAGAAGTTCAGCGGCAGC ACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCCTCCACCTACTG CAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGGGCCGGTGC AAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGTGGACGTGC AGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTCACTTGAAGAACGGCCA GGGCAACTGCTACAAGAGCAACTCCTCCATGCACATCACCGAC TGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTGCGCCTACC GGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCCTGCGAGGG CTCCCCTTACGTGCCCGTGCCTTCGACGCCTCCGTGGAAGAT TCCACCTGATGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
91	Ácido nucleico de RSLV-302	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTTCCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGCAAAGAGTCCCAGGCAAGAAGTCCA GCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGTCTCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGG GCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTTCAGGAAAAAGTCACTTGCAAG AACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTTCGACGCCCTCCG TGGAAGATTCCACCGACGCCACAAGTCCGAGGTGGCCACCG GTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGTCTG ATCGCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTGCCTTCGAGGACC ACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGACTG CGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCACAAGAGCCTGCAC ACCCTGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCCTCGGG AAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGTGCGCCAAGCAGGAACC CGAGCGAACGAGTGTTCCTGCAGCACAAGGACGACAACCCC AACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGTGCA CCGCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCTGAAGAAGTACCT GTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCGAG CTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCCTTACCGAGT GCTGCCAGGCCGCCGATAAAGGCCCTGCTGCCTAAGCT GGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCCTCTCCGCCAAGCAG AGACTGAAGTGGCCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGCCT TTAAGCCTGGGCGGTGGCCCGGCTGTCTCAGAGATCCCCAA GGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTCACCGACCTGACC AAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCTGCTGGAATGCG CCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAACCA GGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAGCCC CTGCTGAAAAAGTCCCCTGTATCGCCGAGGTGAAAAACGACG AGATGCCCCGCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCGGACTTCGTGGA ATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAGGCAAGGATGTG TTCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGACCCCG ACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTACGA GACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCCACGAG TGCTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAAGCCTCTGGTGGAAAG AACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGCTGTTTCGAGCA GCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAAGCCCTGCTGGTCCGATAC ACCAAGAAAGTGCCCCAGGTGTCCACCCCAACCTGGTGGAAAG TGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAAGCA CCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTGAGC GTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCCCG TGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGTCAA CAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACATAC GTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCCACGCCG ACATCTGCACCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAAACA GACCCCTGGTCGAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCCACC AAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCCTTCG TCGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTTCGC CGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTCTCAGGCCGCCCTG GGCCTGTGATGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
92	Ácido nucleico de RSLV-303	<p>ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGGGACGCCCACAAGTCTGAGGTGGCCCA CCGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGGCCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCACAAAGTCCCTG CACACCCTGTTCCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCTGC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAGGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTTCCTGCAGCACAAGGACGACAAC CCAACTGCCCGGGTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGT GCACCGCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCCTGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGCGGCACCCCTACTTCTACGCCCC GAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCCTTCACCCG AGTGTGCCAGGCCGCCGATAAGGCCGCTGCCTGCTGCCTAA GCTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTCCGCCAAG CAGAGACTGAAGTGCCTCCCTGCAGAAAGTTCGGCGAGCGGG CCTTTAAGGCCTGGGCCGTGGCCCGGTGTCTCAGAGATTCCC CAAGGCCGAGTTTGGCGAGGTGTCCAAGCTGGTACCAGCCTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGTCACGGCGACCTGCTGGAAT GCGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAA CCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAG CCCCTGCTGGAAAAGTCCACTGTATCGCCGAGGTGGAAAACG ACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCCGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCCGCCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTGACGAGTTCAGCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGACTGTTTCGA GCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGGTCCGA TACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCACCCTGGTGG AAGTGTCCCGAACCTGGGCAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAA GCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGACGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT CAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTACCTTCCAG CCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGCGGCGAGATCAAGAA ACAGACCGCCCTGGTGCAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCC ACCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCT TCGTCGAGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAAACTGGTGGCCGCCCTCTCAGGCCCT CTGGGACTGGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGGTG GCGGCGGATCCAAGAGTCCCGGGCCAAGAAGTTCAGCGGCA GCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCCTCCACCTAC TGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGGGCCGGT GCAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGTGGACGT GCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAGTCACTTGCAAGAACGGC CAGGGCAACTGTACAAAGAGCAACTCTCCATGCACATCACCG ACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTGCGCCTA CCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCTGCGAG GGCTCCCTTACGTGCCGTGCACTTCGACGCCTCCGTGGAAG ATTCCACCTGATGACTCGAG</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
93	Ácido nucleico de RSLV-304	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCAGGCAAAGAGTCCCGGGCCAAGAAGTTCCA GCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCAGG GCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTTCAGGAAAAAGTCACTTGCAAG AACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCCTTCGACGCCCTCCG TGGAAGATTCCACCGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAGGTTT TGGTGGCGGCGGATCTGACGCCCAAGTCCGAGGTGAGCCAC CGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGC TGATCGCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTCCCCCTTCGAGGA CCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTACCGAGTTCCGCAAGACC TGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAATGCGACAAGAGCCTGC ACACCTGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTTGC GAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGTGCGCCAAGCAGGAA CCCGAGCGGAACGAGTGTCTCTGCAGCACAAGGACGACAACC CCAACCTGCCCGGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGTG CACCGCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCTGAAGAAGTAC CTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCCG AGCTGCTGTTTTTTCGCAAGCGGTACAGGCCCGCCTTACCGA GTGCTGCCAGGCCCGGATAAAGGCCCGCTGCCTGTGCTAAG CTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCCTCTCCGCCAAGC AGAGACTGAAGTGCGCCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGC CTTTAAGGCCTGGGCGGTGGCCCGGCTGTCTCAGAGATTCCCC AAGGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGTGGTACCCGACCTGA CCAAGTGCACACCGAGTGTGTGTCACGCGACCTGTGGAAATG CGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAAC CAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAGC CCCTGCTGGAAAAGTCCCCTGTATCGCCGAGGTGGAAAACGA CGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCGGACTTCGTG GAATCCAAGGACGTGTGCAAGAATACGCCGAGGCAAGGATG GTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACCC CGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTAC GAGACAACCTTGAAAAGTGTGTCGCCCGCTGCCGACCCACG AGTGTACGCCAAGGTGTGACGAGTCAAGCCTCTGGTGGA AGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAATGCGAGCTGTTTCGAG CAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGTGGTCCGAT ACACCAAGAAAAGTGCCCCAGGTGTCCACCCACCTTGGTGGA AGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAAG CACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTGA GCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT AACAGACGGCCCTGTCTTCCGCCCTGGAAAGTGGACGAGACAT ACGTGGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTACCTTCCACGC CGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAAGCGGCAGATCAAGAAA CAGACCGCCCTGGTTCGAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCCA CCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCCGCTT CGTCGAGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTTC GCCGAAGAGGGCAAGAAAACCTGGTGGCCGCTCTCAGGCCGCC TGGGCTGTGATGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
94	Ácido nucleico de RSLV-308	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGCAAAGAGTCCCGGGCCAAGAAGTTCCA GCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGG GCCGGTGCAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTCACCTGCAAG AACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTTCGACGCCCTCCG TGGAAGATTCCACCGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAGGTTT TGGTGGCGGCGGATCTGACGCCACAAGTCCGAGGTGGCCAC CGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGC TGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTTCGAGGA CCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGACC TGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAATGCGACAAGAGCCTGC ACACCTGTTCCGGGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTGCG GGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAGGAA CCCGAGCGGAACGAGTGTCTCCTGCAGCACAAGGACGACAACC CCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGTG CACCGCCTTCACGACAACGAGGAAACCTTCCTGAAGAAGTAC CTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCG AGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCGA GTGCTGCCAGGCCGCGGATAAGGCCGCTGCCTGCTGCCAAG CTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCCTCCCGCCAAGC AGAGACTGAAGTGCGCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGC CTTTAAGGCTGGGCCGTGGCCCGGCTGTCTCAGAGATCCCC AAGGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTACCCGACCTGA CCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGTCACGGCGACCTGCTGGAATG CGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAAC CAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAGC CCCTGCTGAAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGAAAAACGA CGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCGCAGCTTCGTG GAATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAGGCCAAGGATG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		<p>TGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACCC CGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTAC GAGACAACCCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCAAG AGTGTCTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTCAAGCCTCTGGTGGA AGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGCTGTTCGAG CAGCTGGGCGAGTACAAGTCCAGAACGCCCTGCTGGTCCGAT ACACCAAGAAAGTGCCCAAGGTGTCCACCCCAACCTGGTGGA AGTGTCCCGGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAAG CACCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTGA GCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCCC CGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGTC AACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACAT ACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCCACGC CGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAAA CAGACCGCCCTGGTCGAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCCA CCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCCTT CGTCGAGAAGTGTTCGAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTTC GCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTCTCAGGCCGCTC TGGGACTGGGAGGCGGAGGAAGTGGTGGCGGAGGTAGCGGAGG TGGCGGCTCCCTGAAGATCGCCGCTTTAACATCCAGACCTTC GGCGAGACAAAGATGTCCAACGCTACCTGGTGTCTACATCG TGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGCAGGAAAGT GCGGGACTCCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGTGGACAAC CTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACACTACGTGGTGTCCG AGCCTCTGGGCCGAACTCTACAAAGAAAAGATACCTGTTTCGT GTACCGGCCCGACCAGGTGTCCGCCGTGGAC TCCTACTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACA CCTTCAACCGCGAGCCCTTCATCGTGCCTTCTTCAGCCGGTT CACCGAAGTCCGCGAGTTTGCCATCGTGCCCTGCACGCTGCT CCAGGCGACGCCGTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGT ACCTGGATGTGCAGGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCT GATGGGCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCC CAGTGGTCTCCATCCGGCTGTGGACCAGCCACCTTCCAGT GGCTGATCCCCGACTCCGCCGATACCACGCCACCCCTACCCA CTGTGCTACGACCGGATCGTGGTGGCCGGCATGCTGTGAGG GGTGCCGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAG CCGCTACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGA CCACTACCCCGTGGAAAGTGTGATGCTGAAGTGTATCGAG</p>
95	Ácido nucleico de RSLV-310	<p>ATGGAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTGCTGCTGTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCA GACCTTCGGCGAGACAAAGATGTCCAACGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AGGAAGTGCGGGACTCCACCTGACCGCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCACTACGTG GTGTCCGAGCCCCGGGCCGAACTCTACAAAGAAAAGATACC TGTTCGTGTACCGGCCGACCAGGTGTCGCCCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGCCTTCTTCAGCCGGTTCACCG AAGTCCGCGAGTTCCGCATCGTGCCCTGCATGCTGTCTCCAGG CGACGCGGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTG GACGTGCAGGAAAAGTGGGGCCTGGAAGATGTGATGTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCCACTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACTCCCACTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCACCCCTACCACTGCG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGTGAGAGGCGC CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGC</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		<p>TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCCAGGCCATCTCCGACCACT ACCCCGTGGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGGCGGATCTGGCGG CGGAGGTTCTGGTGGCGGCGGATCTGACGCCACAAGTCCGAG GTGGCCACCAGGTTCAAGGACCTGGGGGAGGAAAACCTCAAGG CCCTGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCC CTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTT GCCAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCACA AGTCCCTGCACACCCTGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGC CACCCTGCGGGAAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGTGCGCC AAGCAGGAACCCGAGCGGAACGAGTGTTCCTGCAGCACAAGG ACGACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGA CGTGATGTGCACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTG AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGC CTTACCGAGTGTGCCAGGCCGCCGATAAGGCCGCCCTGCCGTG CTGCCAAGCTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCTCCT CCGCAAGCAGAGACTGAAGTGCCTCCCTGCAGAACTTCGG CGAGCGGGCCTTTAAGGCTGGGCCGTGGCCCGGCTGTCTCAG AGATTCCCAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTCA CCGACTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAGTACATC TGGGAGAACCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGT GCGAGAAGCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGTGTGAGGT GAAAACGACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCC GACTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGG CCAAGGATGTGTTCCGGGCATGTTCCGTACGAGTACGCTCG GCGGCACCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCC AAGACTACGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGTGCCG ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTGACGAGTTCAAGCC TCTGGTGAAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTCCGAG CTGTTTCGAGCAGCTGGCGGAGTACAAGTTCAGAAACCGCTGC TGGTCCGATACACCAAGAAAAGTGCCCCAGGTGTCCACCCCAAC CCTGGTGAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACTGAGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGA AAAGACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAG TCCCTGGTCAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGG ACGAGACATACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCAC CTTCCACGCCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAG ATCAAGAAACAGACCCCTGGTTCGAGCTGGTCAAGCACAAGC CCAAGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCCCTTTGTGAAAAGTGTGCAAGGCC GACGACAAAGAGACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAACTGG TGGCCGCTCTCAGGCCGCTCTGGGACTGGGAGGCGGAGGAAG TGGTGGCGGAGGTAGTGGCGGAGGGGCTCCAAAGAGTCCCGG GCCAAGAAGTTCAGCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCC CCTCCAGCTCCTCCACTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAG AAACATGACCCAGGGCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTG CACGAGCCACTGGTGGATGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAA AAGTCACTTGCAAGAACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGAGCAA CTCCTCCATGCACATCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCC AGATAACCCAACTGTGCCTACCGACCTCCCTAAAGAACGGC ACATCATCGTGGCTGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCA CTTGACGCCTCCGTGGAAGATTCCACTGATGACTCGAG</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
96	Ácido nucleico de RSLV-311	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGCCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCA GACCTTCGGCGAGACAAAGATGTCCAACGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AGGAAGTGCGGGACTCCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACCTGAACCAGGACGCCCCCGACACCTACCACTACGTG GTGTCCGAGCCCCGGGCCGAACTCCTACAAAAGAAAGATAACC TGTTCGTGTACCGGCCGACCAGGTGTCCGCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGGGTTCTTCAGCCGGTTCACCG AAGTCCGCGAGTTCGCCATCGTGGCCCTGCATGCTGCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTG GACGTGCAGGAAAAGTGGGGCCTGGAAGATGTGATGCTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCACCCCTACCACTGGC CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGAGCGCG CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCGCC TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACT ACCCGTGGAAAGTGTGCTGAAGGACGCCACAAGTCCGAGGT GGCCACCCTGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTTCAAGGCC CTGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGGCCCT TCGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTACCGAGTTTGC CAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCGGAGAACTGCGACAAG TCCCTGCACACCTGTTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCA CCCTGCGGGAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAA GCAGGAACCCGAGCGGAACGAGTGCTTCCTGCAGCACAAGGAC GACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACG TGATGTGCACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCCTGAA GAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTAC GCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCCCT TCACCGAGTGTGTCAGGCCGCGGATAAAGCCGCTGCTGCTGCT GCCTAAGCTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCCTCCTCC GCCAAGCAGAGACTGAAGTGCCTCCTGCGAGAAGTTCGGCG AGCGGGCCTTTAAGCCCTGGGCCGTGGCCCGCTGTCTCAGAG ATTCCCAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTCAACC GACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCTGC TGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAGTACATCTG CGAGAACCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGTC GAGAAGCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGTGGAGTGG AAAACGACGAGATGCCCGCCGACTGCCTTCCCTGGCCCGCA CTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAATAACGCCGAGGCC AAGGATGTGTTCCCTGGGCATGTTCCCTGTACGAGTACGCTCGGC GGCACCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGCTGAGACTGGCCAA GACCTACGAGACAACCCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGAC CCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTTCGACGAGTTCAAGCCTC TGGTGGAAAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTCCGAGCT GTTCGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTG GTCCGATACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAACCC TGGTGGAAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTG CTGCAAGCACCCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGAC TACCTGAGCGTGGTGTGTAACCAAGTGTGCGTGTGTCACGAAA AGACCCCGTGTCCGACAGAGTACCAAGTGTGTACCGAGTCT CCTGGTCAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGAC GAGACATACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTACCT TCCACGCCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGAT CAAGAAACAGACCCCTGGTTCGAGCTGGTCAAGCACAAGCCC AAGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCG CCGCCTTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGAC ATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAAACTGGTGGCCGCTCTCAG GCCGCCCTGGCCCTGTGATGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
97	Ácido nucleico de RSLV-312	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCGACGCCACAAGTCTGAGGTGGCCCA CCGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGGCCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGCCGACGAGTCCGCCGAGAACTGCGACAAGTCCCTG CACACCCTGTTCCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCTGC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAGGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCCGAGCACAAGGACGACAAC CCCAACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGT GCACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCCGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCC GAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCCTTACCG AGTGTGCCAGGCCCGGATAAGGCCGCTGCCGTGCTGCCTAA GCTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTCCGCCAAG CAGAGACTGAAGTGCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGG CCTTAAGGCCCTGGCCGTGGCCCGGCTGTCTCAGAGATTCCC CAAGGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTCAACCGACTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGCACGGCGACCTGCTGGAAT GCGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAA CCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAG CCCCTGCTGAAAAAGTCCCCTGTATCGCCGAGGTGAAAAACG ACGAGATGCCCGCCGACCTGCCCTCCCTGGCCGCGGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCCCTGAAAAAGTGTGCGCCGCTGCGGACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTTCGACGAGTTCAGCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCGAGCTGTTTCGA GCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCCAGAACGCCCTGCTGGTCCGA TACACCAAGAAAGTGCCCCAGGTGTCCACCCCCACCCTGGTGG AAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAA GCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT CAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCCAAAGAGTTCACGCGGAGACATTCACCTTCCACG CCGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAGATCAAGAA ACAGACCGCCCTGGTTCGAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCC ACCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCT TCGTCGAGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCAGGCCCT CTGGCCCTGCTGAAGATCGCCGCTTTAACATCCAGACCTTCG GCGAGACAAAGATGTCCAACGCTACCCTGGTGTCTACATCGT GCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGCAGGAAGTG CGGGACTCCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCTGGACAACC TGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCACTACGTGGTGTCCGA GCCCTGGGCCGGAACCTCTACAAAGAAAGATACCTGTTCTGT TACCGGCCGACAGGTGTCCGCCGTGGACTCTACTACTACG ACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTCAACCGCGA GCCCTTCATCGTGGTTCCTCAGCCGGTTCACCGAAGTCCGC GAGTTTGCCATCGTGCCTGACGCTGCTCCAGGCGACGCCG TGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGACGTGCA GAAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGCCGACTTC AACGCCGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTCCCA TCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTGATCCCCGA CTCCGCGATACCACGCCACCCCTACCCACTGCGCCTACGAC AGGATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGGGGCGCTGTGGTGC CTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTCAAGCCGCTACGGCCT GTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACTACCCCGTG GAAGTGATGCTGAAGTGTGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
98	Ácido nucleico de RSLV-313	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCTGAAGATCGCCGCCTTCAACATCCA GACCTTCGGCGAGACAAAGATGTCCAACGCCACCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AGGAAGTGCGGGACTCCACCTGACCGCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACCTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCACTACGTG GTGTCCGAGCCCCGGGCGGAACTCCTACAAAGAAAGATAACC TGTTCGTGTACCGGCCCCGACCAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGCAGTTCTTCAGCCGGTTCACCG AAGTCCGCGAGTTCGCCATCGTGCCCTGCATGCTGCTCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTG GACGTGCAGGAAAAGTGGGGCCTGGAAGATGTGATGCTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCACCCCTACCACTGGC CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGCGATGCTGTGAGAGCGC CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTCAAGCCGCC TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCT ACCCGTGGAAAGTGTGCTGAAGGGGGAGGCGGATCTGGCGG CGGAGGTTCCTGGTGGCGGCGGATCTGACGCCACAAGTCCGAG GTGGCCACCAGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTTCAAG CCTGGTGTGATCGCCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTCCCC CTTGAGGACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGAAGGATTT GCCAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAC AGTCCCTGCACACCCTGTTCCGGCACAAGCTGTGCACCGTGGC CACCCTGCGGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCC AAGCAGGAACCCGAGCGGAACGAGTGTTCCTGCAGCACAAG ACGACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGA CGTGTGTGCACCCCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCCTG AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGC CTTACCGAGTGTGCCAGGCCGCGATAAGGCCGCTGCGCTG CTGCCTAAGCTGGACGAGTGCAGGACGAGGGCAAGGCCCTCT CCGCAAGCAGAGACTGAAGTGCCTCCTGCAGAAGTTCGG CGAGCGGGCCTTTAAGGCTGGGCGGTGGCCCGCTGTCTCAG AGATTCCCAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTCA CCGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAAGTACATC TGGGAGAACCAGGACTCCATCTCTCCAAGCTGAAAGAGTGT GCGAGAAGCCCCGTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGTGTGAGGT GGAAAACGACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCTGGCCGCC GACTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAATACGCCGAGG CCAAGGATGTGTCTGGGCATGTTCCTGTACGAGTACGCTCG GCGGACCCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGTGAGACTGGCC AAGACCTACGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCC ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAGACC TCTGGTGGAAAGAACCCCAAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAG CTGTTCCGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGC TGGTCCGATACCAAGAAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAAC CCTGGTGGAAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACCTGAGCGTGGTGTGTAACAGCTGTGCGTGTGCACGA AAAGACCCCCGTGTCCGACAGAGTACCAAGTGTGTACCGAG TCCCTGGTCAACAGACGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGG ACGAGACATACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCAC CTTCACGCCGACATTCGACCCCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAG ATCAAGAAAACAGACCGCCCTGGTTCGAGCTGGTCAAGCACAAGC CCAAGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCTTTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAAGAG ACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAAAAGTGGTGGCCGCTCTC AGGCCGCCCTGGCCCTGTGATGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
99	Ácido nucleico de RSLV-314	ATGGAAACCCCTGCCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGCGACGCCACAAGTCTGAGGTGGCCCA CCGGTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTGGCCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTCAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAGACAAGTCCCTG CACACCCTGTTCCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCTGC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAGGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCTGCAGCACAAGGACGACAAC CCCAACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCTGAGGTGGACGTGATGT GCACCGCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGCGGCACCCCTACTTCTACGCCCC GAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCCTTCACCG AGTGTGCCAGGCCGCCGATAAAGGCCCTGCCTGCTGCCTAA GCTGGACGAGCTGCGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTCCGCCAAG CAGAGACTGAAGTGCCTCCCTGCAGAAAGTTCGGCGAGCGGG CCTTTAAGGCCTGGGCCGTGGCCCGGTGTCTCAGAGATTCCC CAAGGCCGAGTTTGGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTACCAGCCTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGTCACGGCGACCTGTGGAAT GCGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAA CCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAG CCCCTGCTGGAAAAGTCCACTGTATCGCCGAGGTGGAAAACG ACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCCGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCCGCCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTGACGAGTTCAGCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCAGAGCTGTTCGA GCAGTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGGTCCGA TACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCCACCTGGTGG AAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAA GCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT CAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCCACG CCGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAGATCAAGAA ACAGACCGCCCTGGTGCAGCTGGTCAAGCACAAGCCCAAGGCC ACCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCT TCGTCGAGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCCGCT CTGGGACTGGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGGTG GTGGCGGCTCCCTGAAGATCGCCGCCTTAAACATCCAGACCTT CGGCGAGACAAAGATGTCCAACGCTACCCTGGTGTCTACATC GTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGCAGGAAG TGCGGGACTCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGTGGACAA CCTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCACTACGTGGTGTCC GAGCCCTGGGCCGGAACCTCTACAAAGAAAGATACCTGTTCG TGTACCGGCCCGACAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTACTACTA CGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTCAACCGC GAGCCCTTCATCGTGCAGTCTTTCAGCCGGTTCACCGAAGTCC GCGAGTTTGCCATCGTCCCGTGCACGCTGCTCCAGGCGACGC CGTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGACGTG CAGGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGGCGACT TCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTC CATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTGATCCCC GACTCCGCCGATAACCACCGCCACCCCTACCACTGCGCCTACG ACAGGATCGTGGTGGCCGCGATGCTGCTGAGGGGCGCTGTGGT GCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTCAAGCCGCCTACGGC CTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACTACCCCG TGGAAGTGTGCTGAAGTGTGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
100	Albúmina humana (precursora)	MKVVTFISLLFLFSSAYS SRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQH KDDNPNL PRLV RPEVDVMCTAFHDNEETF LK KYLYE IARRHPY FYAP ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAA CLLPKLDEL RDEGKA SSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL VTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDS ISSKLKE CCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYA EAKDVF LGMFLY EYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTLEKCCAA ADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQNA LLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALE VDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCF AE EGK KLVAA SQAALGL
101	Consenso de glicosilación ligada a O	CXXGG-T/S-C
102	Consenso de glicosilación ligada a O	NST-E/D-A
103	Consenso de glicosilación ligada a O	NITQS
104	Consenso de glicosilación ligada a O	QSTQS
105	Consenso de glicosilación ligada a O	D/EFT-R/K-V
106	Consenso de glicosilación ligada a O	C-E/D-SN
107	Consenso de glicosilación ligada a O	GGSC-K/R
108	DNasal E13R/N74K/A114F/T205K Humana Madura	LKIAAFNIQTFG R TKMSNATLVSYIVQILSRYDIALVQEVDRD HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGR K SYKERYLFVYR P DQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNRE P IVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLE DVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTA K PTHCA YDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHY PVEVM LK
109	DNasal E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S Humana Madura	LKIAAFNIQTFG R TKMS S ATLVSYIVQILSRYDIALVQEVDRD HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGR K SYKERYLFVYR P DQVSAVDSYYYDDGCEPCG S DTFNRE P IVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLE DVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTA K PTHCA YDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHY PVEVM LK
110	RSLV-325 (HSA-enlazador-DNasa E13R/N74K/A114F/T205K)	METPAQLLFLLLLWLPDTTGDAHKSEVAHRFKDLGEEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQH KDDN PNL PRLV RPEVDVMCTAFHDNEETF LK KYLYE IARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAA CLLPKLDEL RDEGKASSAK QRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL VTDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDS ISSKLKECCEK P LLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQNA LLV R YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCF AE EGK KLVAA SQAALGLGGGGSGGGGSLKIAAFNIQTFGRTKMSNATLVSYI VQILSRYDIALVQEVDRD SHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGRKSYKERYLFVYR PDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNR EPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDV QEKWGLE DVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIP DSADTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYG LSDQLAQAI SDHY PVEVM LK

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
111	RSLV-326 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGLKIAAFNIQTFGRTKMSNATLVS YIVQILSRDYDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPD TYHYV VSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPQSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACL LPKLDLDRDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKYI CENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRA KTYET TLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNC LFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSGK CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQ IKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADKKE TCFAEEGKLVAAASQAALGL</p>
112	RSLV-327 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa E13R/N74K/A114F/T205K)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNKYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVA CEGSPYVPVHF DASVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCAKQE PERNECF LQHKDDNPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKY LYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAADKAAALLPK LDELDRDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKYI CEN QDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFV ESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADKKE TCF AEFGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQT FGRKMSNATLVS YIVQILSRDYDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDN LNQDAPD TYHYV VSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYY DDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAIIVPLHAAPGDA VAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPQSS IRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVV PDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLK</p>
113	RSLV-328 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA-enlazador-RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGLKIAAFNIQTFGRTKMSNATLVS YIVQILSRDYDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPD TYHYV VSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPQSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACL LPKLDLDRDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKYI CENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRA KTYET TLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNC LFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSGK CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQ IKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADKKE TCFAEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKESRAKKF QRQHMDSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNTQGRCKPVNTFVHEPL VDQNVCFQEKVTCKNGQGNKYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPN CAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHF DASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
114	RSLV-329 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa E13R/N74K/A114F/T205K)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNQCYKSNSSMHI TDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHI IVA CEGSPYVPVHF DASVEDSTGGGGSGGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQKE PERNECF LQHKDDNPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKY LYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPK LDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFP KAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKY ICEN QDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGLVDGASSPVNVSSPSVQDILKIAAFNI QTFGRTKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRD SHLTAVGKL LDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDS YYDDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAP GDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLE DVMLMGDFNAGCSYVRPSQ WSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRG AVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLK</p>
115	RSLV-330 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA)	<p>METPAQLLFLLLLWLPD TTGLKIAAFNIQTFGRTKMS SATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRD SHLTAVGKL LDNLNQDAPDTYHYV VSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYDDGCEPCGSDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYL DVQEKWGLE DVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKGGGGSGGGGSGGGGSDAHKSE VAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETF L KKLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQ RFPKAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECADDRADLAKY I CENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA KTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNL IKQNCLE LFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSEKERQ IKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
116	RSLV-331 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDITGKESRAKRFQRQHMSDSDSSPSSSS TYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCK NGQGNCYKSNSSSMHITDCRLTNGSRYPNCAVRTSPKERHIIVA CEGSPYVPVHFDAVEDSTGGGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAH RFKDLGEEFNFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE PERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKY LYEIARRHPYFYAPELLEFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPK LDELREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFP KAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICEN QDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADKDETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTF GRTKMSSATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDLSHLTAVGKLLDN LNQDAPDTHYVSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTF DDGCEPCGSDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDA VAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPSQWSS IRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVV PDSALPFNFQAAAGLSQDLAQAI SDHYPVEVMLK</p>
117	RSLV-332 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA-enlazador-RNasa)	<p>METPAQLLFLLLLWLPDITGLKIAAFNIQTFGRTKMSSATLVSY IVQILSRDYDIALVQEVDRDLSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTHYV VSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTF NREPFIVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDV DVQEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWL IPDSADTTAKPTHCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAA YGLSDQLAQAI SDHYPVEVMLKGGGGSGGGSGGGGSDAHKSE VAHRFKDLGEEFNFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEF AKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLL KKYLYE IARRHPYFYAPELLEFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDLREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQ RFPKAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAK KTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLE LFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQ IKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADKDETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSKESRAKRF QRQHMSDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPL VDQNVCFQEKVTCKNGQNCYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPN CAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDAVEDST</p>
118	RSLV-325 (HSA-enlazador-DNasa E13R/N74K/A114F/T205K; sin líder)	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLV NEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFHD NEETFLLKKYLYE IARRHPYFYAPELLEFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDLREDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWA VARLSQRFPKAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSV LLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCK KADKDETCFAEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSLK IAFNIQTFGRTKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDLSHL TAVGKLLDNLNQDAPDTHYVSEPLGRKSYKERYLFVYRPDQ VSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPFIVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAGCS YVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCAYDRIVVA GMLLRGAVVPDSALPFNFQAAAGLSQDLAQAI SDHYPVEVMLK</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
119	RSLV-326 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA; sin líder)	<p>LKIAAFNIQTFGRRTKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRKSYKERYLFVYR DVQSAVDSYYYDDGCEPCGNDFNREPFIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLDVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCAIDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAISDHYPVEVM LKGGGGSGGGGGSGGGGSDAHKSEVAHFRKDLGEENFKALVLI FAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVREVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLL EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKLVAASQAALGL</p>
120	RSLV-327 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa E13R/N74K/A114F/T205K; sin líder)	<p>KESRAKFQRQHMDSSSPSSSSTYCNQMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQNCYKSNSSMHITDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAHFRKDLGEENFKALVLIAFAQ YLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKS HCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQ LCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKE NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKLVAASQAALGGGG GSGGGSGGGGSLKIAAFNIQTFGRTKMSNATLVSYIVQILSR YDIALVQEVDRDSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRK SYKERYLFVYRPDVQSAVDSYYYDDGCEPCGNDFNREPFIVR FFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGL EDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTA AKPTHCAIDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLA QAISDHYPVEVMLK</p>
121	RSLV-328 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K-enlazador-HSA- enlazador-RNasa; sin líder)	<p>LKIAAFNIQTFGRRTKMSNATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRDS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGRKSYKERYLFVYR DVQSAVDSYYYDDGCEPCGNDFNREPFIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLDVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCAIDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAISDHYPVEVM LKGGGGSGGGGGSGGGGSDAHKSEVAHFRKDLGEENFKALVLI FAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVREVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLL EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKLVAASQAALGL GGGSGGGSGGGGSKESRAKFQRQHMDSSSPSSSSTYCNQ MRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQN CYKSNSSMHITDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIVACEGSP YVPVHFDASVEDST</p>

ES 2 759 252 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
122	RSLV-329 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa E13R/N74K/A114F/T205K; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQGCYKSNSSMHI TDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGSGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRL VRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKLYE IARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDLDELRDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKS HCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFQLGEYKFNALLVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQ LCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCKKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLVDG ASSPVNVSSPSVQDILKIAAFNIQTFGR TKMSNATLVSYIVQI LSRYDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPL GRKSYKERYLFVYRDPQVSAVDSYYYDDGCEPCGNDTFNREPF IVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEK WGLEDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSA DTTAKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSD QLAQAI SDHYVPEVMLK</p>
123	RSLV-330 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA; sin líder)	<p>LKIAAFNIQTFGR TKMS SATLVSYIVQILSR YDIALVQEVDRS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVSEPLGR KSYKERYLFVYR DQVSAVDSYYYDDGCEPCG SDTFNREPF PIVRFFSRFTEVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTA KPTHCA YDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPEVM LKGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI A FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKLYE IARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDLDELRDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDS ISSKLKECCEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFQLGEYKFNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGL</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
124	RSLV-331 (RNasa-enlazador-HSA-enlazador- DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S; sin líder)	<p>KESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQMMRRRNMTQGRCKPV NTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQNCYKSNSSMHIIDCRL TNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSPYVPVHFDASVEDSTG GGGSGGGSGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKS HCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCNKYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFNALLVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQ LCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGLGGG GSGGGSGGGSLKIAAFNIQTFGR TKMS SATLVSYIVQILSR YDIALVQEVDRSHLTA V GKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGRK SYKERYLFVYRDPQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTFNREP FIVR FFSRFTVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGL EDVMLMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTT AKPTHCA YDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLA QAISDHYPVEVM LK</p>
125	RSLV-332 (DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S-enlazador-HSA-enlazador-RNasa; sin líder)	<p>LKIAAFNIQTFGR TKMS SATLVSYIVQILSR YDIALVQEVDRS HLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGRK SYKERYLFVYR DQVSAVDSYYYDDGCEPCGSDTFNREP FIVRFFSRFTVREFA IVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGL EDVMLMGDFNAG CSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTAKPTHCA YDRIV VAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAISDHYPVEVM LKGGGSGGGSGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI A FAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPEL FFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCNKYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKLVAAASQAALGL GGGSGGGSGGGSGGSGGSKESRAKKFQRQHMDSDSSPSSSSTYCNQ MRRRNMTQGRCKPVNTFVHEPLVDVQNVCFQEKVTCCKNGQNC CYKSNSSMHIIDCRLTNGSRYPNCAYRTSPKERHIIVACEGSP YVPVHFDASVEDST</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
126	Ácido nucleico de RSLV-325	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGCGATGCCACAACTGCTGAGGTGGCCCA CCGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAACTGCGACAAGAGCCTG CACACCCTGTTCCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCTGC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAAGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCTGCAGCACAAGGACGACAAC CCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGT GCACCCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCC GAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCG AGTGTGCCAGGCCGCGATAAAGGCCGCTGCTGCTGCTGCTAA GCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTTGCCAAG CAGCGCTGAAGTGCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCCGAGGGG CCTTTAAGGCCTGGGCCGTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCC CAAGGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGACAGACCTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCTGTGGAAT GCGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCGCGAAGAA CCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAG CCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGGAAAACG ACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCCGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCCGGCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTTCGACGAGTTCGAAGCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCGAGCTGTTTGA GCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGGTCCGA TACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAACCTGGTGG AAGTGTCCCGGAACCTGGGCAAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAA GCACCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT GAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCAAAGAGTTCACGCGGAGACATTACCTTCCACG CCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAA ACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGCCCAAGGCC ACCAAGAAGCAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCAGCCGCT TTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCTGCT CTGGCCCTGGGAGGCGGAGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGGAG GGGCGGATCTCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCAGACCTT CGGCCGACCAAGATGTCCAACGCTACCCTGGTGTCTTACATC GTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGCAGAAG TGCGGGACTCCCACCTGACCGCGTGGGCAAGCTGCTGGACAA CCTGAACCAGGACGCCCCCGACACCTACCACTACGTGGTGTCT GAGCCCTGGGCCGGAAGTCTTACAAAGAAAGATACCTGTTTCG TGTACCGGCCGACCAAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTACTACTA CGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTCAACCGC GAGCCCTTCACTGTGCGGTTCTTCAGCCGTTTCAACGAAGTGC GCGAGTTTGCCATCGTGCCTTGCACGCTGCTCCAGGCGACGC CGTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGATGTG CAAGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGCCGACT TCAACGCCGCTGCTCTTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTCTC CATCCGGCTGTGGACCAGCCCACTTCCAGTGGCTGATCCCC GACTCCGCGATACCACCGCAAGCCCACTGTGCTTACG ACAGAATCGTGGTGGCCGCGATGCTGCTGAGGGGCGCTGGT GCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGCTACGGC CTGTCCGACAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACTACCCCG TGAAGTGTGCTGAAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
127	Ácido nucleico de RSLV-326	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCA GACCTTCGGCCGGACCAAGATGTCCAACGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AAGAAGTGCGGGACTCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCT GGACACCTGAACCAGGACGCCCCCGACACCTACCACCTACGTG GTGTCTGAGCCCCCTGGGCCGAAGTCTACAAAGAAAGATACC TGTTCTGTGTACCGGCCGACCAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGCAGTTCAGCCGGTTCACCG AAGTGCAGGATTCGCCATCGTGCCCTGCATGCTGTCTCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTG GACGTGCAAGAAAAGTGGGCCTGGAAGATGTGATGTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACCGCAAGCCACCCGCTGCG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGAGGCGC CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGCC TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCCAGGCCATCTCCGACCACT ACCCGTGGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGGCGGATGTCGCGG AGGGGGAAGTGGCGGCGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAG GTGGCCACCAGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGG CCCTGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGGCC CTTCGAGGACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTACCCAGTCTT GCCAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAGCA AGTCCCTGCACACCCTGTTCGGCGACAGCTGTGCACCGTGGC CACCCTGCGGGAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGTGCGCC AAGCAAGAACCAGCGAGCGGAACGAGTGTCTCTGCAGACAAGG ACGACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGA CGTGTGTGACCCGCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTGT AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCGC CTTACCGAGTGTGCCAGGCCGCCGATAAGGCCGCCCTGCCCTG CTGCCTAAGCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCCTCT CTGCCAAGCAGCGGCTGAAGTGGCCCTCCCTGCAGAAGTTCGG CGAGCGGGCTTTAAGGCTGGGCCGTGGCCCGCTGTCCAG AGATTCCCTAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGA CAGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACCGGCACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAGTACATC TGCGAGAACCAGGACTCCATCTCCTCAAGCTGAAAAGTGTCT GCGAGAAGCCCCCTGTGGAAAAGTCCCACTGTATCGCTGAGGT GGAAAACGACGAGATGCCCGCCGACCTGCCCTCCCTGGCCGCC GACTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAGG CCAAGGATGTGTTCCCTGGGCATGTTCCGTACGAGTACGCTCG GCGGCACCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCC AAGACCTACGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCG ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTGACGAGTTCAAGCC TCTGGTGGAGAACCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGAG CTGTTGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGC TGGTCCGATACCCAAGAAAGTGCCCAAGGTGTCCACCCTTAC CCTGGTGGAAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACCTGAGCGTGGTGTGTAACCAGCTGTGCGTGTGCACGA AAAGACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGGAG TCCCTGGTGAACAGACGGCCCTGCTTCCGCCCTGGAAAGTGG ACGAGACATACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCAC CTTCACGCCGACATTCGACCCCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAG ATCAAGAAACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGC CCAAGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCTTTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAG ACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCCCTCTC AGGCTGCTCTGGCCCTG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
128	Ácido nucleico de RSLV-327	ATGGAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCAAAGAGTCCCGGGCCAAAGAAGTTCCA GCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCCTCCAGTCTCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGG GCCGGTGCAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTCACATGCAAG AACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTTCGACGCCCTCCG TGGAAAGATTACCGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAGGAAG TGGCGGGGAGGCTCTGATGCCCAAGTCTGAGGTGGCCAC CGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGC TGATCGCCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTTCGAGGA CCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGACC TCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCACAAAGAGCTGC ACACCTGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTGCG GAAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAAGAA CCGGAGCGGAACGAGTGTTCCTGCAGCACAAAGGACGACAACC CCAACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGTG CACCGCCTTCACGACACAGGAGGAAACCTTCCTGAAGAAGTAC CTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCG AGCTGTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCGA GTGCTGCCAGGCCCGGATAAAGGCCGCTGCCTGTGCTGCTAAG CTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCTCTCTGCCAAGC AGCGGCTGAAGTGCGCCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGC CTTAAGGCCTGGGCCGTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCCC AAGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGACAGACTGA CCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGCACGGCGACTGCTGGAATG CGCCGACGACAGAGCCGACTGGCCAAGTACATCTGCGAGAAC CAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAGC CCTGTGAAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGAAAAACGA CGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCTTGGCCGCCGACTTCGTG GAATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAGGCCAAGGATG TGTTCCTGGGCATGTTTCCTGTACGAGTACGCTCGGCCGGCACCC CGACTACTCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTAC GAGACAACCCCTGAAAAAGTGTGCGCCGCTGCGGACCCCCACG AGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAAGCCTCTGGTGGGA AGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCGAGCTGTTTCGAG CAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGTGTTGGTCCGAT ACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCACTTGGTGGGA AGTGTCCCGGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAAG CACCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACTGA GCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CGTGTCCGACAGAGTGAACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGTG AACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACAT ACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCACGC CGACATCTGCACCCCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAGATCAAGAAA CAGACCCGACTGGTGGAACTGGTGAACACAAAGCCCAAGGCCA CCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCCTT TGTGAAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTTC GCCGAAGAGGGCAAGAAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCTGCTC TGGGCTGGGAGGCGGAGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGGAGG GGGCGGATCTTGAAGATCGCCGCCCTTCAACATCCAGACCTTC GGCCGGACCAAGATGTCCAACGCTACCCTGGTGTCTTACATCG TGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGAAGAAGT GCGGGACTCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGTGGACAAC CTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGTTGGTGTCTG AGCCCTGGGCCGGAAGTCTTACAAGAAAGATACCTGTTCCGT GTACCGGCCGACAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTACTACTAC GACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTCAACCCGG AGCCCTTTCATCGTGCAGTCTTTCAGCCGTTTACCAGAAAGTGC CGAGTTTGCCATCGTCCCTGACAGCTGCTCCAGGCGACGCC GTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGACCTGGATGTGC AAGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGGCGACTT CAACCGCGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTCTCC ATCCGGCTGTGGACCAGCCCACTTCCAGTGGCTGATCCCCG ACTCCGCCGATACCACCGCCAAGCCCACTGTGCTACGCA CAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGGGGGCTGTGGTG CCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGCTACGGCC TGTCCGACAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCTACCCCGT GGAAGTGTGCTGAAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
129	Ácido nucleico de RSLV-328	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTGCTGCTGCTGCTGTCG TGCCCGACACCACCGGCCTGAAGATCGCCGCCTTCAACATCCA GACCTTCGGCCGGACCAAGATGTCCAACGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AAGAAGTGCGGGACTCCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACCTGAACCAGGACGCCCCGACACTACCCTACGCTG GTGCTGAGCCCTGGGCCGGAAGTCTACAAAGAAAGATACC TGTTCGTGTACCGGCCGACCAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGGGTTCTTCAGCCGGTTACCCG AAGTGGCGGAGTTCGCCATCGTGCCCTGCAATGCTGCTCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTG GACGTGCAAGAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACGCCAAGCCCACCCTGCG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGAGGCGC CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGC TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCT ACCCCGTGGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGGCGGATCTGGCGG AGGGGGAAGTGGCGGGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAG GTGCCACCCTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGG CCCGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCC CTTGAGGACACGCTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTT GCCAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAGCA AGTCCCTGCACACCCTGTTTCGGCGACAAGCTGTGCACCTGGC CACCCTGCGGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCC AAGCAAGAACCAGCGGAAACGAGTGTCTCTGCAGCAAGG ACGACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGA CGTGTGATGTCACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTG AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCG CTTACCGAGTGTGCTGCCAGGCCGCGATAAGGCCGCTCCGCTG CTGCCTAAGCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCCTCT CTGCCAAGCAGCGGCTGAAGTGGCCCTCCCTGCAGAAGTTCGG CGAGCGGGCCTTAAAGCCCTGGGCCGTGGCCCGGCTGTCCCAG AGATTTCCCTAAGGCCGAGTTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGA CAGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAGTACATC TGGAGAACCAGGACTCCATCTCTCCAAGCTGAAAGAGCTGCT GCGAGAAGCCCTGCTGGAAAAGTCCCCTGTATCGTGTAGGT GGAAAACGACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCC GACTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGG CCAAGGATGTGTCTTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCG GCGGCACCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCC AAGACCTACGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCGC ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTTCGACGAGTTCAAGCC TCTGGTGGAAAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAG CTGTTGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGC TGGTCCGATACACCAAGAAAGTGCCTCCAGGTGTCCACCCCTAC CCTGGTGGAAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACCTGAGCGTGGTGTGAACAGCTGTGCGTGTGACACGA AAAGACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAG TCCCTGGTGAACAGACGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGG ACGAGACATACGTGCCAAAGAGTTCACGCCGAGACATTAC CTCCACGCCGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAG ATCAAGAAAACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAAGC CCAAGGCCACCAAGAAGACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCCTTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAG ACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTCTC AGGCTGCTCTGGCCCTGGGAGGCGGAGGATCTGGCCGAGGCGG CTCTGGCGGGGAGGAGCAAGAGTCCCGGGCCAAGAAGTTC CAGCGGCAGCAGTGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCTCT CCACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAAACATGACCCA GGGCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTG GTGGATGTGCAAGACGTGTGTTTTCAAGAAAAGTCAATGCA AGAACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGAGCAACTCTCCATGCA CATCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAAC TGTGCTTACCGGACCTCCCTAAAGAACGGCACATCATCGTGG CCTGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCCTTCGACGCGCTC CGTGGAAAGATTCCACC

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
130	Ácido nucleico de RSLV-329	ATGGA AACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCAAAGAGTCCCAGCCCAAGAAGTTCCA GCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGTCCCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGG GCCGGTGCAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTACCTGCAAG AACGGCCAGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTCGACGCCCTCCG TGGAAAGATTACCGGCGGAGGCGGATCTGGAGGCGGAGGAAG TGGCGGGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAGGTGGCCAC CGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGC TGATCGCCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTGCCTTCGAGGA CCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTACCGAGTTCGCCAAGACC TCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCACAAAGAGCTGC ACACCTGTTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTTCGG GAAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAGGAA CCGAGCGGAACGAGTGTTCCTGCAGCACAAAGGACGACAACC CCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGTG CACCGCCTTCACGACAACGAGGAAAACCTTCCTGAAGAAGTAC CTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCG AGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCGA GTGCTGCCAGCCCGCGATAAAGGCCGCTGCCTGTGCTGCTAAG CTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTCTGCCAAGC AGCGGCTGAAGTGCGCCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGGC CTTAAGGCCCTGGGCCGTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCCC AAGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGACAGACTGA CCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCTGCTGGAATG CGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAAGTACATCTGCGAGAAC CAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAGC CCTGTGAAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGAAAAACGA CGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCTGGCCGCCGACTTCGTG GAATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAGGCCAAGGATG TGTTCCTGGGCATGTTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACCC CGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTAC GAGACAACCTGAAAAAGTGTGCGCCGCTGCGGACCCCCACG AGTGCTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAAGCCTCTGTGTGGA AGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGCTGTTTCGAG CAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGGTCCGAT ACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCCACCTGGTGGGA AGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCTCAAG CACCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTGA GCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAAGACCC CGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGTG AACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACAT ACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCACGC CGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAAA CAGACCGCACTGGTGAACCTGGTGAACACAAGCCCAAGGCCA CCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCTT TGTGAAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTTC GCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTCTCAGGCCGCC TGGACTGGTGGATGGCGCCTCCTCTCCCGTGAACGTGTCCAG CCCTTCCGTGCAGGACATCCTGAAGATCGCCGCTTCAACATC CAGACCTTCGGCCGACCAAGATGTCCAACGCTACCTTGGTGT CCTACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGT GCAGGAAGTGCGGGACTCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTG CTGGACAACCTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACG TGGTGTCTGAGCCCTGGGCCGGAAGTCTACAAGAAAGATA CCTGTTCGTGTACCGGCCGACAGGTGTCCGCGGTGGACTCC TACTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCT TCAACCGCAGCCCTTCATCGTGCAGTCTTCAGCCGGTTCAC CGAAGTGCAGGTTTGCCATCGTGCCCTGCACGCTGTCTCCA GCGACGCCGTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACC TGGATGTGCAGGAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGAT GGGCGACTTCAACGCCGGCTGTCTCCTACGTGCGGCCCTCCAG TGTTCCTCCATCCGGCTGTGGACAGCCCCACCTTCCAGTGGC TGATCCCCGACTCCGCCGATACCACGCCAAGCCACCCACTG TGCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGGGGG GCTGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCATTTTCAAGCCG CCTACGGCCTTCCGACCAGTGGCCAGGCCATCTCCGACCA CTACCCCGTGAAGTGTGCTGAAGTACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
131	Ácido nucleico de RSLV-330	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGCCTGAAGATCGCCGCCTTCAACATCCA GACCTTCGGCCGGACCAAGATGTCCAGCGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AAGAAGTGCGGGACTCCACCTGACCCTGCGGCGTGGGCAAGCTGCT GGACACCTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGCTG GTGTCTGAGCCCCGGGCGGAAGTCTACAAAGAAAGATACC TGTTTCGTGTACCGCCCGACCAGGTGTCCGCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAGCGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGCGGTTCCTCAGCCGGTTCACCG AAGTGCAGGATTCGCCATCGTGCCTTCATGCTGTCTCCAGG CGACGCGGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTACCTG GACGTGCAAGAAAAGTGGGGCCTGGAAGATGTGATGCTGATGG GCGACTTCAACGCGCGGTGCTCCTACGTCGCGCCCTCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCAAGCCACCCGCTCGG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGAGGCGC CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAAATTTTCAAGCCGCC TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCT ACCCGTGGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGGCGGATCTGGCGG AGGGGGAAGTGGCGGCGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAG GTGGCCACCCTTCAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGG CCCTGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGGCC CTTCGAGGACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTACCGAGTTT GCCAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAGACA AGTCCCTGCACACCCTGTTCGGCGACAGCTGTGCACCGTGGC CACCTGCGGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGTGCGCC AAGCAAGAACCAGCGAGCGGAACGAGTGTCTTCGAGCAACAAGG ACGACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGA CGTGTGTGCACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCCTG AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGC CTTACCGAGTGTGCTGCCAGGCCGCGGATAAGGCCGCTCCCTG CTGCCAAGCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCTCCT CTGCCAAGCAGCGGCTGAAAGTGCCTCCTTCGAGAAGTTCGG CGAGCGGGCCTTTAAGCCCTGGGCCGTTGGCCCGGCTGTCCAG AGATTCCTTAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGA CAGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACAGGCGACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACTGGCCAAGTACATC TCGGAGAACCAGGACTCCATCTCCTCAAGCTGAAAGAGTGTCT CGGAGAAGCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGTGGGT GGAAAACGACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCC GACTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGG CCAAGGATGTGTTCCGGGATGTTCCGTACGAGTACGCTCG CCGGCACCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCC AAGACCTACGAGACAACCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCGG ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAAGCC TCTGGTGAAGAACCCAGAACCCTGATCAAGCAGAAGTTCGGAG CTGTTTCGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAAACGCCCTGC TGGTCCGATACACCAAGAAAGTGCCTCAGGTGTCCACCCCTAC CCTGGTGAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACCTGAGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGACCGA AAAGACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAG TCCCTGGTGAACAGACGCGCCCTGCTTCCGCCCTGGAAGTGG ACGAGACATACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCAC CTTCCACGCCGACATGTCACCCCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCGAG ATCAAGAAACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGC CCAAGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCTTTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAG ACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTCTC AGGCTGCTCTGGCCCTG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
132	Ácido nucleico de RSLV-331	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTTCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGACACCACCGGCAAAGAGTCCCAGGGCCAAAGAAGTCCCA GCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGTCTCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGG GCCGGTGCAGCCCGTGAACACCTTCGTGACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTCACATGCAAG AACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTCGACGGCTCCG TGGAAAGATTCTACCGGCGGAGGGCGATCTGGCGGCGGGAAG TGGCGGGGAGGCTCTGATGCCCAAGTCTGAGGTGGCCAC CGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGC TGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTTCGAGGA CCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGACC TGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCACAAAGAGCCTGC ACACCTGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTGCCG GAAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAAGAA CCCGAGCGGAACGAGTGTCTCCGACGACAAGGACGACAACC CCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGTG CACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTGAAGAAATAC CTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCG AGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTACCCGA GTGCTGCCAGCGCCGATAAAGGCCGCTGCTGCTGCTGCTAAG CTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCCTCTCTGCCAAGC AGCGGCTGAAGTGCGCCCTCCCTGCAGAAAGTTCGGCGAGCGGG CTTAAGGCCTGGGCCGTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCTCC AAGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGCACAGACCTGA CCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGCACGGCGACCTGTGGAAATG CGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAAC CAGGACTCCATCTCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAGC CCTGCTGGAAAAGTCCCCTGTATCGCCGAGGTGGAAAACGA CGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCCGACTTCGTG GAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGGCCAAGGATG TGTTCCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACCC CGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTAC GAGACAACCCTGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCCACG AGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTCAAGCCTCTGGTGGGA AGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAGAGCTGTTGAG CAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGGTCCGAT ACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAACCTGGTGGGA AGTGTCCCGAACTGGGCAAGTGGGCTCCAAGTGTGCTGCAAG CACCCTGAGGGCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTGA GCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCCC CGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGTG AACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACAT ACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCCACGC CGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAAA CAGACCGCAC TGGTGAAC TGGTGAACACAAGCCCAAGGCCCA CCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCCTTT TGTGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAGAGACATGCTTC GCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCTGCTC TGGCCTGGGAGGCGGAGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGGAGG GGGCGGATCTCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCAGACCTTC GGCCGGACCAAGATGTCCAGCGCTACCTGGTGTCTACATCG TGAGATCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGCAGAAGT GCGGGACTCCCACTGACCGCCGTGGGCAAGCTGTGGACAAC CTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGTGGTGTCTG AGCCCTTGGGCGGAAGTCTTACAAAGAAAAGATACCTGTTCGT GTACGGCCCCGACAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTACTACTAC GACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAGCGACACCTTCAACCGCG AGCCCTTCAATCGTGCAGTCTTCAGCCGTTTACCGAAGTGGC CGAGTTTGCCATCGTGCCCTGCACGCTGCTCCAGGCGACGCC GTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGATGTGC AAGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGGCGACTT CAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTCTCC ATCCGGCTGTGGACAGCCCACTTCCAGTGGCTGATCCCCG ACTCCGCCGATACCACCGCAAGCCCAACCCACTGTGCCTACGA CAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGGGGGCGTGTGGTG CCTGACTCCGCCCTGCCATCAATTTTCAAGCCGCTACGGCC GTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACTACCCCGT GGAAGTGTGCTGAAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
133	Ácido nucleico de RSLV-332	ATGGAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGCCTGAAGATCGCCGCCTTCAACATCCA GACCTTCGGCCGGACCAAGATGTCAGCGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGACAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AAGAAGTGGGGACTCCACCTGACCGCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACCTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGTG GTGCTGAGCCCTGGGCCGGAAGTCTACAAAGAAAGATACC TGTTCGTGTACCGGCCGACCAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAGCGACACCTC AACCGCGAGCCCTTCAATCGTGCGGTTCCTCAGCCGGTTCACCG AAGTGGCGAGTTCGCCATCGTGCCCTGCATGCTGCTCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGACCTG GACGTGCAAGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCAAGCCACCCACTGCG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGAGCCG CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGCC TACGGCCTGTCCGACAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACT ACCCGTGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGCGGATCTGGCCG AGGGGAAGTGGCGCGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAG GTGGCCACCGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGG CCTGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCC CTTCGAGGACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTT GCCAAGACTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAC AGTCCCTGCACACCCTGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGC CACCTGCGGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCC AAGCAAGAACCCGAGCGGAACGAGTGTCTCCTGCAGCACAAG ACGACAACCCCAACCTGCCCGCGCTGGTCCGACCCGAGGTGGA CGTGTGTGACCCGCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCCG AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCAAGCGGTACAAGGCCGC CTTACCGAGTGTGCGAGCCGCGGATAAGGCCGCTGCTGCTG CTGCCATAAGCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCCTC CTGCCAAGCAGCGGTGAAGTGCCTCCTGCAGAAGTTCGG CGAGCGGCCTTTAAGGCCTGGGCCGTGGCCCGGTGTCCCG AGATTCCCTAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTTCAAGCTGGTGA CAGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGACGGCGACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAGTACATC TGCAGAAACAGGACTCCATCTCCTCAAGCTGAAAGAGTGTCT GCGAGAAGCCCTGTGGAAGTCCCCTGTATCGCTGAGGT GGAAAACGACGAGATGCCCGCGACCTGCTTCCCTGGCCGCG GACTTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAACTACGCCGAG CCAAGGATGTGTCCGGCATGTTCCTGTACGAGTACGCTCG GCGGCACCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCC AAGACTACGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCC ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTGACGAGTTCAAGCC TCTGGTGGAAAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGCAG CTGTTGAGCAGCTGGCGGAGTACAAGTCCAGAACGCCCTGC TGGTCCGATACCAAGAAAGTGCCCCAGGTGTCCACCCCTAC CCTGGTGGAAAGTGTCCGGAACCTGGGCAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACCTGAGCGTGGTGTGTAACCAGCTGTGCGTGTGCACGA AAAGACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCCGAG TCCCTGGTGAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGG ACGAGACATACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTAC CTTCACGCCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAG ATCAAGAAACAGACCCGACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGC CCAAGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCTTTGTGGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAG ACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCCTCTC AGGTGCTCTGGGCCCTGGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGG CTCTGGCGGGGAGGCGAAAGAGTCCCGGGCCAAGAAGTTC CAGCGGACGACATGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCCTC CCACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCA GGGCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTG GTGATGTGACAGACGTGTGTTTTCAAGAAAAGTACATGCA AGAACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGAGCAACTCTCCATGCA CATCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAAC TGTGCTACCGGACCTCCCTAAGAACGGCACATCATCGTGG CCTGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCATTCGACGCCTC CGTGAAGATTCACC

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
134	Ácido nucleico de RSLV-319	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGTGTTCCCTGCTGCTGTGTTGGC TGCCCGACACCACCGCAAAGAGTCCCGGGCCAAGAAGTTCCA GCGGCAGCAGATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGTCTCTCC ACCTACTGCAACCAGATGATGCGGCGGAGATCCATGACCCAGG GCCGGTGC AAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGT GGACGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTGACCTGCAAG AACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCTCTCTCCATGCACA TCACCGACTGCCGGCTGACCTCCGGCTCCAGATACCCCAACTG CGCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCC TGCAGGGCTCCCTTACGTGCCGCTGCACTTCGACGCCTCCG TGGAAGATTCTACCGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAGGAAG TGCGGGGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAGGTGGCCAC CGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTGC TGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTTCGAGGA CCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTCGCAAGACC TCGGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAACTGCGACAAGAGCCCTG ACACCTGTTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTTCGG GAAAACTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAAGAA CCGAGCGGAACGAGTGTCTCTGCAGCACAAGGACGACAACC CCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGTG CACCGCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCCGAAAGTAC CTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCG AGCTGTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCGA GTGCTGCCAGGCCCGGATAAGGCCGCTGCTGCTGCCAAG CTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCTCTCTGCAAGC AGCGGCTGAAGTGCAGCTCCCTGCAGAAAGTTCGGCGAGCGGGC CTTTAAGGCC TGGCCGTTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCCC AAGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGACAGACCTGA CCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCTGTGGAATG CGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAAC CAGGACTCCATCTCTCCAAGCTGAAAAGAGTGTGCGAGAAGC CCTGTCTGAAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGAAAAACGA CGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCGGACTTCGTG GAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGCCAAGGATG TGTTCCTGGGCATGTTCCCTGTACGAGTACGCTCGGCGCACCC CGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAGACCTAC GAGACAACCCCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCGCACCCCCACG AGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAGCCCTCTGGTGGGA AGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCGAGCTGTTCCGAG CAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGTGGTCCGAT ACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAACCTGGTGGGA AGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAAG CACCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTGA GCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGTG AACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACAT ACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCCACGC CGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAAA CAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGCCCAAGGCCA CCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCCTT TGTGAAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAAGAGACATGCTTC GCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCTGTCT TGGCCTGGGAGGCGGAGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGGAGG GGGCGGATCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCAGACCTTC GCGGAGACAAAGATGTCCACGCTACCCTGGTGTCTACATCG TGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGAAGAAGT GCGGGACTCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCTGGACAAC CTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGTTGGTGTCTG AGCCCTGGGCCGGAACCTTACAAAGAAAGATACTGTTCGT GTACCGGCCGACCAAGGTGTCCGCCGCTGGACTCCTACTACTAC GACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTCAACCGCG AGCCCTTTCATCGTGGGTTCTTCAGCCGGTTCACCGAAGTGGC CGAGTTTGCCATCGTGCCCTGCACGCTGTCCAGGCGACGCG GTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGATGTGC AAGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGGCGACTT CAACGCCGGCTGTCTCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTCTCC ATCCGGCTGTGGACAGCCCCACCTTCCAGTGGCTGATCCCCG ACTCCGCCGATACCACCGCCACCCCTACCCACTGTGCTACGA CAGAATCGTGGTGGCCGGATGCTGTGAGGGGGCGCTGTGGTG CCTGACTCCGCCCTGCCATCAATTTCAAGCCGCTACGGCC TGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCTACCCCGT GGAAGTGTGATGAAGTACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
135	Ácido nucleico de RSLV-320	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGGCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCA GACCTTCGGCGAGACAAAGATGTCCAACGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AAGAAGTGCGGGACTCCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACCTGAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGTG GTGTCTGAGCCCCTGGGCCGGAACCTCTACAAGAAAAGATACC TGTTCGTGTACCGGCCCGACACAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGCAGTTCCTCAGCCGGTTCACCG AAGTGCAGCGAGTTCGCCATCGTGCCTGTCATGCTGCTCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTG GACGTGCAAGAAAAGTGGGGCCTGGAAAGATGTGATGCTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGTCTTACGTGCGGCCCTCCACGTG GTCCCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCACCCCTACCCACTGCG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGTGCTGAGAGGGCG CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGGCC TACGGCCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCT ACCCCGTGGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGGCGGATCTGGCGG AGGGGAAGTGGCGCGGAGGCTCTGATGCCACAAGTCTGAG GTGGCCACCGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGG CCTGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCGAGTGGCC CTTGAGGACCACGTGAAGTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTT GCCAAGACCTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGGGACA AGTCCCTGCACACCCTGTTCGGCGACAAGCTGTGACCCGTGGC CACCCTGCGGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCC AAGCAAGAACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCTGCAGCACAAGG ACGACAACCCCAACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGA CGTGTGTGACCCGCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCTGT AAGAAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCT ACGCCCCGAGCTGCTGTTCCTCGCAAGCGGTACAAGGCCGC CTTACCGAGTGTGCCAGGCCCGGATAAGGCCGCTGCTG CTGCCTAAGCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCCTCT CTGCCAAGCAGCGGCTGAAGTGCCTTCCCTGCAGAAGTTCGG CGAGCGGGCTTTAAGGCCCTGGGCCGTGGCTCGGCTGTCCAG AGATTCCTAAGGCCGAGTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGA CAGACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGACGGCGACCT GCTGGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAGTACATC TGGGAGAACCAGGACTCCATCTCTTCCAAGCTGAAAGAGTGT GCGAGAAGCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGCTGAGGT GGAAAACGACGAGATGCCCGCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCG GACTTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACCGCGAGG CCAAGGATGTGTCTTGGGCAATGTCTGTACGAGTACGCTCG GCGCACCCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGTGCTGAGACTGGCC AAGACCTACGAGACAACCTTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCGC ACCCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAAGCC TCTGGTGGAAAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTGGGAG CTGTTCGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAAACGCCCTGC TGGTCCGATACACCAAGAAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAAC CCTGGTGGAAAGTGTCCCGAATCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAG TGCTGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGG ACTACCTGAGCGTGGTGTGCTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGA AAAGACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAG TCCTGGTGAACAGACGGCCCTGTCTTCCGCCCTGGAAGTGG ACGAGACATACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTAC CTCCACGCCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAAGAGCGGAG ATCAAGAAACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGC CCAAGGCCACCAAGAAGCAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTT CGCCGCTTTGTGGAAAAGTGTGGCAAGGCCGACGACAAAGAG ACATGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAAAAGTGGTGGCCGCTCTC AGGCTGCTTGGCCCTGGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGG CTCTGGCGGGGAGGCGAGCAAGAGTCCCGGGCAAGAAGTTC CAGCGGACGACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCTCT CCACCTACTGCAACCAGATGATGCGGGGAGATCCATGACCCA GGCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTG GTGGATGTGCAGAAGCTGTGTTCCTAAGAAAAGTCAACATGCA AGAACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCTAGCTCCTCCATGCA CATCACCGACTGCCGGCTGACCTCCGGCTCCAGATACCCCAAC TGTGCTACCGGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGG CCTGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTTCGACGCCTC CGTGGAAAGATTCCACCTGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
136	Ácido nucleico de RSLV-323	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTGCTGCTGCTGTGGC TGCCCGACACCACCGCCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCA GACCTTCGGCGAGACAAAGATGTCCAACGCCACCCTGGTGTCC TACATCGTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGC AAGAAGTGCGGGACTCCACCTGACCGCCGTGGGCAAGCTGCT GGACAACCTGAACCAGGACGCCCGACACCTACCCTACGCTG GTGTCTGAGCCCTGGGCCGGAACCTCTACAAAGAAAGATAACC TGTTCTGTACCCGCCCCGACCAGGTGTCCGCGTGGACTCTTA CTACTACGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTC AACCGCGAGCCCTTCATCGTGCAGTCTTTCAGCCGGTTACCG AAGTGCAGGATTCGCCATCGTGCCTGTCATGCTGCCAGG CGACGCCGTGGCCGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACTG GACGTGCAAGAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGG GCGACTTCAACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGCCCTCCAGTG GTCTCCATCCGGCTGTGGACCTCCCCACCTTCCAGTGGCTG ATCCCGACTCCGCCGATACCACCGCCACCCTACCCTACGCG CCTACGACAGAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGCTGAGAGGCGC CGTGGTGCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGCC TACGGCTGTCCGACCAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCCT ACCCGTGGAAGTGTGCTGAAGGGGGGAGGCGGATCTGGCGG AGGGGAAGTGGCGGCGGAGGCTCCAAAGAGTCCCGGGCCAA AAGTTCAGCGGCAGCACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCA GCTCTCCACCTACTGCAACCAGATGATCGCGCGGAGAACAT GACCCAGGGCCGGTGAAGCCCGTGAACACCTTCGTGCACGAG CCCCTGGTGGATGTGCAGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAAGTCA CATGCAAGAACGGCCAGGGCAACTGCTACAAGTCCAACCTCCT CATGCACATCACCGACTGCCGGCTGACCAACGGCTCCAGATAC CCCACTGTGCCCTACCGGACCTCCCTAAAGAACGGCACATCA TCGTGGCCTGCGAGGGCTCCCTTACGTGCCCGTGCACCTCGA CGCTCCGTGGAAGATTCCACCGACGCCCAAGTCCGAGGTG GCCACCGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCC TGGTGTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTGCCCTT CGAGGACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTTGGC AAGACTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAACTGCGACAA GCCTGCACACCCGTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCAC CCTCGCGGAAACCTACGCGGAGATGGCCGACTGCTGCGCCA CAAGAACCCGAGCGGAACGAGTGTCTCTGCAGCACAAAGGAC ACAACCCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGT GATGTGCACCGCCTTCCACGACAACGAGGAAACCTTCCTGAAG AAGTACCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTAC CCCCCGAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTT CACCGAGTGTGCCAGGCCGCGGATAAAGCCGCTGCTGCTG CCTAAGCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCTCCTCTG CCAAGCAGCGGCTGAAGTGCCTCCCTGCGAAGTTCGGCGA GCGGCCCTTTAAGGCTGGGCCGTGGCCCGGCTGTCCAGAGA TTCCCTAAGGCCGAGTTTCGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGCAG ACCTGACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGCGGACCTGCT GGAATGCGCCGACGACAGGGCCGACCTGGCCAAAGTACATCTGC GAGAACCCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGGCG AGAAGCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGCTGAGGTGGA AAACGACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCGAC TTCGTGGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAATACGCCGAGGCCA AGGATGTGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCG GCACCCGACTACTCCGTGGTGTGCTGCTGAGACTGGCCAAG ACCTACGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCGGACC CCCACGAGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAAGCCTCT GGTGGAAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAAGTCCGAGCTG TTCGAGCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGCTGG TCCGATACACCAAGAAAGTGCCTCCAGGTGTCCACCCCAACCT GGTGGAAGTGTCCCGAACCTGGGCAAGTGGGCTCCAAGTGC TGCAAGCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGACT ACCTGAGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAA GACCCCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCC CTGGTGAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGAC AGACATACGTGCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTACCTT CCAGCCGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATC AAGAAACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGCCCA AGGCCACCAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGC CGCTTTGTGGAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACA TGCTTCGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTCTCAGG CGCCCTGGGCTGTGACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
137	Ácido nucleico de RSLV-324	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCTGCTGCTGCTGTTGGC TGCCCGATACCACCGGCGACGCCACAGTCCGAGGTGGCCCA CAGATTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCAGTACCTGCAGCAGTCCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAACTGCGACAAGTCCCTG CACACCCTGTTCCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCCTGC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAAGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCTGCAGCACAAGGACGACAAC CCCAACCTGCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGT GCACCCCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCTGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCC GAGTGTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCG AGTGTGCCAGGCCGCGATAAAGGCCGCTGCCTGTGCTTAA GCTGGACGAGCTGAGGGACGAGGGCAAGGCCTCCTTGCCTAAG CAGCGCTGAAGTGCCTCCCTGCAGAAGTTCGCCAAGCGGG CCTTTAAGGCCTGGGCGTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCC CAAGGCCGAGTTTGCCGAGGTGTCCAAGCTGGTGACAGACCTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTACGGCGACCTGTGGAAT GCGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTCGAGAA CCAGGACTCCATCTCCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAG CCCCTGCTGAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGGAAAACG ACGAGATGCCCGCGACCTGCCTTCCCTGGCCGCCGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAATACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGCTGTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCCCTGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAGCCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCGAGCTGTTTGA GCAGCTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGTGGTCCGA TACACCAAGAAAGTGGCCAGGTGTCCACCCCAACCTGGTGG AAGTGTCCCGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCA GCACCCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGCACGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTGACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT GAACAGACGGCCCTGTCTTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCCAAAGAGTTCAACGCCGAGACATTCACCTTCCACG CCGACATCTGCACCCTGTCCGAGAAAGAGCGGCAGATCAAGAA ACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGCCCAAGGCC ACCAAAGAACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCT TTGTGAAAAGTGTGCAAGGCCGACGACAAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCCGCC CTGGGCTGAAAGAGTCCCGGCCAAGAAAGTTCAGCGGCAGC ACATGGACTCCGACTCCAGCCCTCCAGCTCCTCCACTGTG CAACCAGATGATGCGGCGGAGAAACATGACCCAGGGCCGCTGC AAGCCGTGAACACCTTCGTGCACGAGCCCTGGTGGACGTGC AGAACGTGTGTTTTCAAGAAAAGTCAATGCAAGAAGCGCCA GGGCAACTGTACAAGAGCAACTCCTCATGCACATCACCGAC TGCCGCTGACCAACGGCTCCAGATACCCCAACTGCGCTACC GGACCTCCCCAAAGAACGGCACATCATCGTGGCTGCGAGGG CTCCCTTACGTGCCCGTCACTTCGACGCCCTCCGTGGAAGAT TCTACAGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGAGGAAGTGGCGGG GAGGCTCTCTGAAGATCGCCGCTTCAACATCCAGACCTTCGG CGAGACAAAGATGTCCAACGCTACCCTGGTGTCTTACATCGTG CAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGAAGAAGTGC GGGACTCCACCTGACCGCGTGGCAAGCTGCTGGACAACCT GAACCAGGACGCCCCGACACCTACCCTACGTGGTGTCTGAG CCCCTGGGCCGAACTCCTACAAGAAAGATACCTGTTCGTGT ACCGGCCCGACAGGTGTCCGCCGTGGACTCCTACTACTACGA CGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAACGACACCTTCAACCGCGAG CCTTTCATCGTGGGTTCTTACGCCGTTTACCAGAGTGGCGG AGTTTGCCATCGTCCCTGCACGCTGTCCAGGCGACGCCGT GGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGATGTGCAA GAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGGCGACTTCA ACGCCGGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTTCCAT CCGGCTGTGGACAGCCCCACTTCCAGTGGCTGATCCCCGAC TCTGCCGACACCACCGCCACCCTACCCACTGTGCCATACGACA GAATCGTGGTGGCCGGCATGCTGTGAGGGGCGCTGTGGTGCC TGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTTCAAGCCGCTACGGCCTG TCCGACAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACTACCCCGTGG AAGTGTGCTGAAGTACTCGAG

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
138	HSA-enlazador-DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S	METPAQLLFLLLLWLPDITGDAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN PNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDRDEGKASSAK QRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYFYARRHPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECVKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFQQLGEYKFNALLVR YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCCADDKETCFAEEGKLVAAASQA LGLGGGGSGGGGGSGGGGSLKIAAFNIQTFGRKTKMS ^S ATLVSYI VQILSRDYDIALVQEVDRSHLTAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGR ^K SYKERYLFVYRPDQVSAVDSYYYDDGCEPCG ^S DTFN REP ^F IVRFFSRFTEVREFAIVPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDV QEKWGLEDMVMGDFNAGCSYVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIP DSADTTAK ^P THCAYDRIVVAGMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYG LSDQLAQAI SDHYVPEVMLK
139	HSA-enlazador-DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S; sin líder	DAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA DKAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECVKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFQQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL GKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDR VTKCCTESLVNRRPCFSALEVD EYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCFAEEGKLVAAASQAALGLGGGGSGGGGGSGGGGSLK IAAFNIQTFGRKTKMS ^S ATLVSYIVQILSRDYDIALVQEVDRSHL TAVGKLLDNLNQDAPDTYHYVVS EPLGR ^K SYKERYLFVYRPDQ VSAVDSYYYDDGCEPCG ^S DTFNREP ^F IVRFFSRFTEVREFAI VPLHAAPGDAVAEIDALYDVYLDVQEKWGLEDMVMGDFNAGCS YVRPSQWSSIRLWTSPTFQWLIPDSADTTAK ^P THCAYDRIVVA GMLLRGAVVPDSALPFNFQAAYGLSDQLAQAI SDHYVPEVMLK

(continuación)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
140	ácido nucleico de HSA-enlazador-DNasa E13R/N74K/A114F/T205K/N18S/N106S	ATGGAAACCCCTGCCAGCTGCTGTTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTG TGCCCGACACCACCGCGATGCCACAAGTCTGAGGTGGCCCA CCGGTTCAAGGACCTGGGCGAGGAAAACCTCAAGGCCCTGGTG CTGATCGCCTTCGCCCAGTACCTGCAGCAGTGCCTTCGAGG ACCACGTGAAGCTGGTGAACGAAGTGACCGAGTTCGCCAAGAC CTGCGTGGCCGACGAGTCCGCCGAGAAGTGCAGACAAGAGCCTG CACACCTGTTTCGGCGACAAGCTGTGCACCGTGGCCACCTGTC GGGAAACCTACGGCGAGATGGCCGACTGCTGCGCCAAGCAAGA ACCCGAGCGGAACGAGTGTCTTCCTGCAGCACAAGGACGACAAC CCCAACCTGCCCCGGCTGGTCCGACCCGAGGTGGACGTGATGT GCACCGCTTCCACGACAACGAGGAAAACCTTCCTGAAGAAGTA CCTGTACGAGATCGCCAGACGGCACCCCTACTTCTACGCCCCC GAGCTGCTGTTTTTCGCCAAGCGGTACAAGGCCGCTTCACCG AGTGTGCCAGGCCGCCGATAAGGCCGCTGCCTGCTGCCTAA GCTGGACGAGCTGAGGACGAGGGCAAGGCTCCTCGCAAG CAGCGGCTGAAGTGGCCTCCCTGCAGAAGTTCGGCGAGCGGG CCTTTAAGGCCTGGGCGTGGCTCGGCTGTCCAGAGATTCCT CAAGGCCGAGTTTGGCGAGGTGTCCAAGCTGGTGACAGACCTG ACCAAGGTGCACACCGAGTGTGTGCACGGCGACCTGCAAGT GCGCCGACGACAGAGCCGACCTGGCCAAGTACATCTGCGAGAA CCAGGACTCCATCTCTCCAAGCTGAAAGAGTGTGCGAGAAAG CCCCTGCTGGAAAAGTCCCACTGTATCGCCGAGGTGGAAAACG ACGAGATGCCCGCCGACCTGCCTTCCTGGCCGCGACTTCGT GGAATCCAAGGACGTGTGCAAGAAGTACGCCGAGGCCAAGGAT GTGTTCTGGGCATGTTCTGTACGAGTACGCTCGGCGGCACC CCGACTACTCCGTGGTGTGCTGTGCTGAGACTGGCCAAGACCTA CGAGACAACCTGGAAAAGTGTGCGCCGCTGCCGACCCCCAC GAGTGTACGCCAAGGTGTTCGACGAGTTCAGCCTCTGGTGG AAGAACCCAGAACCTGATCAAGCAGAACTGCGAGCTGTTCGA GCAGTGGGCGAGTACAAGTTCAGAACGCCCTGTGTGCCGA TACACCAAGAAAGTGCCCAGGTGTCCACCCACCCTGGTGG AAGTGTCCCGGAACCTGGGCAAAGTGGGCTCCAAGTGTGCAA GCACCTGAGGCCAAGCGGATGCCCTGCGCCGAGGACTACCTG AGCGTGGTGTGAACCAGCTGTGCGTGTGACAGAAAAGACCC CCGTGTCCGACAGAGTACCAAGTGTGTACCGAGTCCCTGGT GAACAGACGGCCCTGCTTCTCCGCCCTGGAAGTGGACGAGACA TACGTGCCAAAGAGTTCACGCGGAGACATTCACCTTCCAGC CCGACATCTGCACCTGTCCGAGAAAAGAGCGGCAGATCAAGAA ACAGACCGCACTGGTGGAACTGGTGAACACAAGCCCAAGGCC ACCAAGAAGACAGCTGAAGGCCGTGATGGACGACTTCGCCGCT TTGTGAAAAGTGTGTCAAGGCCGACGACAAGAGACATGCTT CGCCGAAGAGGGCAAGAACTGGTGGCCGCTTCTCAGGCTGCT CTGGGCTGGGAGGCCGAGGATCTGGGGGAGGCCGAAGCGGAG GGGGCGGATCTCTGAAGATCGCCGCCCTCAACATCCAGACCTT CGGCCGACCAAGATGTCCAGCGCTACCCTGGTGTCTACATC GTGCAGATCCTGTCCAGATACGATATCGCCCTGGTGCAGAAAG TGCCGGACTCCCACCTGACCGCCGTGGCAAGCTGCTGGACAA CCTGAACCAGGACGCCCCCGACACCTACCACTACGTTGGTGTCT GAGCCCTGGGCCGGAAGTCTTACAAAGAAAGATACTGTTCG TGTACCGGCCCGACCAAGTGTCCGCCGTGGACTCCTACTACTA CGACGACGGCTGCGAGCCCTGCGGCAGCGACACCTTCAACCGC GAGCCCTTCATCGTGCCTTCTTCAGCCGTTACCCGAAGTGC GCGAGTTTGCATCGTGCCCTGCACGCTGCTCCAGGCGACGC CGTGGCTGAGATCGACGCCCTGTACGACGTGTACCTGGATGTG CAAGAAAAGTGGGGCTGGAAGATGTGATGCTGATGGGCGACT TCAACGCCGCTGCTCCTACGTGCGGCCCTCCAGTGGTCTC CATCCGGCTGTGGACCAGCCACCTTCCAGTGGCTGATCCCC GACTCCGCCGATACCACCGCCAAGCCACCCACTGTGCCTACG ACAGAAATCGTGGTGGCCGGCATGTGCTGAGGGGCGCTGTGGT GCCTGACTCCGCCCTGCCATTCAATTTCAAGCCGCTACGGC CTGTCCGACAGCTGGCCAGGCCATCTCCGACCACTACCCCG TGAAGTGTGCTGAAG

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que comprende un primer dominio nucleasa, un segundo dominio nucleasa y una albúmina, o una variante de albúmina que tiene más del 80 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la albúmina sérica humana expuesta en la SEQ ID NO: 1, o un fragmento de albúmina que comprende al menos el dominio III de albúmina o dominio III de albúmina y un dominio adicional seleccionado del grupo que consiste en el dominio I, el dominio II y el dominio III, en donde el primer y/o segundo dominio nucleasa está operativamente unido a la albúmina, o variante o fragmento de la misma, opcionalmente a través de un enlazador, en donde el primer dominio nucleasa es una RNasa y el segundo dominio nucleasa es una DNasa1 humana que comprende las sustituciones de aminoácidos E13R, N74K, A114F y T205K, refiriéndose la numeración de aminoácidos a la SEQ ID NO: 66.
2. El polipéptido de la reivindicación 1, en donde el segundo dominio nucleasa está operativamente unido al extremo N de la albúmina, o de una variante de la misma, y el primer dominio nucleasa está operativamente unido al extremo C de la albúmina, o de una variante de la misma, preferentemente en donde los dominios nucleasa segundo y primero están operativamente unidos al extremo N y C, respectivamente, de la albúmina, o variante de la misma, a través de un enlazador.
3. El polipéptido de la reivindicación 1, en donde el primer dominio nucleasa está operativamente unido al extremo N de la albúmina, o de una variante de la misma, y el segundo dominio nucleasa está operativamente unido al extremo C de la albúmina, o de una variante o fragmento de la misma, preferentemente en donde los dominios nucleasa primero y segundo están operativamente unidos al extremo N y C, respectivamente, de la albúmina, o variante o fragmento de la misma, a través de un enlazador.
4. El polipéptido de la reivindicación 1, en donde el primer dominio nucleasa está operativamente unido al segundo dominio nucleasa a través de un enlazador, y el segundo dominio nucleasa está operativamente unido a la albúmina, o variante o fragmento de la misma, preferentemente en donde el segundo dominio nucleasa está operativamente unido al extremo N de la albúmina, o variante de la misma, o preferentemente en donde el segundo dominio nucleasa está operativamente unido al extremo C de la albúmina, o variante o fragmento de la misma.
5. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la RNasa es una RNasa humana de tipo silvestre, tal como una RNasa1 pancreática humana expuesta como la SEQ ID NO: 75, o una RNasa mutante, tal como una RNasa 1 aglicosilada o subglicosilada, tal como la RNasa1 N34S/N76S/N88S humana expuesta como la SEQ ID NO: 84.
6. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que degrada ARN y/o ADN circulante y ARN y/o ADN en complejos inmunitarios, o inhibe la producción de interferón-a, o ambos.
7. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dominio enlazador es un enlazador polipeptídico, tal como un enlazador gly-ser, o en donde el dominio enlazador es un enlazador NLG.
8. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la albúmina, o variante o fragmento de la misma, aumenta la semivida en suero.
9. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la albúmina, o variante o fragmento de la misma, deriva de albúmina sérica humana, albúmina sérica de primates, albúmina sérica de roedores, albúmina sérica bovina, albúmina sérica equina, albúmina sérica de cabra, albúmina sérica de oveja, albúmina sérica de perro, albúmina sérica de cobaya, albúmina sérica de pollo y albúmina sérica de cerdo, preferentemente en donde la albúmina, o variante o fragmento de la misma, deriva de albúmina sérica humana, preferentemente en donde la albúmina es más de un 85 % idéntica a la secuencia de aminoácidos correspondiente expuesta en la SEQ ID NO: 1, preferentemente en donde la albúmina, o variante o fragmento de la misma, es más de un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos correspondiente expuesta en la SEQ ID NO: 1, preferentemente en donde la albúmina, o variante o fragmento de la misma, es más del 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos correspondiente expuesta en la SEQ ID NO: 1.
10. El polipéptido de la reivindicación 9, en donde la variante o fragmento de la albúmina sérica humana se une a FcRn con una afinidad más alta que la de una albúmina sérica humana de tipo silvestre o fragmento de la misma correspondiente.
11. El polipéptido de la reivindicación 1 que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 112-114 o 120-122, o una molécula híbrida de nucleasa-albúmina que comprende la secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 112-114 o 120-122.
12. Una composición que comprende el polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un transportador.
13. Una molécula de ácido nucleico que codifica el polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

14. Un vector de expresión recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 13.
- 5 15. Una célula hospedadora transformada con el vector de expresión recombinante de acuerdo con la reivindicación 14.
- 10 16. Un método para producir el polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende: proporcionar una célula hospedadora que comprende una secuencia del ácido nucleico que codifica el polipéptido; y mantener la célula hospedadora en condiciones en las que se expresa la molécula híbrida de nucleasa-albúmina.
17. Un polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una composición de la reivindicación 12 para su uso en el tratamiento o prevención de lupus eritematoso sistémico (LES).
- 15 18. Un polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una composición de la reivindicación 12 para su uso en el tratamiento o prevención del síndrome de Sjogren.

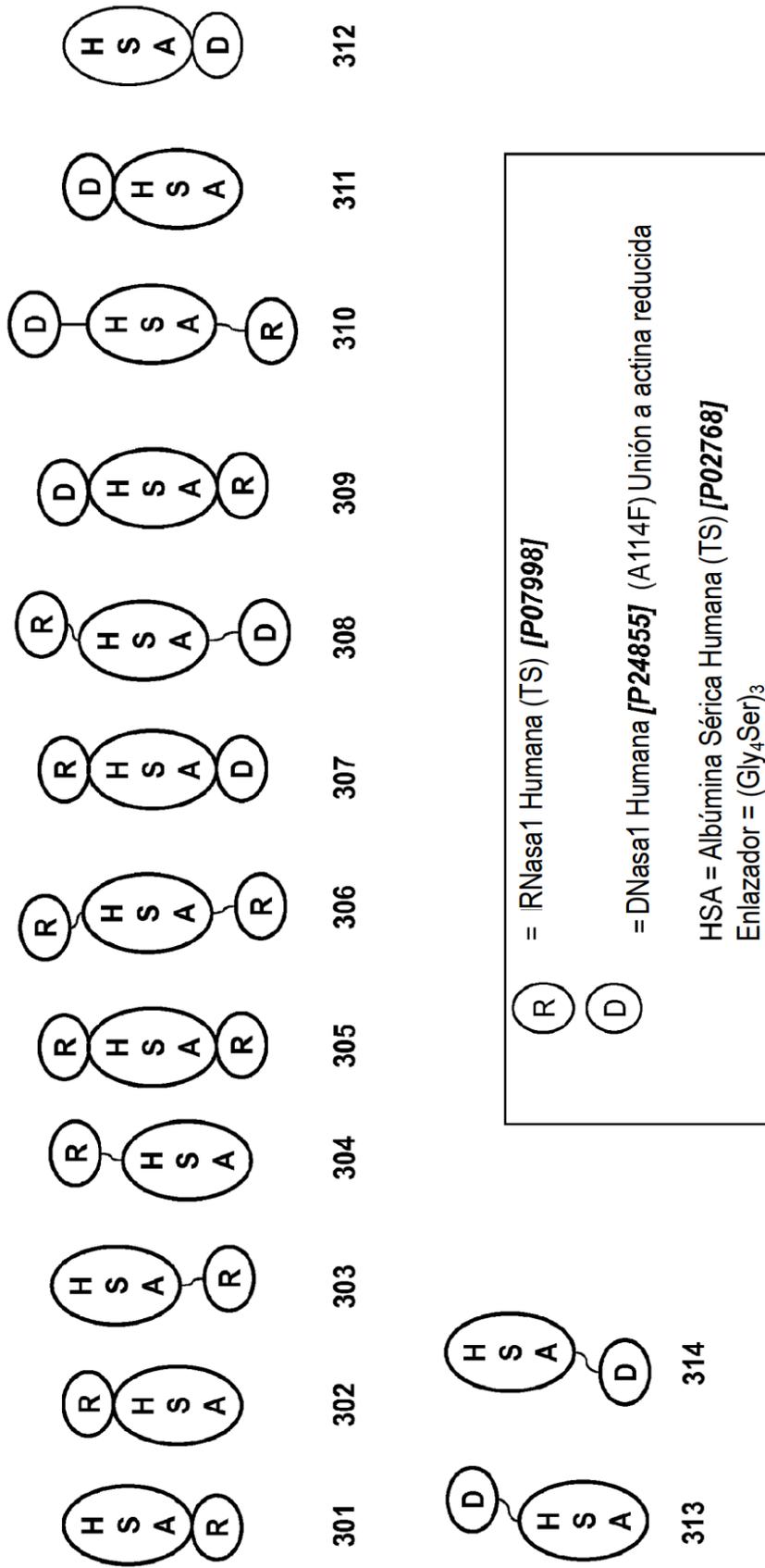


Fig. 1A

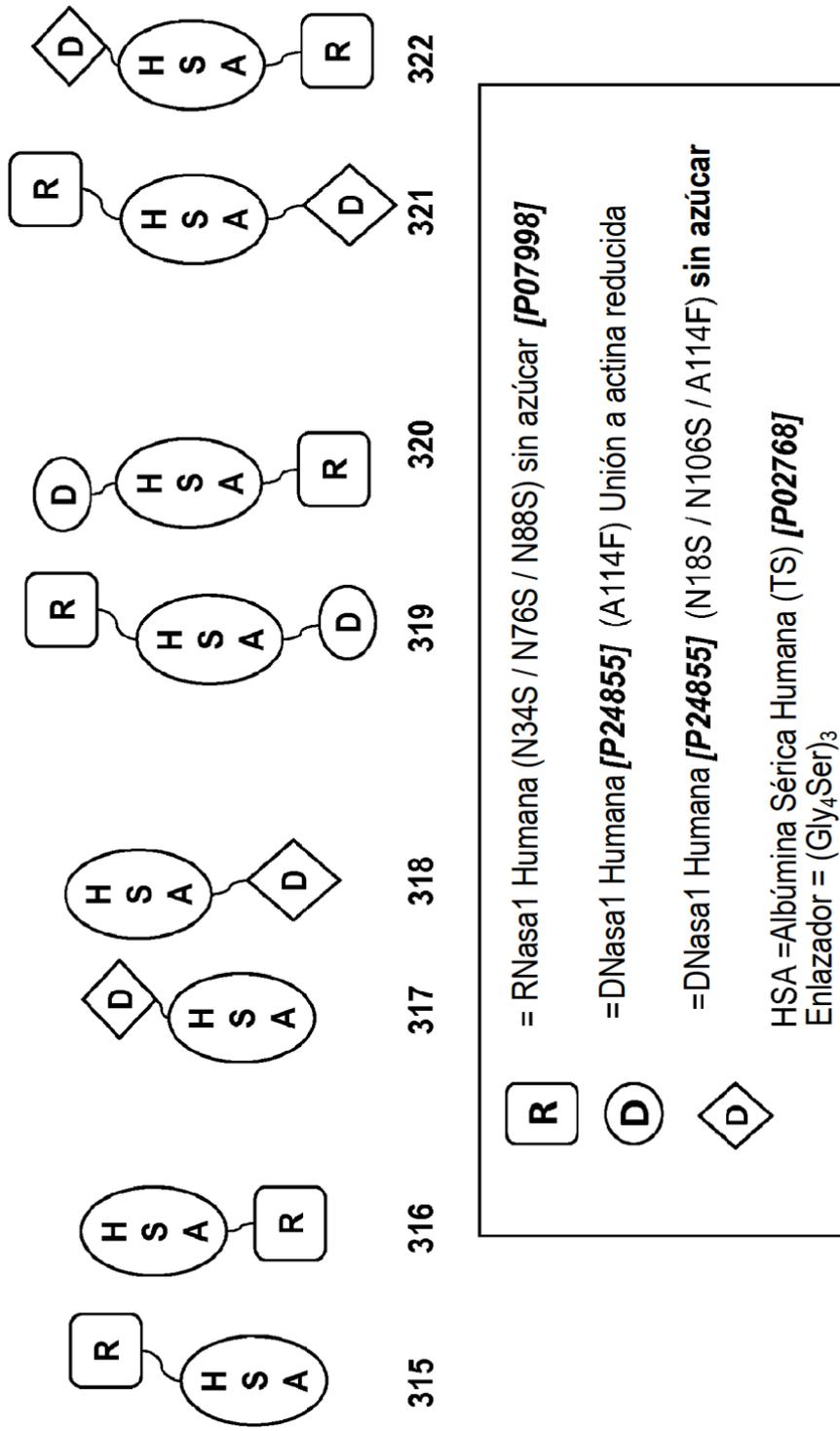


Fig. 1B

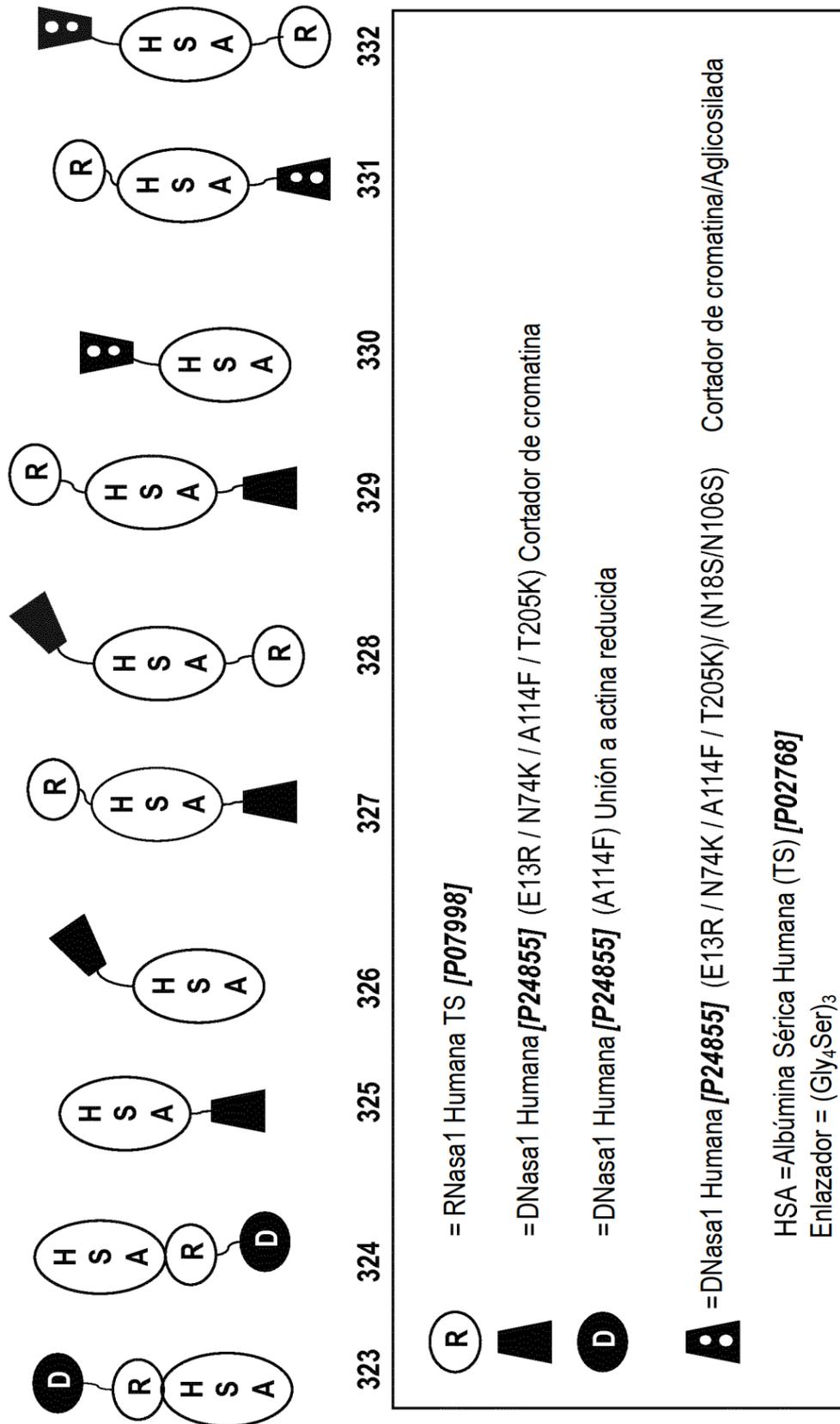


Fig. 1C

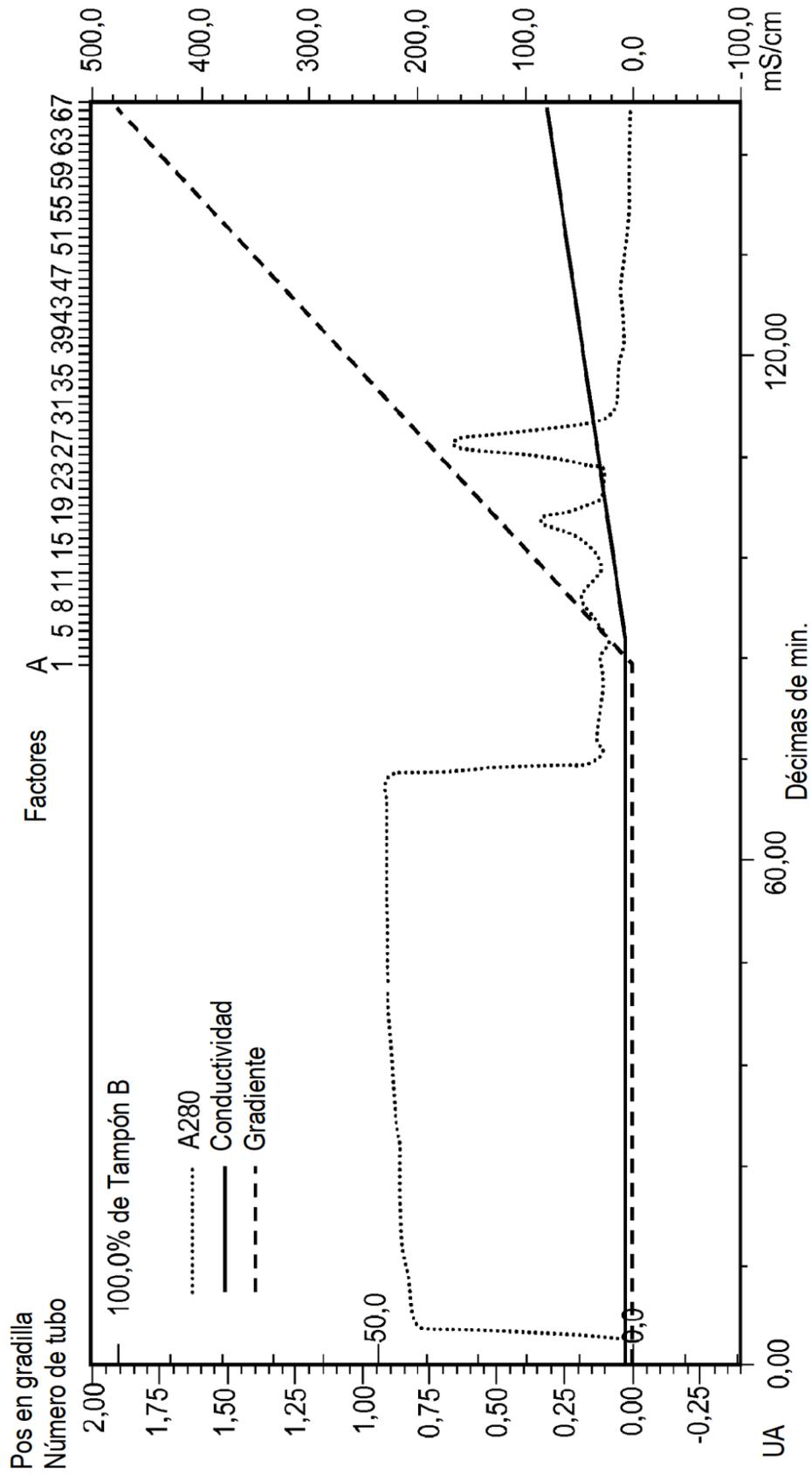


Fig. 2

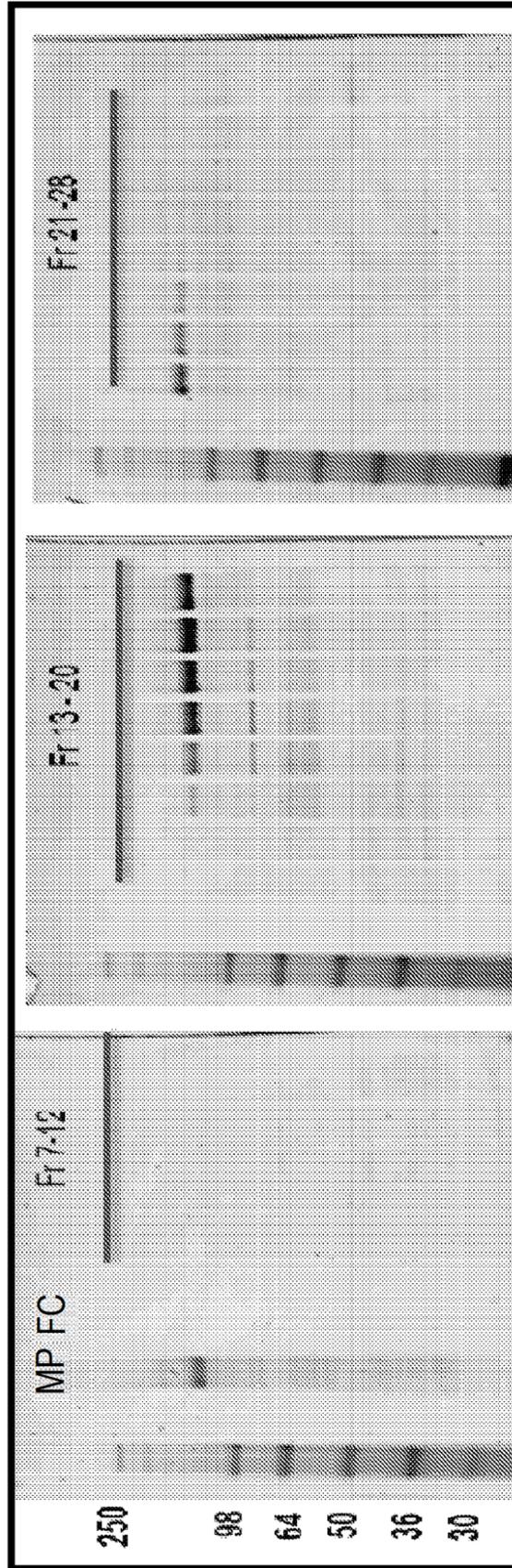


Fig. 3

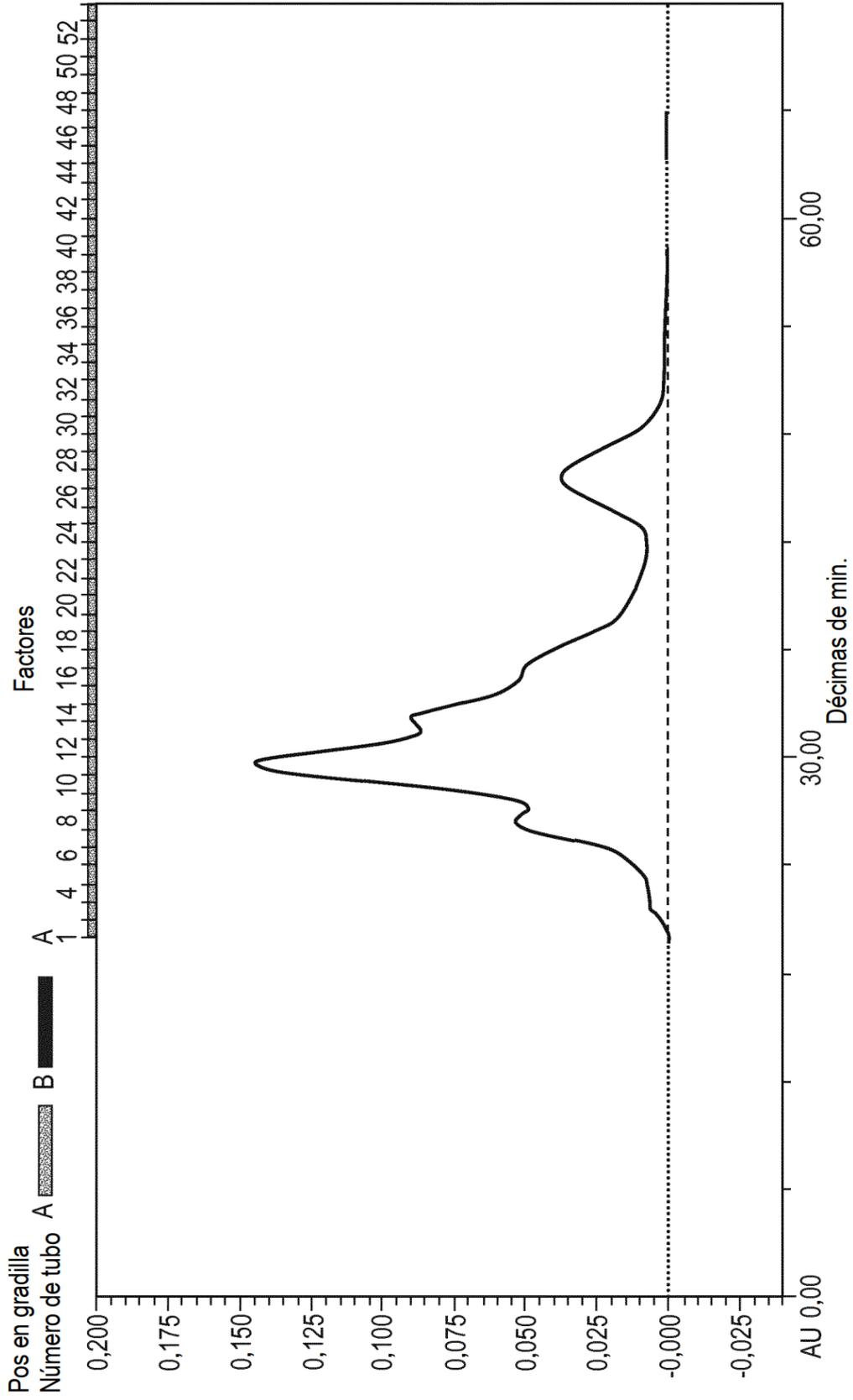


Fig. 4A

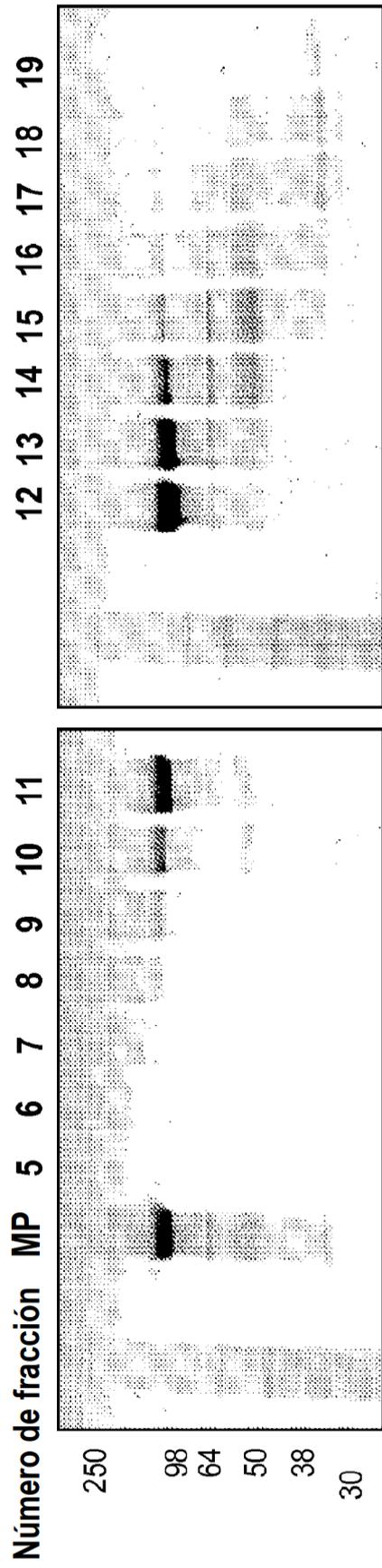


Fig. 4B

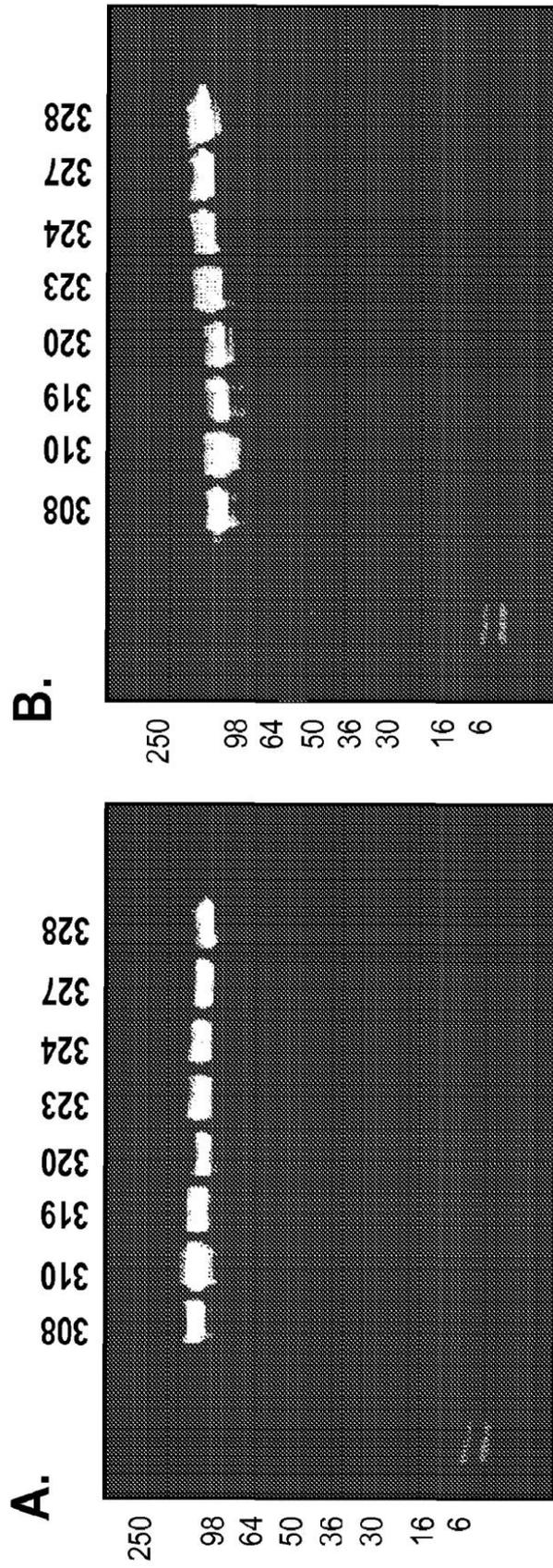


Fig. 5

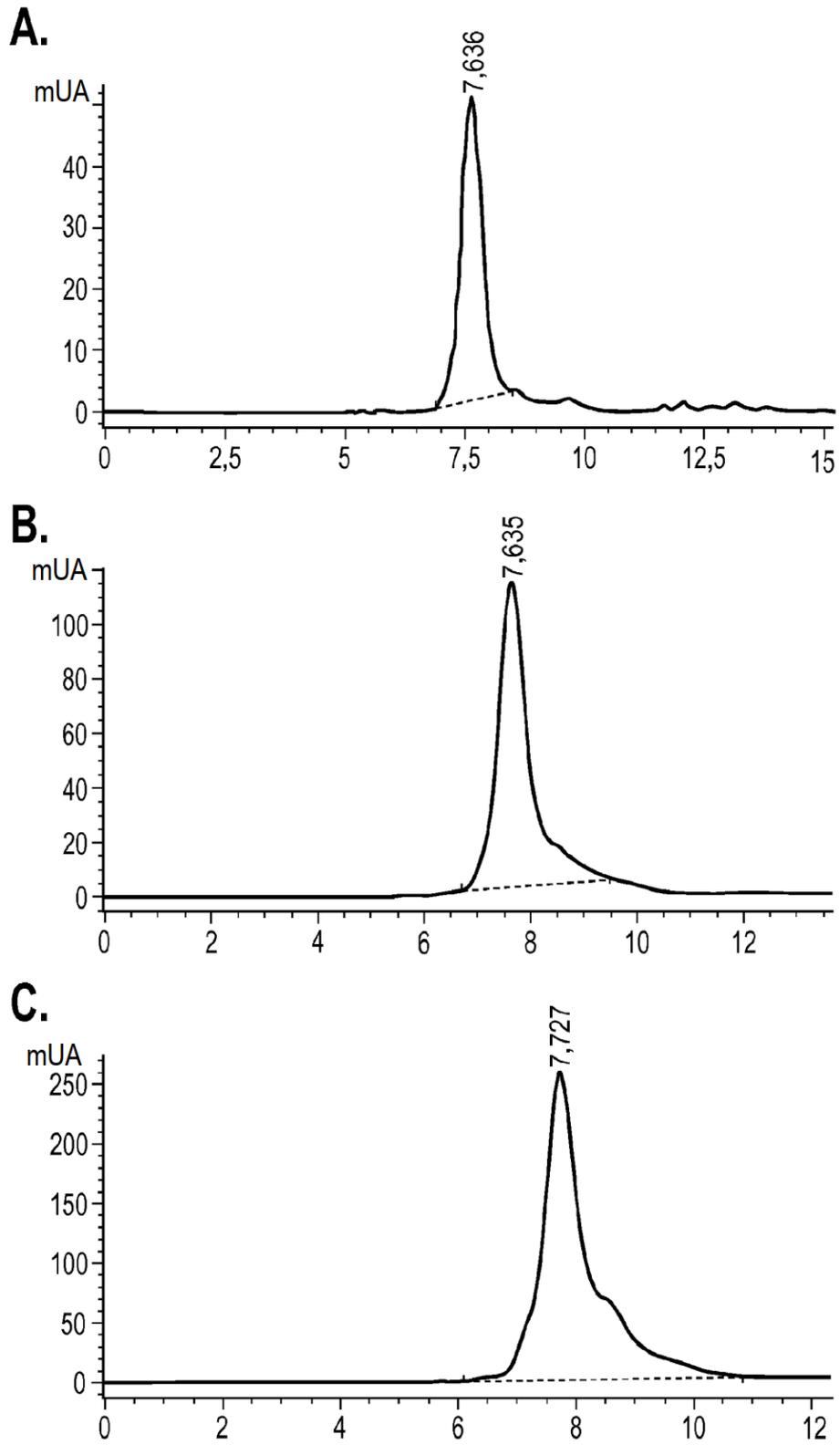


Fig. 6

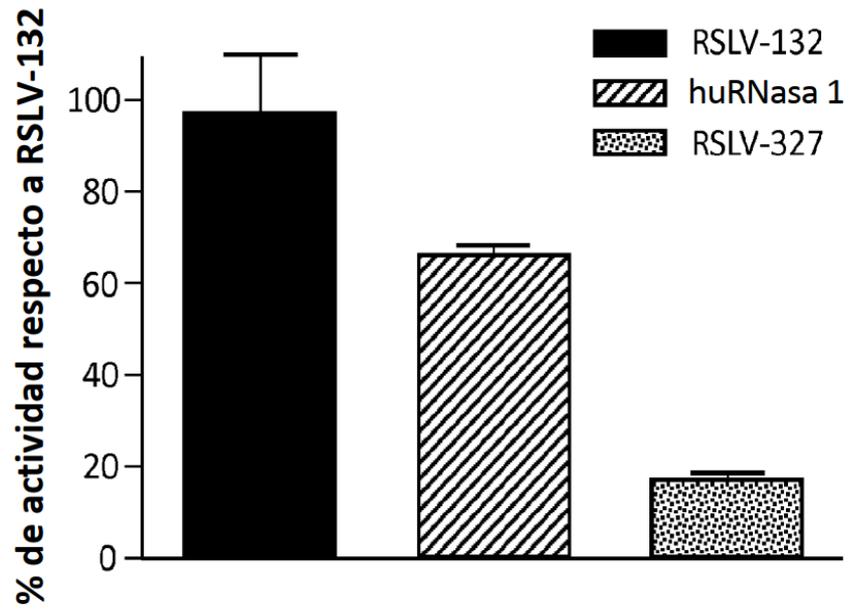


Fig. 7

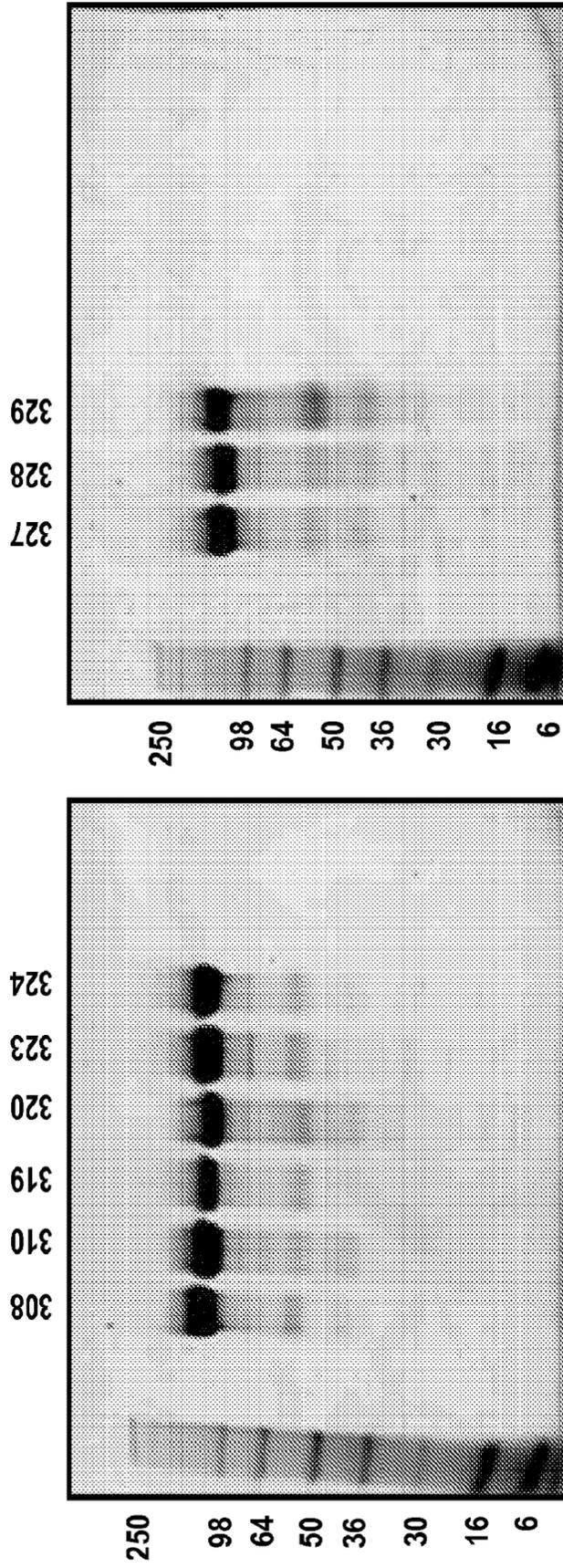


Fig. 8

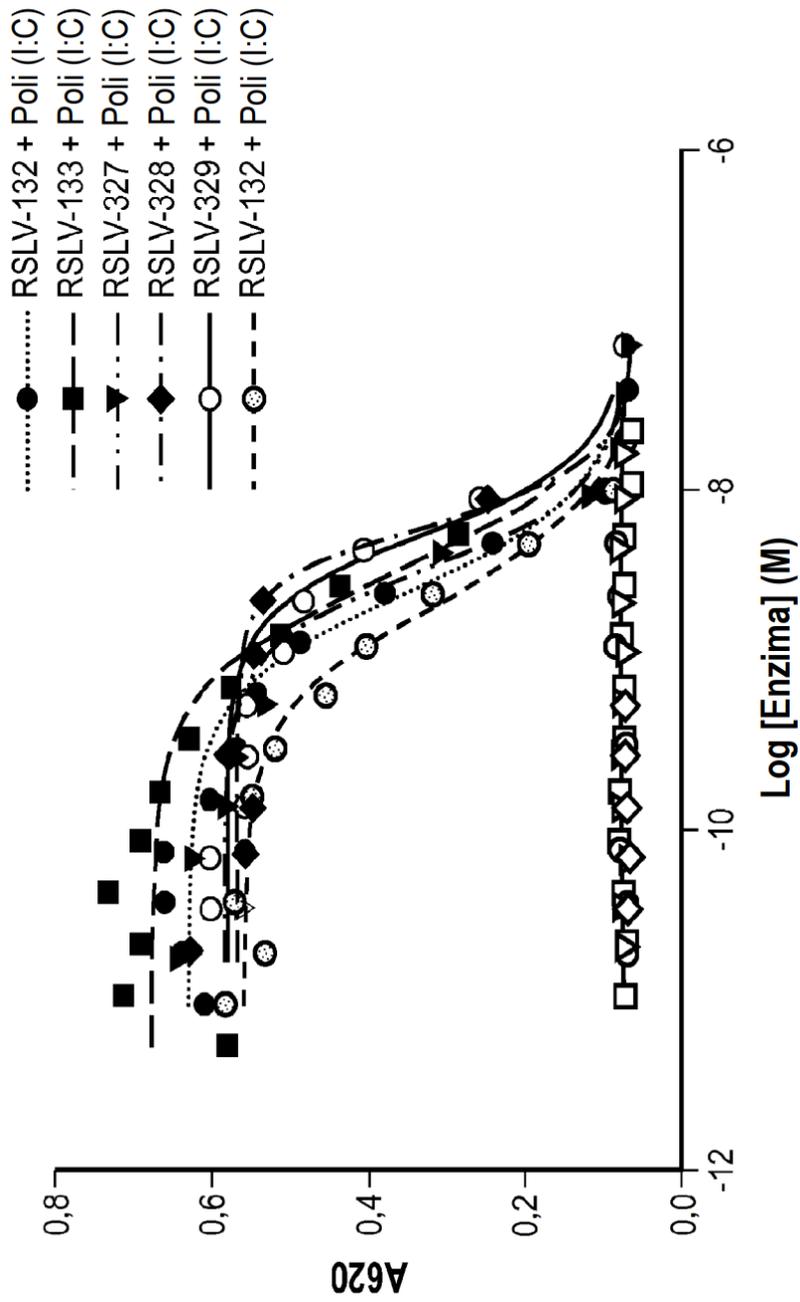


Fig. 9

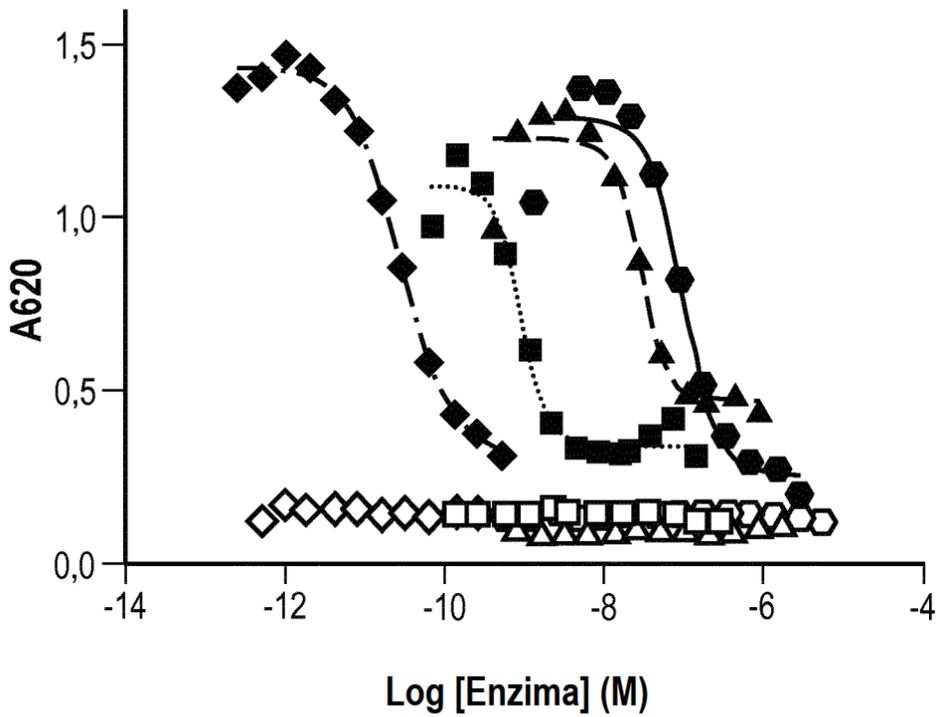
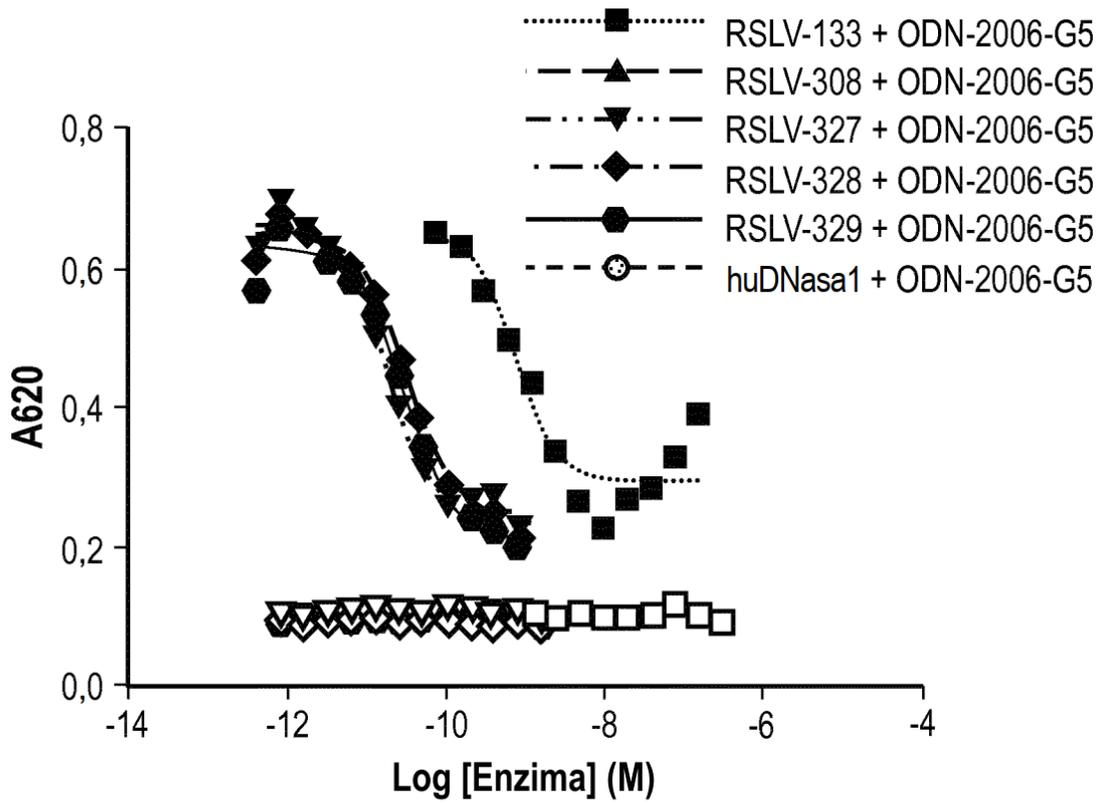


Fig. 10

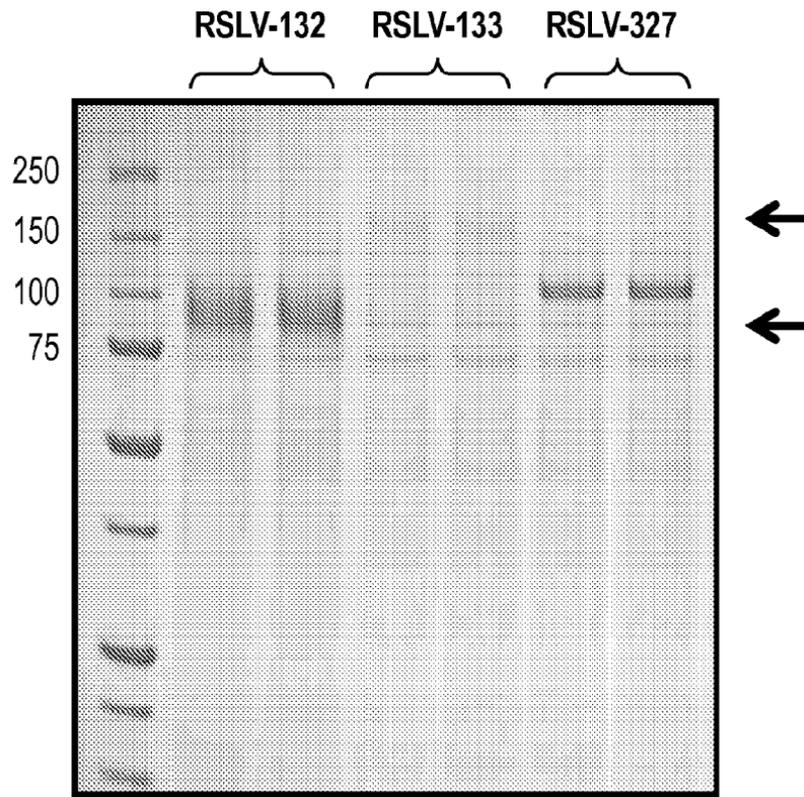


Fig. 11

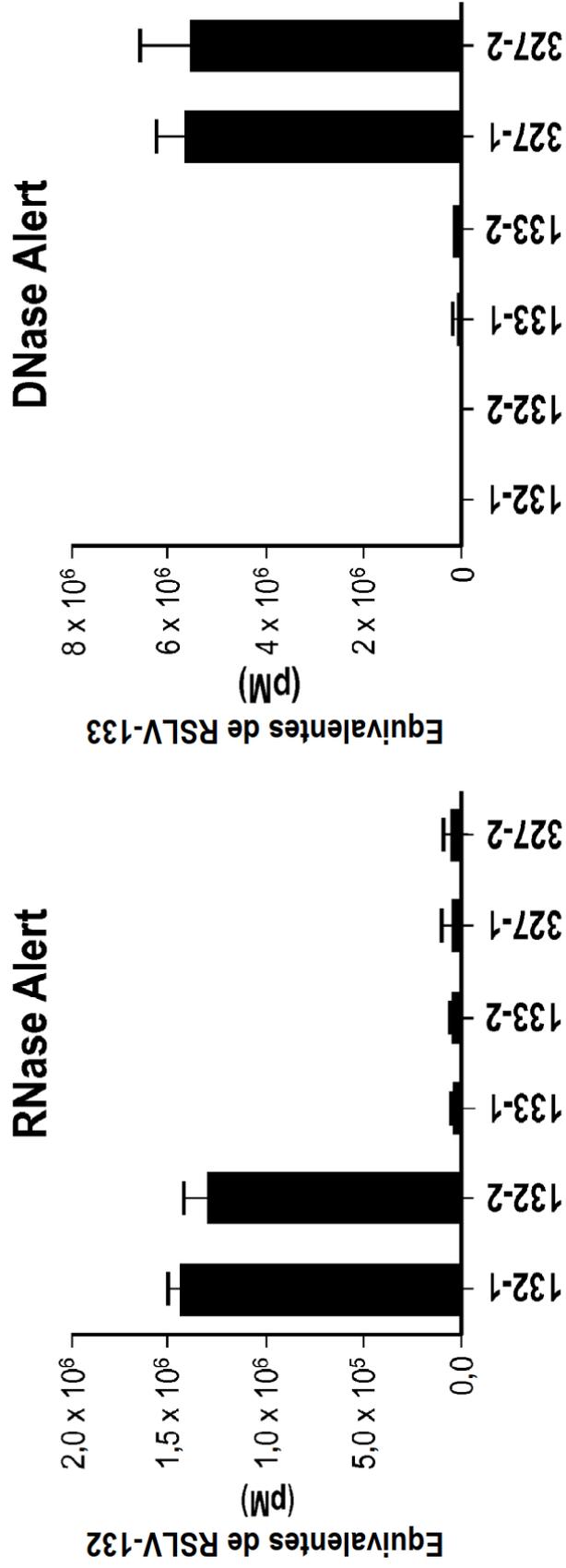


Fig. 12