

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 771 862**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00 (2006.01)

C12N 9/12 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2014** **PCT/EP2014/073164**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015** **WO15063117**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2014** **E 14790592 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019** **EP 3062824**

54 Título: **Una vacuna de ADN que codifica telomerasa**

30 Prioridad:

28.10.2013 EP 13190547

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.07.2020

73 Titular/es:

INVECTYS (100.0%)
28 rue du Docteur Roux
75015 Paris, FR

72 Inventor/es:

LANGLADE DEMOYEN, PIERRE;
WAIN-HOBSON, SIMON;
HUET, THIERRY;
LIARD, CHRISTELLE y
PLIQUET, ELODIE

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 771 862 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

Una vacuna de ADN que codifica telomerasa

La presente invención se refiere al campo de la vacunación antitumoral. La invención proporciona más concretamente una construcción de ácido nucleico que codifica una forma enzimática inactiva de la proteína transcriptasa inversa de telomerasa humana.

Antecedentes de la invención:

La estimulación de las respuestas de células T específicas de tumores con inmunoterapia activa tiene varias ventajas teóricas sobre otras formas de tratamiento del cáncer. Para obtener beneficios clínicos, la inmunoterapia basada en células T debe estimular respuestas de células T reactivas a tumores CD8 y CD4 que reconocen antígenos específicos de tumor. En consecuencia, la atención creciente se ha centrado en identificar epítomos de MHC de clase I y II de antígenos asociados a tumores múltiples (TAA) (Cheever, et al, 2009). Sin embargo, la expresión heterogénea de la mayoría de los antígenos tumorales caracterizados entre los diferentes tipos de cáncer limita la amplia aplicabilidad de las vacunas contra el cáncer que se dirigen a tales antígenos. Durante los últimos años, la transcriptasa inversa de la telomerasa humana (hTERT) se ha convertido en el primer antígeno tumoral común *bonafide* y se investiga activamente como diana universal para la inmunoterapia del cáncer. La transcriptasa inversa de la telomerasa humana (hTERT) es la subunidad catalítica de la enzima telomerasa que sintetiza el ADN telomérico en los extremos cromosómicos. hTERT se expresa en exceso en la mayoría de los tumores humanos (> 85%) y prácticamente en todos los tipos de cáncer. Además, la activación de la telomerasa se ha convertido en uno de los mecanismos de escape tumoral más importantes para sortear las vías de muerte celular dependientes de los telómeros. Está bien establecido que las estrategias terapéuticas dirigidas a antígenos que no participan en el crecimiento tumoral pueden dar como resultado la selección de mutantes tumorales con pérdida de antígeno que son clínicamente progresivos. Por lo tanto, la regulación por disminución o la pérdida de la actividad telomerasa afectarán severamente el potencial de crecimiento de las células tumorales. Además, la telomerasa es relativamente específica de las células cancerosas ya que las células normales del organismo expresan poca o ninguna telomerasa durante la mayor parte de su vida útil y generalmente tienen telómeros más largos que los de las células tumorales. Todos estos hallazgos justifican las aplicaciones clínicas de hTERT para la inmunoterapia contra el cáncer.

La vacunación con péptidos, ampliamente utilizada en varios ensayos de vacunas contra el cáncer, es la estrategia más avanzada con respecto al antígeno hTERT. Sin embargo, varios factores podrían influir en el éxito óptimo de esta estrategia de vacuna basada en péptidos, tales como (1) la restricción del antígeno leucocitario humano (HLA), (2) el procesamiento natural de péptidos en las células tumorales, (3) la pérdida de la presentación del antígeno en las células tumorales, (4) la funcionalidad de las células T específicas de antígeno, y (5) la persistencia a largo plazo de las respuestas inmunitarias en el anfitrión después de la vacunación.

La respuesta de memoria obtenida con las vacunas peptídicas y especialmente con los péptidos cortos es muy baja y no es persistente. Estos resultados subóptimos se pueden explicar en parte por la ausencia de ayuda de células T CD4. Además, la semivida del complejo de MHC/vacuna de péptido en las células presentadoras es de solo unas pocas horas, a continuación, los péptidos desaparecen. Las células dendríticas ya no presentan péptidos a los linfocitos y, por lo tanto, se vuelven tolerogénicas. Este defecto en la presentación de péptidos puede ser perjudicial en algunos casos (Rosenberg et al., 2004).

Compendio de la invención:

Los autores de la presente invención han desarrollado una estrategia de vacuna de ADN que no muestra los inconvenientes de la vacunación con péptidos (incluso péptidos largos), restringida a ciertos epítomos de hTERT. En particular, la vacunación con ADN evita procedimientos costosos y complicados para la producción y purificación de proteínas. Además, una vacuna de ADN que codifica la proteína hTERT hace posible inducir células T auxiliares CTL y CD4 independientemente de la restricción de HLA del paciente, a la vez que es segura e induce una mejor respuesta inmunitaria cuantitativa y cualitativa.

La invención proporciona una construcción de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una proteína transcriptasa inversa de telomerasa humana (hTERT) que carece de la actividad catalítica de la telomerasa y de una señal de localización nucleolar, en donde la proteína hTERT se fusiona en el extremo N con una proteína que mejora el direccionamiento de la proteína hTERT al proteasoma, que puede ser ubiquitina o calreticulina.

La construcción de ácido nucleico de la invención es útil para desencadenar una respuesta inmunitaria en un sujeto, preferiblemente una respuesta inmunitaria celular, contra células que expresan en exceso la telomerasa, preferiblemente células de displasia o células tumorales, así como células infectadas con un oncovirus.

En la presente memoria se describe un método para prevenir o tratar un tumor en un paciente, cuyo método comprende administrar dicha construcción de ácido nucleico a un paciente que lo necesite.

Tal tratamiento se puede denominar inmunoterapia activa o vacunación terapéutica, ya que desencadena una respuesta inmunitaria contra el tumor, especialmente una respuesta de células T CD8 citotóxica, junto con una respuesta específica de células T CD4.

- 5 Se obtiene una respuesta inmunitaria celular amplia porque los repertorios de células T CD4 y CD8 son estimulados por los epítomos disponibles en hTERT. El número de células T CD4 y CD8 dirigidas contra muchos epítomos de hTERT es mayor que en la vacunación con péptidos. Se mejora la producción de interleucinas, además de la inducción de células T CD4, especialmente citocinas Th1, lo que permite un crecimiento y diferenciación óptimos de las células T CD8 con el sello distintivo de las células antitumorales.

Leyendas de las figuras

10 Figura 1A Mapa del plásmido INVAC-1

Ubicación (bases)	Secuencia	Origen
1-3478	Vector NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI	NTC
3479 - 3484	Sitio de clonación HindIII: A.AGCTT	NTC/Invectys
3485 - 6967	Transgén Ubi-hTERT	Invectys
6968 - 6973	Sitio de clonación XbaI: T.CTAGA	Invectys/NTC
6974 - 7120	Vector NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI	NTC

Características del vector

Agonista eRNA11a RIG-I: 7-532

Terminador procariótico trpA: 535-564

- 15 VA RNAI (VA1) de adenovirus serotipo 5: 568-761

Origen ampliado del sitio de ensamblaje primosomal (PAS-BH): 771-1055

Origen de replicación pUC: 1056-2070

Marcador de selección de sacarosa (RNA-OUT): 2087-2231

Potenciador de SV40: 2232-2451

- 20 Potenciador de CMV: 2452-2897

Promotor de CMV: 2898-3017

Líder sin traducir (exón 1): 3018-3204

HTLV-1 R: 3089-3314

Intrón 3' basado en β -globina de conejo sintética: 3323-3429

- 25 Exón 2 (sitios de unión a proteínas SR-Kozak): 3430-3478

Transgén Ubi-hTERT que incluyen sitios de clonación HindIII-XbaI-Invectys): 3479-6973

Terminador eucariótico: 6980-7114

Figura 1B Validación de gel para INVAC-1

- 30 El vector de expresión INVAC-1 se verificó por mapeo de restricción. El patrón corresponde al mapa de restricción esperado.

Calle 1: escalera de 1 kb

Calle 2: INVAC-1 sin digerir

Calle 3: INVAC-1 digerido con BglII/NotI (bandas 3496, 3262, 220, 142 pb)

Calle 4: INVAC-1 digerido con NcoI (bandas de 4084, 3036 pb)

Calle 5: INVAC-1 digerido con HindIII/XbaI (3631, bandas de 3489 pb)

Figura 2A hTERT, INVAC-1 y derivados de INVAC-1.

- 5 Alineamiento esquemático entre proteínas hTERT de tipo salvaje y Ubi-hTERT modificadas codificadas por INVAC-1 y derivados de INVAC-1: pUTD10Not (abreviado como $\Delta 10\text{Not}$), pUTD10Cog (abreviado como $\Delta 10\text{Cog}$) y pUTD23Tyn (abreviado como $\Delta 23$).

Características de la secuencia:

VDD: Deleción de los aminoácidos 867-869 dentro del sitio catalítico.

- 10 **DGLLRL** (SEQ ID NO: 19): Deleción adicional de los aminoácidos 860-867; deleción de VDD aguas arriba

FLLVTPH (SEQ ID NO: 20): Deleción adicional de los aminoácidos 869-876; deleción de VDD aguas abajo

IRR: Deleción adicional de los aminoácidos 857-859; **DGLLRLVDD** aguas arriba (SEQ ID NO: 21): deleción

LTH: Deleción adicional de los aminoácidos 877-879; **VDDFLLVTPH** aguas abajo (SEQ ID NO: 22): deleción

Ubi: secuencia de ubiquitina humana (1-76 aminoácidos)

- 15 **V5:** Etiqueta C-terminal V5 para la detección conveniente de proteínas

Figura 2B Validación de gel para derivados de INVAC-1

Los vectores de expresión pUTD10Not, pUTD10Cog y pUTD23Tyn (derivados de INVAC-1) se verificaron mediante mapeo de restricción. Los patrones corresponden a los mapas de restricción esperados.

Calle M: escalera de 1 kb

- 20 Calle 1: pUTD10Cog (5348, bandas de 3585 pb)

Calle 2: pUTD10 Not (5348, bandas de 3585 pb)

Calle 3: pUTD23Tyn (5348, bandas de 3546 pb)

Figura 3 Expresión de hTERT de tipo salvaje, INVAC-1 y derivados de INVAC-1 *in vitro* en diferentes líneas celulares evaluadas por transferencia Western

- 25 hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT), vector vacío (pNTC8685-eRNA41H, cadena principal de INVAC-1 sin secuencia codificante foránea), construcciones de INVAC-1 y derivadas de INVAC-1 (pUTD10Not/ $\Delta 10\text{Not}$, pUTD10Cog/ $\Delta 10\text{Cog}$ y pUTD23Tyn/ $\Delta 23$) se transfectaron en células HEK293T (A, C). La hTERT de tipo salvaje, el vector vacío pNTC8685-eRNA41H y las construcciones de INVAC-1 se transfectaron en células CrFK (B).

- 30 La expresión de proteínas se controló durante 18-96 h después de la transfección en células HEK293T (A, C) y durante 24-72 h en células CrFK (B).

- 35 El tiempo de recolección de células se indica en la parte superior de cada calle. Se cargaron 15 μg de proteína total de productos lisados celulares por calle para las membranas A, B, C (hTERT, INVAC-1) y se cargaron 20 μg de productos lisados de proteína total por calle para las membranas C ($\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$, $\Delta 23$). Se detectó hTERT con un anticuerpo monoclonal de conejo anti-hTERT (hTERT, INVAC-1) o con una anti-etiqueta V5 ($\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$, $\Delta 23$). La detección de proteína β -actina se utilizó como control de carga y se detectó con un anticuerpo monoclonal de ratón anti- β -actina. La detección de proteínas hTERT de células CrFK (B) y proteínas derivadas de INVAC-1 de células HEK293T (C) requirió un mayor tiempo de exposición.

Figura 4 Localización intracelular de construcciones de hTERT e INVAC-1 en diferentes líneas celulares evaluadas por inmunofluorescencia

- 40 La hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT), el vector vacío (pNTC8685-eRNA41H, la cadena principal de INVAC-1 sin secuencia codificante foránea) y las construcciones de INVAC-1 se transfectaron en células HEK293T (A) o CrFK (D) durante 24 h, y en células HeLa (B) o QT6 (C) durante 24h y 48h.

- 45 Las células se procesaron para la tinción de inmunofluorescencia con un anticuerpo monoclonal de conejo anti-hTERT y un anti-anticuerpo secundario de conejo Alexa Fluor 488® de cabra (verde). Los núcleos se tiñeron con DAPI (azul). Las células no tratadas se tiñeron solo con DAPI. Las células se analizaron mediante microscopía de

fluorescencia (x63).

Figura 5 Actividad telomerasa de hTERT, INVAC-1 y derivados de INVAC-1 evaluados mediante ensayo TRAP

Las células CrFK se transfectaron con construcciones de hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT), INVAC-1 y derivados de INVAC-1. Veinticuatro horas después, se recolectaron las células, se extrajeron las proteínas celulares totales y se evaluó la actividad telomerasa (transcriptasa inversa) mediante el ensayo del Protocolo de Amplificación de Repetición Telomérica (TRAP). Se muestran las mediciones de absorbancia (DO450/690 nm) y la Actividad Telomerasa Relativa (RTA; razón muestra/control positivo) de construcciones de INVAC-1 (A, B) y derivadas de INVAC-1 (C, D) en comparación con hTERT de tipo salvaje y células CrFK sin tratar (n = 3 para 2,1 µg de muestras de concentración de proteína total), **: p = 0,0016, ***: p <0,0001, prueba t no pareada.

No se detectó actividad telomerasa en células CrFK transfectadas con INVAC-1 y derivados de INVAC-1.

Figura 6: Impacto de la electroporación para inducir niveles significativos de células T CD8 específicas para hTERT que secretan interferón-γ después de la administración ID de INVAC-1

Se inmunizaron ID ratones hembra C57BL/6 de siete semanas de edad (2-8 ratones por grupo) con 100 µg de INVAC-1 o 1X PBS. Para la mitad de los animales, se realizó una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Catorce días después de la vacunación, se recogieron los bazo de todos los ratones. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN-γ por triplicado con una reserva de 2 péptidos de hTERT restringidos a MHC H2^b (p429, p660) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN-γ/200.000 esplenocitos. Análisis de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. *: valor p <0,05. EP = electroporación.

Figura 7: Evaluación de varias rutas de administración para la vacunación con INVAC-1 seguida de electroporación para inducir células T CD8 específicas de hTERT que secretan interferón γ.

Se inmunizaron ratones HLA-B7 transgénicos de siete a diez semanas de edad a través de A) la vía ID o SC (3-8 ratones por grupo) y B) a través de la vía ID o IM (4-5 ratones por grupo) con 25 µg de INVAC-1 o 1X PBS. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Catorce días después de la vacunación, se recogieron bazo A) o sangre periférica B) de todos los ratones. Los esplenocitos o las PBMC se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN-γ por triplicado con una reserva de 3 péptidos específicos de hTERT restringidos al MHC HLA-B7 (p351, p1123 y p277) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN-γ/200.000 esplenocitos o PBMC. Prueba no paramétrica de Mann Whitney, *: valor p <0,05. Se estableció voluntariamente una línea sombreada a 10 células T CD8 específicas de hTERT que secretaban IFN-γ/200.000 esplenocitos como un umbral de corte que permitía la determinación de los animales que respondían.

Figura 8: Impacto de la dosis de la vacuna sobre la respuesta de células T CD8 específicas para hTERT después de una inmunización ID única con INVAC-1 y electroporación

Se inmunizaron ID ratones hembra C57BL/6 de siete semanas de edad A) con 12,5, 25, 50 o 100 µg de INVAC-1 o 1X PBS (4-6 ratones por grupo) y B) con 100, 200, 400, 800 o 1200 µg de INVAC-1 o 1X PBS (3-5 ratones por grupo). Se realizó una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Catorce días después de la vacunación, se recogieron los bazo de todos los ratones. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN-γ por triplicado con una reserva de 2 péptidos de hTERT restringidos al MHC H2^b (p429, p660) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretaban IFN-γ/200.000 esplenocitos. Análisis de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. *: valor p <0,05, **: valor p <0,01. Se estableció voluntariamente una línea sombreada en 10 manchas/200.000 esplenocitos para permitir la determinación de los animales que respondían.

Figura 9: Impacto de un régimen de vacunación de cebado-refuerzo con INVAC-1 sobre células T CD8 específicas para hTERT que secretan interferón-γ

Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-B7 de siete a diez semanas de edad a través de la vía ID (5 ratones por grupo) con 25 µg de INVAC-1. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Veintiún días después, los ratones recibieron una inyección de refuerzo utilizando el mismo procedimiento. Se recogió sangre periférica antes de la primera inmunización, los días 7, 15 y 21 después del cebado y los días 9, 16 y 22 después del refuerzo.

Las PBMC se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN- γ por triplicado en una reserva de 3 péptidos específicos de hTERT restringidos al MHC HLA-B7 (p351, p1123 y p277) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN γ /200.000 esplenocitos. Prueba no paramétrica de Mann-Whitney, *: valor $p < 0,05$. Se estableció voluntariamente una línea sombreada en 10 puntos/200.000 esplenocitos para permitir la determinación de los animales que respondían.

Figura 10: Evaluación de la vacunación ID (inmunización única versus régimen de cebado/refuerzo) con INVAC-1, Δ 10Not, Δ 10Cog o Δ 23 seguido de electroporación para inducir células T CD8 específicas para hTERT que secretan interferón γ .

A) Se inmunizaron ID ratones hembra C57BL/6 de siete semanas de edad (4 ratones por grupo) con 100 μ g de INVAC-1, Δ 10Not, Δ 10Cog o Δ 23 o 1X PBS. Se realizó una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. La mitad de los animales recibió una inyección de refuerzo veintidós días después de la primera vacunación utilizando el mismo procedimiento. Se recogieron los bazo de los ratones 14 días o 10 días después de la última inmunización, respectivamente, para los animales que recibieron una sola inyección o inyecciones de cebado y refuerzo. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN- γ por triplicado con un grupo de 2 péptidos de hTERT restringidos al MHC H2^b (p429, p660) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN γ /200.000 esplenocitos para animales que recibieron una inyección única (CEBADO, puntos de color negro) o una inyección de cebado y refuerzo (PB, puntos de color blanco). Prueba no paramétrica de Mann Whitney, *: valor $p < 0,05$. Se estableció voluntariamente un punto de corte en 10 células T CD8 específicas para hTERT que secretaban IFN γ /200.000 esplenocitos (línea sombreada) para permitir la determinación de los animales que respondían. PB = post-refuerzo.

B) Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-B7 de siete a diez semanas de edad a través de la vía ID (5 ratones por grupo) con 100 μ g de INVAC-1, Δ 10Not, Δ 10Cog o Δ 23 o 1X PBS. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Veintidós días después de la primera vacunación, los ratones recibieron una inyección de refuerzo utilizando el mismo procedimiento. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN- γ por triplicado con una reserva de 3 péptidos específicos de hTERT restringidos al MHC HLA-B7 (p351, p1123 y p277) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN γ /200.000 esplenocitos o PBL. Prueba no paramétrica de Mann Whitney, *: valor $p < 0,05$. Se estableció voluntariamente un punto de corte en 10 manchas/200.000 esplenocitos para determinar la frecuencia de los animales que respondían (línea sombreada).

Figura 11: Amplitud de la respuesta de células T específicas para hTERT después de una o varias inmunizaciones ID seguidas de electroporación: Comparación entre las construcciones de INVAC-1, pNTC-hTERT y pNTC-hTERT- Δ VDD

Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-B7 de siete a 13 semanas de edad a través de la vía ID (6 ratones por grupo) con 25 μ g de INVAC-1, hTERT Δ VDD (pNTC-hTERT- Δ VDD), hTERT (pNTC-hTERT) o vector vacío NTC (pNTC8685-eRNA41H). Cuarenta y ocho animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. La mitad de los animales recibió una inyección de refuerzo veintidós días después de la primera vacunación utilizando el mismo procedimiento. Los bazo de los ratones se cosecharon 14 días o 10 días después de la última inmunización, respectivamente, para los animales que recibieron una sola inyección o inyecciones de cebado y refuerzo.

Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISpot para IFN- γ por triplicado, con un conjunto de 269 péptidos purificados de hTERT (pureza > 70%, GenScript) divididos en 27 reservas de 9-10 péptidos solapantes de hTERT (péptidos de 15 unidades que se solapan en 11 aminoácidos), durante una estimulación nocturna (19 horas). Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT.

Para cada ratón, se calculó la mediana del número de manchas por triplicado y por condición de estimulación (medio o reserva de péptidos). La frecuencia (F) de las células T específicas para hTERT se calculó después de restar la mediana del número de manchas en pocillos estimulados con medio de la mediana del número de manchas en los pocillos estimulados con la reserva de péptidos. Los valores negativos se establecieron en 0 para análisis posteriores.

Este análisis se realizó para los animales que recibieron una sola vacuna (A) o una vacuna de cebado-refuerzo (B). (A y B) Para cada grupo de vacunación (INVAC-1, hTERT Δ VDD, hTERT, NTC), se calculó una mediana ($n = 6$) de la frecuencia (F) de las células T específicas de telomerasa que secretaban IFN γ /200.000 esplenocitos por condición de estimulación para obtener un valor por cada uno de las 27 reservas.

(C) Suma de la mediana total de la frecuencia (F) de las células T específicas de telomerasa detectadas para las 27 reservas (269 péptidos purificados) después de la vacunación con INVAC-1, hTERTΔVDD, hTERT o NTC. Los análisis estadísticos se realizaron con el soporte lógico Prism 5 utilizando una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con corrección de Dunn. El valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Figura 12: Potencia de la vacunación ID con INVAC-1 y electroporación para generar células T CD8 citotóxicas específicas y células T Th1-CD4

A) Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-B7 de siete a 10 semanas de edad a través de la vía ID (5 ratones por grupo) con 25 µg de INVAC-1 o 1X PBS. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. El día 14 después de la inyección, los esplenocitos singénicos, pulsados con péptidos de hTERT individuales restringidos al MHC HLA-B7 (p351 o p1123) o no pulsados, se marcaron con succinimidil éster diacetato de carboxifluoresceína (CFSE) a tres concentraciones diferentes: alta = 1 µM (621), media = 0.5 µM (987) y baja = 0.1 µM (sin pulsar). El mismo número de células marcadas con CFSE alta, media o baja se transfirió IV a ratones vacunados. Después de 15-18 horas, se determinó la desaparición de las células pulsadas con péptidos en el bazo mediante citometría de flujo. El porcentaje de lisis específica se calculó comparando la proporción de células pulsadas con las células no pulsadas en ratones vacunados frente a los de control. Los datos representan el porcentaje de lisis específica para cada ratón contra cada péptido individual en el bazo después de la vacunación ID con INVAC-1. Las barras horizontales muestran el porcentaje promedio de lisis por péptido y por ruta de inmunización. También se trazan las desviaciones típicas ($n = 10$ animales individuales/grupo). Los análisis estadísticos se realizaron con el soporte lógico Prism 5 utilizando una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con corrección de Dunn. El valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

B y C) Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 de siete a diez semanas de edad a través de la vía ID (7-10 ratones por grupo) con 25 µg de INVAC-1 o 1X PBS. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Catorce días después de la vacunación, se recogieron los bazos de todos los ratones. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y B) la mitad de ellos se estimularon por triplicado en un ensayo ELISpot para IFN-γ con una reserva de 3 péptidos específicos de hTERT restringidos al MHC HLA-DR1 (p1029, p578 y p904) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD4 específicas para hTERT que secretan IFNγ/200.000 esplenocitos. Prueba no paramétrica de Mann Whitney, ***: valor $p < 0,001$.

C) La segunda mitad de los esplenocitos se estimuló durante 24 h con una reserva de 3 péptidos específicos de hTERT restringidos al MHC HLA-DR1 (p1029, p578 y p904). Los sobrenadantes de las células estimuladas se recuperaron y se probaron en un ensayo CBA para evaluar la concentración de citocinas Th1/Th2 y Th17 secretadas por las células T CD4 específicas para hTERT. Los resultados son la mediana de las concentraciones de citocina en pg/ml. Análisis de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. *: valor $p < 0,05$.

Figura 13: Impacto de una vacunación ID terapéutica o preventiva con INVAC-1 seguida de electroporación en un modelo tumoral de ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 singénicos.

A) Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 de cinco a diez semanas de edad a través de la vía ID (5 ratones por grupo) con 100 µg de INVAC-1 o 1X PBS. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Veintiún días después del cebado, los ratones recibieron una inyección de refuerzo siguiendo el mismo procedimiento. Un mes después del refuerzo, a los ratones se les inocularon a través de la vía SC 50.000 células tumorales Sarc-2 (fibrosarcoma de ratón). La mediana del volumen tumoral en cada grupo vacunado se muestra en diferentes días después del injerto de células tumorales. Se dibujó una línea sombreada a 500 mm³ para permitir el cálculo del retraso del crecimiento tumoral.

B) Se inocularon ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 de 24 semanas de edad (10 ratones por grupo) a través de la vía SC con 20.000 células tumorales Sarc-2 (fibrosarcoma de ratón). Cuatro días después del injerto de células tumorales, los animales fueron inmunizados a través de la vía ID con 25 µg de INVAC-1 o un plásmido vacío (NTC, cadena principal de INVAC-1 sin secuencia de antígeno). Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. Veintiún y 35 días después del cebado, los ratones recibieron inyecciones de refuerzo utilizando el mismo procedimiento. La mediana del volumen tumoral en cada grupo vacunado se muestra en diferentes días después de la sensibilización. Se dibujó una línea sombreada a 500 mm³ para permitir el cálculo del retraso del crecimiento tumoral.

Figura 14: Potenciación de las respuestas inmunitarias celulares inducidas por INVAC-1 mediante GM-CSF y eficacia *in vivo* en un modelo de tumor de ratón transgénico para HLA-A2/DR1 singénico

A) Se inmunizaron ID ratones hembra C57BL/6 de siete semanas de edad (5 ratones por grupo) con 25 µg de INVAC-1, 25 µg de INVAC-1 y 0,5 µg de mGM-CSF o 1X PBS. La electroporación se realizó en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización con INVAC-1. Catorce días después de la vacunación, se recogieron los bazos de todos los ratones. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo

ELIspot para IFN- γ por triplicado con un grupo de 2 péptidos de hTERT restringidos al MHC H2^b (p429, p660) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN γ /200.000 esplenocitos. Análisis de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. **: valor $p < 0,01$.

B) Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 de siete a diez semanas de edad a través de la vía ID (5 ratones por grupo) con 100 μ g de INVAC-1, 100 μ g de INVAC-1 y 5 μ g de mGM-CSF. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización con INVAC-1. Catorce días después de la vacunación, se recogieron los bazo de todos los ratones. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon por triplicado con una reserva de 3 péptidos específicos para hTERT restringidos al MHC HLA-DR1 (p1029, p578 y p904) durante 24 horas. Los sobrenadantes de las células estimuladas se recuperaron y probaron en un ensayo CBA para evaluar la concentración de citocinas Th1/Th2 y Th17 secretadas por las células T CD4 específicas para hTERT. Los resultados son la mediana de la concentración de citocina en pg/ml. Análisis de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. *: valor $p < 0,05$. **: valor $p < 0,01$.

C) A ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 de siete a diez semanas de edad (10 ratones por grupo) se les inocularon a través de la vía SC 20.000 células tumorales Sarc-2 (fibrosarcoma de ratón). Cuatro días después del injerto de células tumorales, los animales fueron inmunizados a través de la vía ID con 25 μ g de INVAC-1 y 0,5 μ g de mGM-CSF, un plásmido vacío (NTC, cadena principal de INVAC-1 sin secuencia de antígeno) y 0,5 μ g de mGM-CSF o 1X PBS y 0,5 μ g de mGM-CSF. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización con INVAC-1. Veintiún y 35 días después del cebado, los ratones recibieron inyecciones de refuerzo con el mismo protocolo. La mediana del volumen tumoral en cada grupo vacunado se muestra en diferentes días después del injerto de las células tumorales.

Se dibujó una línea sombreada a 500 mm³ para permitir el cálculo del retraso del crecimiento tumoral.

Figura 15: Impacto de IL-12 para potenciar las respuestas de células T CD8 específicas para hTERT inducidas por INVAC-1

Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 de siete a diez semanas de edad a través de la vía ID (5 ratones por grupo) con 100 μ g de INVAC-1, 100 μ g de INVAC-1 y 1 ng de IL-12, 1X PBS o 1X PBS y 1 ng de IL-12. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización con INVAC-1. Catorce días después de la vacunación, se recogieron los bazo de todos los ratones. Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon por triplicado en un ensayo ELIspot para IFN- γ con una reserva de 2 péptidos específicos de hTERT restringidos al HLA-A2 (UCP4.1 y UCP2.1) durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFN γ /200.000 esplenocitos. Se estableció una línea sombreada en 10 manchas/200.000 esplenocitos para permitir la determinación de los animales que respondían.

La **Figura 16** muestra la secuencia de nucleótidos completa del vector de expresión del plásmido INVAC-1 (7120 pb). Las características del vector se detallan en la leyenda de la Figura 1A. La proteína de fusión de hTERT codificada por INVAC-1 (1158 AA) comienza en la posición 3488 (ATG que codifica el aminoácido M) y termina en 6961 (GAC que codifica el aminoácido D). Se suprimieron los 47 primeros aminoácidos (1-47 AA) de la proteína INVAC-1/hTERT y se reemplazaron por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). El sitio catalítico se inactivó mediante una delección de 9 pb (entre los nucleótidos 6172-6173) que codificaba VDD (* en la secuencia) y que correspondía a AA 867-869 de la telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; número de acceso NM_198253). La primera línea es la secuencia de nucleótidos; la segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente. Las anotaciones (véase también la Figura 1A) se proporcionan o bien encima o bien debajo de las secuencias. "□": Codón de parada.

La **Figura 17** muestra la secuencia del inserto que codifica la proteína de fusión ubiquitina-telomerasa humana (Ubi-hTERT) D10Not. Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). Se introdujo una delección adicional entre los aminoácidos 912-913 (* véase la secuencia), correspondiente a AA 860-869 de la telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; número de acceso NM_198253). Esta delección de 10 aminoácidos incluye la delección de 3 AA (Δ VDD) que da como resultado la inactivación de la actividad enzimática de TERT humana y la delección de 7 AA adicionales aguas arriba de la secuencia VDD. Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5. La primera línea es la secuencia de nucleótidos; la segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente. Las anotaciones se proporcionan o bien encima o bien debajo de las secuencias. "□": Codón de parada.

La **Figura 18** muestra la secuencia del inserto que codifica la proteína de fusión de ubiquitina-telomerasa humana (Ubi-hTERT) D10Cog. Se suprimiendo los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). Se introdujo una delección adicional entre los aminoácidos 919-920 (* véase la secuencia), correspondiente a AA 867-876 de la telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; número de acceso NM_198253). Esta delección de 10 aminoácidos incluye la delección de 3 AA (Δ VDD) que da como resultado la inactivación de la actividad enzimática de TERT humana y la delección de 7 AA adicionales aguas abajo de la

secuencia VDD. Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5. La primera línea es la secuencia de nucleótidos; La segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente. Las anotaciones se proporcionan o bien encima o bien debajo de las secuencias. "□": Codón de parada.

La **Figura 19** muestra la secuencia del inserto que codifica la proteína de fusión de ubiquitina-telomerasa humana (Ubi-hTERT) D23Tyn. Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). Se introdujo una delección adicional entre los aminoácidos 909-910 (* véase la secuencia), correspondiente a AA 857-879 de la telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; número de acceso NM_198253). Esta delección de 23 aminoácidos incluye la delección de 3 AA (Δ VDD) que da como resultado la inactivación de la actividad enzimática de TERT humana y la delección de 10 AA adicionales aguas arriba y aguas abajo de la secuencia VDD. Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5. La primera línea es la secuencia de nucleótidos; La segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente. Las anotaciones se proporcionan o bien encima o bien debajo de las secuencias. "□": Codón de parada.

Figura 20 Mapas de plásmidos derivados con permutaciones al azar de INVAC-1

Ubicación (bases)	Secuencia	Origen
1 - 882	vector pcDNA™ 3.1 (+)	Cadena principal de vectores comerciales Invitrogen utilizada por GeneCust
883 - 922	Sitio de clonación múltiple (MCS) que contiene el sitio de clonación HindIII: A.AGCTT	Invitrogen
923 - 4474	Transgenes con permutaciones al azar de Ubi-hTERT	Invectys
4475 - 4517	Sitio de clonación múltiple (MCS) que contiene el sitio de clonación XbaI: T.CTAGA	Invitrogen
4518 - 8918	vector pcDNA™ 3.1 (+)	Cadena principal de vectores comerciales Invitrogen utilizada por GeneCust

Figura 20A pUTScram: características del vector

Gen	Ubicación (bases)
Promotor de CMV	232-819
Promotor de T7	863-882
hUbi (ubiquitina humana)	923-1150
Conector 4xGly	1151-1162
hTERT de secuencia aleatoria (TERT humana de secuencia aleatoria)	1163-4414
Fragmento 7 de hTERT	1163-1372
Conector 6xGly	1373-1390
Fragmento 2 de hTERT	1391-1591
Conector 6xGly	1592-1609
Fragmento 6 de hTERT	1610-1921

Gen	Ubicación (bases)
Conector 6xGly	1922-1939
Fragmento 4 de hTERT	1940-2056
Conector 6xGly	2057-2074
Fragmento 9 de hTERT	2075-2650
Conector 6xGly	2651-2668
Fragmento 3 de hTERT	2669-2788
Conector 6xGly	2789-2806
Fragmento 1 de hTERT	2807-3064
Conector 6xGly	3065-3082
Fragmento 8 de hTERT	3083-3559
Conector 6xGly	3560-3577
Fragmento 10 de hTERT	3578-4093
Conector 6xGly	4094-4111
Fragmento 5 de hTERT	4112-4414
Conector 6xGly	4415-4432
Etiqueta V5	4433-4474
Secuencia de poliadenilación de BGH	4518-4742
ori f1 (origen f1)	4788-5216
Promotor temprano y origen de SV40	5221-5564
Gen de neomicina	5626-6420
SV40 pA (señal de poliadenilación temprana de SV40)	6594-6724
Origen pUC (cadena complementaria)	7107-7777
Gen de ampicilina (cadena complementaria)	7922-8782

Figura 20B pUTInv: características del vector

Gen	Ubicación (bases)
Promotor de CMV	232-819

Gen	Ubicación (bases)
Promotor de T7	863-882
hUbi (ubiquitina humana)	923-1150
Conector 4xGly	1151-1162
HTERT de secuencia invertida (TERT humana de secuencia invertida)	1163-4414
Fragmento 10 de hTERT	1163-1678
Conector 6xGly	1679-1696
Fragmento 9 de hTERT	1697-2272
Conector 6xGly	2273-2290
Fragmento 8 de hTERT	2291-2767
Conector 6xGly	2768-2785
Fragmento 7 de hTERT	2786-2995
Conector 6xGly	2996-3013
Fragmento 6 de hTERT	3014-3325
Conector 6xGly	3326-3343
Fragmento 5 de hTERT	3344-3646
Conector 6xGly	3647-3664
Fragmento 4 de hTERT	3665-3781
Conector 6xGly	3782-3799
Fragmento 3 de hTERT	3800-3919
Conector 6xGly	3920-3937
Fragmento 2 de hTERT	3938-4138
Conector 6xGly	4139-4156
Fragmento 1 de hTERT	4157-4414
Conector 6xGly	4415-4432
Etiqueta V5	4433-4474
Secuencia de poliadenilación de BGH	4518-4742

Gen	Ubicación (bases)
ori f1 (origen f1)	4788-5216
Promotor temprano y origen de SV40	5221-5564
Gen de neomicina	5626-6420
SV40 pA (señal de poliadenilación temprana de SV40)	6594-6724
Origen pUC (cadena complementaria)	7107-7777
Gen de ampicilina (cadena complementaria)	7922-8782

Figura 21A Validación de gel para pUTScram

El vector de expresión pUTScram se verificó mediante mapeo de restricción. El patrón corresponde al mapa de restricción esperado.

5 Calle M: escalera de 1 kb

Calle 1: pUTScram digerido con HindIII/XbaI (bandas de 3576, 5342 pb)

Figura 21B Validación de gel para pUTInv

El vector de expresión pUTInv se verificó mediante mapeo de restricción. El patrón corresponde al mapa de restricción esperado.

10 Calle M: escalera de 1 kb

Calle 1: pUTInv digerido con HindIII/XbaI (bandas de 3576, 5342 pb)

Figura 22 Construcciones de hTERT, INVAC-1, pUTScram y pUTInv

15 Alineamiento esquemático entre proteínas hTERT de tipo salvaje y Ubi-hTERT modificada codificadas por INVAC-1 y derivados con permutaciones al azar de INVAC-1: pUTScram (Secuencia Aleatoria) y pUTInv (Secuencia Invertida).

20 La secuencia de hTERT modificada (Δ VDD) se dividió en diez fragmentos inmunogénicos: **fragmento 1** (258 pb; Leu24 - Gly109), **fragmento 2** (201 pb; Phe115 - Ala181), **fragmento 3** (120 pb; Trp203 - Ala242), **fragmento 4** (117 pb; Ser255 - Arg293), **fragmento 5** (303 pb; Pro320-Thr420), **fragmento 6** (312 pb; Ala423 - Val526), **fragmento 7** (210 pb; Cys528 - Gln597), **fragmento 8** (477 pb; Arg599 - Lys757), **fragmento 9** (576 pb; Lys760 - Ile951), **fragmento 10** (516 pb; Asn958 - Asp1129).

Características de secuencia:

VDD: Deleción de los aminoácidos 867-869 dentro del sitio catalítico.

Ubi: secuencia de ubiquitina humana (aminoácidos 1-76)

F (Phe): Residuo de fenilalanina de hTERT (AA47)

25 **G (Gly):** Residuo de glicina C-terminal de ubiquitina (AA76)

R (Arg): Arginina, primer aminoácido de la proteína INVAC-1 (AA 77)

N (Asn): Asparragina, primer aminoácido de la proteína hTERT artificial (Secuencia Aleatoria) codificada por pUTScram (AA 81)

30 **C (Cys):** Cisteína, primer aminoácido de la proteína hTERT artificial (Secuencia Invertida) codificada por pUTInv (AA 81)

V5: Etiqueta C-terminal V5 para la detección conveniente de proteínas

Figura 23 Expresión *in vitro* de hTERT de tipo salvaje, INVAC-1 y derivados con permutaciones al azar de

INVAC-1, evaluada mediante transferencia Western

Se transfectaron hTERT de tipo salvaje, INVAC-1, pUTScram y pUTInv en células HEK293T. La expresión de proteínas se controló durante 18-96 h después de la transfección. (A y C) Se cargaron muestras de hTERT de tipo salvaje e INVAC-1 durante 18 h y 72 h a 15 µg de concentración de proteína total. Estas muestras se utilizaron como controles positivos de las expresiones de proteínas. Las proteínas (A) de Secuencia Aleatoria y (C) de Secuencia Invertida se cargaron a 20 µg de proteína total de productos lisados celulares por calle. Se detectó hTERT con un anticuerpo monoclonal de conejo anti-hTERT (hTERT, INVAC-1) o con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-etiqueta V5 (Secuencia Aleatoria, Secuencia Invertida). El tiempo de recolección de células se indica en la parte superior de cada calle. La proteína β-actina se utilizó como control de carga y se detectó con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-β-actina. La detección de productos derivados con permutaciones al azar de INVAC-1 requirió un tiempo de exposición más largo que las proteínas hTERT de tipo salvaje e INVAC-1 (10 segundos a 30 minutos frente a menos de 1 segundo).

Las intensidades de la señal de proteína con permutaciones al azar se normalizaron a la señal de β-actina en la transferencia Western (A y C) utilizando el soporte lógico ImageJ. (B) Secuencia Aleatoria. (D) Secuencia Invertida. Se generaron gráficos de perfil de control de carga y bandas de proteínas para cada calle para obtener números arbitrarios correspondientes al área bajo el perfil de la curva. Se calcula una razón (densidad relativa) dividiendo el valor del área para cada muestra por el valor del área para el control de carga correspondiente.

Figura 24 Actividades telomerasa de hTERT, INVAC-1 y derivados con permutaciones al azar de INVAC-1 evaluadas mediante ensayo TRAP

Las células CrFK se transfectaron con construcciones de hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT), pUTScram y pUTInv. Veinticuatro horas después, se recolectaron las células, se extrajeron las proteínas celulares totales y se evaluó la actividad telomerasa (transcriptasa inversa) mediante el ensayo del Protocolo de Amplificación de Repetición Telomérica (TRAP). Se muestran las mediciones de absorbancia (DO450/690 nm) y la actividad telomerasa relativa (RTA; razón muestra/control positivo) de construcciones con permutaciones al azar (A y B, respectivamente) en comparación con hTERT de tipo salvaje y las células CrFK no tratadas (n = 3 para 2,1 µg de muestra de concentración de proteína total), se realizó una prueba t no pareada.

No se detectó actividad telomerasa en células CrFK transfectadas con las construcciones pUTScram y pUTInv.

Figura 25: Evaluación de la vacunación ID con INVAC-1, pUTScram y pUTInv seguida de electroporación para inducir células T CD8 específicas para hTERT que secretan interferón γ.

Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-B7 de nueve a quince semanas de edad. a través de la vía ID (3-5 ratones por grupo) con 100 µg de INVAC-1, pUTScram, pUTInv o 1X PBS después de dos ciclos de inmunización (régimen de cebado/refuerzo). Se realizó una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de cada inmunización. Se recogieron los bazo de los ratones 10 días después de la segunda inmunización.

Los esplenocitos se purificaron con Ficoll y se estimularon en un ensayo ELISPOT para IFN-γ por triplicado con una reserva de 3 péptidos de hTERT específicos restringidos al MHC HLA-B7 (p277, p351 y p1123) o medio libre durante 19 horas. Las manchas se revelaron con un anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Los resultados son la mediana de la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT que secretan IFNγ/200.000 esplenocitos. Se realizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney, *: valor p <0,05. Se estableció voluntariamente un punto de corte en 10 manchas/200.000 esplenocitos para determinar la frecuencia de los animales que respondían (línea sombreada).

Figura 26: Potencia de pUTScram y pUTInv para generar células T CD8 citotóxicas específicas para hTERT después de la vacunación ID y la electroporación

Se inmunizaron ratones transgénicos para HLA-B7 de quince semanas de edad. a través de la vía ID (4-6 ratones por grupo) con 100 µg de INVAC-1, pUTScram, pUTInv o 1X PBS. Todos los animales recibieron una electroporación en cada sitio de vacunación directamente después de la inmunización. El día 14 después de la inyección, los esplenocitos singénicos, pulsados con péptidos de hTERT individuales restringidos al MHC HLA-B7 (p351 o p1123) o no pulsados, se marcaron con succinimidil éster diacetato de carboxifluoresceína (CFSE) a tres concentraciones diferentes: alta = 5 µM (351), media = 2 µM (1123) y baja = 0,2 µM (sin pulsar). Se inyectó una mezcla que contenía un número igual de células marcadas con CFSE de cada concentración a través de la vena retroorbital (IV) a los ratones vacunados. Después de 15-18 horas, se determinó la desaparición de las células pulsadas con péptidos en el bazo mediante citometría de flujo. El porcentaje de lisis específica se calculó comparando la proporción de células pulsadas con las pulsadas en ratones vacunados frente a los de control. Los datos representan el porcentaje de lisis específica para cada ratón contra cada péptido individual en el bazo después de la vacunación ID. Las barras horizontales muestran la mediana del porcentaje de lisis por péptido. Los análisis estadísticos se realizaron con el soporte lógico Prism 5 utilizando una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con corrección de Dunn. El valor de p <0,05 se consideró estadísticamente significativo.

La **Figura 27** muestra la delineación de los segmentos inmunogénicos de la secuencia de codones optimizados de Ubi-hTERT utilizada para construcciones derivadas con permutaciones al azar de INVAC-1. La primera línea es la secuencia de nucleótidos de codones optimizados de Ubi-hTERT (SEQ ID NO: 45) y la segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente (SEQ ID NO: 46). La secuencia de Ubi-hTERT se dividió en diez fragmentos que incluían las secuencias inmunogénicas. Estos fragmentos están delineados mediante símbolos (<...>). Las secuencias inmunogénicas se destacan en color gris. Las secuencias de hTERT entre fragmentos no inmunogénicos, que no están incluidas en las construcciones pUTScram y pUTInv, están subrayadas. Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5. Las anotaciones se proporcionan o bien encima o bien debajo de las secuencias. (*) Indica la delección de la secuencia VDD. "□": Codón de parada.

La **Figura 28** muestra la secuencia completa de nucleótidos del inserto pUTScram (3555 pb). Las características del vector se detallan en la leyenda de la Figura 20. El inserto con permutaciones al azar Ubi-hTERT (Secuencia Aleatoria, 1184 AA) comienza en la posición 923 (ATG que codifica el aminoácido M) y termina en la posición 4474 (ACT que codifica el aminoácido T) de pUTScram. Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de la proteína hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). El sitio catalítico se inactivó mediante una delección de 9 pb que codificaba VDD (* en la secuencia) y correspondiente a AA 867-869 de la telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; patente WO 2007/014740 e isoforma 1 de hTERT; Número de acceso NM_198253). La secuencia de hTERT se dividió en diez fragmentos inmunogénicos y se volvió a ensamblar en el siguiente orden específico: **fragmento 7** (210 pb), **fragmento 2** (201 pb), **fragmento 6** (312 pb), **fragmento 4** (117 pb), **fragmento 9** (576 pb), **fragmento 3** (120 pb), **fragmento 1** (258 pb), **fragmento 8** (477 pb), **fragmento 10** (516 pb), **fragmento 5** (303 pb). Estos 10 fragmentos estaban unidos por puentes con un conector 6xGly (conector G; 18 pb). Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal del inserto con permutaciones al azar de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5. La primera línea es la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 47); la segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente (SEQ ID NO: 48). Las anotaciones (véase también la Figura 20A) se proporciona o bien encima o bien debajo de las secuencias. "□": Codón de parada.

La **Figura 29** muestra la secuencia completa de nucleótidos del inserto pUTInv (3555 pb). Las características del vector se detallan en la leyenda de la Figura 20. El inserto con permutaciones al azar de Ubi-hTERT (Secuencia Invertida, 1184 AA) comienza en la posición 923 (ATG que codifica el aminoácido M) y termina en la posición 4474 (ACT que codifica el aminoácido T) de pUTInv. Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de la proteína hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido ubiquitina (76 AA). El sitio catalítico se inactivó mediante una delección de 9 pb que codificaba **VDD** (* en la secuencia) y correspondiente a AA 867-869 de la telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; patente WO 2007/014740; Número de acceso NM_198253). La secuencia de hTERT se dividió en diez fragmentos inmunogénicos y se volvió a ensamblar en el siguiente orden específico: **fragmento 10** (516 pb), **fragmento 9** (576 pb), **fragmento 8** (477 pb), **fragmento 7** (210 pb), **fragmento 6** (312 pb), **fragmento 5** (303 pb), **fragmento 4** (117 pb), **fragmento 3** (120 pb), **fragmento 2** (201 pb), **fragmento 1** (258 pb). Estos 10 fragmentos estaban unidos por puentes con un conector 6xGly (conector G; 18 pb). Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal del inserto con permutaciones al azar de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5. La primera línea es la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 49); la segunda línea es la secuencia de aminoácidos correspondiente (SEQ ID NO: 50). Las anotaciones (véase también la Figura 20B) se proporcionan o bien encima o bien debajo de las secuencias. "□": Codón de parada.

Descripción detallada de la invención:

Definiciones

El complejo de telomerasa consiste en un molde de ARN y componentes proteicos que incluyen una transcriptasa inversa, denominada **"Transcriptasa inversa de la telomerasa" (TERT)**, que es el principal determinante de la actividad de telomerasa. A menos que se especifique lo contrario, en la presente memoria descriptiva, el término "telomerasa" se refiere a TERT, incluida la telomerasa humana de tipo salvaje, o variantes de la misma. Se conoce la telomerasa humana de tipo salvaje (o hTERT) (número de acceso GeneBank NM_198253), y tiene una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2 (el ADNc se muestra como SEQ ID NO: 1)

La **"actividad catalítica de la telomerasa"** se refiere a la actividad de TERT como una transcriptasa inversa de telomerasa. El término "desprovista de actividad catalítica telomerasa" significa que la secuencia de ácido nucleico codifica una TERT mutante, que está inactiva.

En la presente invención, el término **"variante"** se refiere a variantes alélicas, variantes de empalme, mutantes naturales o artificiales, que son homólogos a la secuencia de referencia de hTERT. Dos secuencias de aminoácidos son "homólogas", "sustancialmente homólogas" o "sustancialmente similares" cuando uno o más residuos de aminoácidos se reemplazan por un residuo biológicamente similar o cuando más de 80% de los aminoácidos son idénticos, o más de aproximadamente 90%, preferiblemente más de aproximadamente 95%, son similares (funcionalmente idénticos). Preferiblemente, las secuencias similares u homólogas se identifican mediante alineamiento utilizando, por ejemplo, el programa de apilamiento GCG (Genetics Computer Group, Program Manual for the GCG Package, Version 7, Madison, Wisconsin), o cualquiera de los programas conocidos en la técnica (BLAST, FASTA, etc.).

En la presente descripción "sustituido" o "modificado", incluyen aquellos aminoácidos que han sido alterados o modificados a partir de aminoácidos naturales.

Las variantes incluyen proteínas que tienen una secuencia que difiere de la proteína hTERT de tipo salvaje en una o varias mutaciones (es decir, sustituciones, delecciones, inserciones), más preferiblemente una o varias sustituciones de un solo punto. La variante puede comprender sustituciones conservativas.

El término "sustitución conservativa" como se emplea en la presente memoria denota el reemplazo de un residuo de aminoácido por otro, sin alterar la conformación y función general del péptido, incluyendo, pero sin limitarse a, el reemplazo de un aminoácido por uno que tenga propiedades similares (tal como, por ejemplo, polaridad, potencial de enlace de hidrógeno, ácido, básico, forma, hidrófobo, aromático y similares). Los aminoácidos con propiedades similares son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la arginina, la histidina y la lisina son aminoácidos alcalinos hidrófilos y pueden ser intercambiables. De manera similar, la isoleucina, un aminoácido hidrófobo, puede reemplazarse por leucina, metionina o valina. Los aminoácidos hidrófilos neutros, que pueden sustituirse entre sí, incluyen asparagina, glutamina, serina y treonina.

El término "**polinucleótido aislado**" se define como un polinucleótido eliminado del entorno en el que aparece naturalmente. Por ejemplo, una molécula de ADN natural presente en el genoma de una bacteria viva o como parte de un banco de genes no está aislada, pero la misma molécula separada de la parte restante del genoma bacteriano, como resultado de, por ejemplo, un evento de clonación (amplificación) está aislada. Típicamente, una molécula de ADN aislada está libre de regiones de ADN (p. ej., regiones codificantes) a las que está inmediatamente contigua en el extremo 5' o 3', en el genoma natural. Tales polinucleótidos aislados pueden ser parte de un vector o una composición y aún se pueden definir como aislados porque dicho vector o composición no forman parte del entorno natural de tal polinucleótido.

El término "**inmunogénico**" significa que la composición o construcción a la que se refiere es capaz de inducir una respuesta inmunitaria tras la administración. "**Respuesta inmunitaria**" en un sujeto se refiere al desarrollo de una respuesta inmunitaria innata y adaptativa, incluyendo una respuesta inmunitaria humoral, una respuesta inmunitaria celular o una respuesta inmunitaria humoral y celular a un antígeno. Una "respuesta inmunitaria humoral" se refiere a aquella que está mediada por anticuerpos. Una "respuesta inmunitaria celular" es aquella mediada por linfocitos T. Esto incluye la producción de citocinas, quimiocinas y moléculas similares producidas por las células T activadas, los glóbulos blancos o ambos. Las respuestas inmunitarias se pueden determinar utilizando inmunoensayos y ensayos de neutralización convencionales para la detección de la respuesta inmunitaria humoral, que son conocidos en la técnica.

En el contexto de la invención, la respuesta inmunitaria preferiblemente abarca la estimulación o proliferación de células T CD8 y/o células T CD4 citotóxicas y se puede determinar utilizando inmunoensayos tales como el ensayo ELISpot, el ensayo de citotoxicidad *in vivo* o ensayo de unión con secreción de citocinas.

Como se emplea en la presente memoria, el término "**tratamiento**" o "**terapia**" o "**inmunoterapia**" se refiere a cualquiera de alivio, mejora y/o eliminación, reducción y/o estabilización (p. ej., ausencia de progreso a etapas más avanzadas) de un síntoma, así como el retraso en la progresión del tumor o displasia, o de un síntoma de los mismos. Por lo tanto, el término incluye el logro de una respuesta inmunitaria antitumoral eficaz observada en pacientes con cáncer.

Como se emplea en la presente memoria, el término "**prevención**" o "**prevenir**" se refiere al alivio, mejora y/o eliminación, reducción y/o estabilización (p. ej., ausencia de progreso a etapas más avanzadas) de un pródromo, es decir cualquier alteración o síntoma temprano (o conjunto de síntomas) que pueda indicar el inicio de una enfermedad antes de que aparezcan síntomas específicos.

Una célula que "**expresa en exceso telomerasa**" se refiere a una célula en un sujeto que, o bien expresa telomerasa, p. ej. tras mutación o infección, especialmente infección por un oncovirus, si bien generalmente no lo hace, en condiciones normales, o bien a una célula en un sujeto que expresa un mayor nivel de telomerasa (p. ej., tras mutación o infección), en comparación con las condiciones normales. Preferiblemente, la célula que expresa en exceso la telomerasa muestra un aumento de expresión de al menos 5%, al menos 10%, al menos 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o más.

El "**paciente**" o "**sujeto**" es típicamente un sujeto mamífero, preferiblemente un sujeto humano, de cualquier edad, sexo o gravedad de afección.

Construcciones de ácido nucleico

En la presente memoria se proporciona una construcción de ácido nucleico que está diseñada para permitir la vacunación en pacientes. La construcción de ácido nucleico codifica una telomerasa que carece de actividad catalítica telomerasa (que elimina su actividad inmortalizante) y carece de una señal de localización nucleolar (que impide su transferencia al nucleolo).

La construcción de ácido nucleico de la invención está en forma aislada.

El ácido nucleico puede ser ADN o ARN, pero es preferiblemente ADN, más preferiblemente ADN de doble hebra.

La construcción de ácido nucleico no es un ácido nucleico genómico natural, en particular no comprende intrones.

Como primer bloqueo de seguridad, la secuencia de hTERT carece de actividad catalítica telomerasa. En una realización preferida, la secuencia que codifica hTERT contiene mutaciones que proporcionan la inactivación de la actividad catalítica de la proteína hTERT. El término "mutación" incluye una sustitución de uno o varios aminoácidos, una delección de uno o varios aminoácidos y/o una inserción de uno o varios aminoácidos. En una realización particular, la proteína hTERT carece de actividad catalítica telomerasa por delección de al menos un aminoácido.

Preferiblemente, la secuencia muestra una delección, preferiblemente una delección de aminoácidos VDD, como se muestra en la Figura 2A. Preferiblemente, la proteína hTERT carece de actividad catalítica telomerasa por la única delección de los aminoácidos 867-869 (VDD). En otra realización particular, la proteína hTERT carece de actividad catalítica telomerasa mediante una delección adicional de 1 a 10, 11 o 12 aminoácidos aguas arriba y/o aguas abajo de los aminoácidos 867-869 (VDD).

Como segundo bloqueo de seguridad, la secuencia que codifica hTERT carece adicionalmente de la señal de localización nucleolar. Esta señal de localización nucleolar está correlacionada con la localización subcelular de hTERT y, por lo tanto, con su actividad enzimática. Preferiblemente, la proteína hTERT carece de una señal de localización nucleolar por delección de al menos los aminoácidos 1-23, más preferiblemente por delección de los aminoácidos 1-47.

Además de las modificaciones que proporcionan el primer y segundo bloqueos de seguridad, la proteína hTERT codificada por la construcción de ácido nucleico de la invención puede ser una secuencia de hTERT de tipo salvaje, o una secuencia variante.

En la lista de secuencias,

SEQ ID NO: 1 es el ADNc de hTERT de tipo salvaje;

SEQ ID NO: 2 es la secuencia de aminoácidos correspondiente;

SEQ ID NO: 3 es el ADNc de hTERT utilizado en el vector INVAC-1;

SEQ ID NO: 4 es la secuencia de aminoácidos correspondiente;

SEQ ID NO: 5 es el ADNc de hTERT utilizado en el vector pUTD10Not;

SEQ ID NO: 6 es la secuencia de aminoácidos correspondiente;

SEQ ID NO: 7 es el ADNc de hTERT utilizado en el vector pUTD10Cog;

SEQ ID NO: 8 es la secuencia de aminoácidos correspondiente;

SEQ ID NO: 9 es el ADNc de hTERT utilizado en el vector pUTD23Tyn;

SEQ ID NO: 10 es la secuencia de aminoácidos correspondiente.

En una realización preferida, la invención emplea un ácido nucleico que codifica una proteína de SEQ ID NO: 4.

Tal ácido nucleico puede comprender la secuencia SEQ ID NO: 3.

En otra realización, la construcción de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 6, 8 o 10, y preferiblemente comprende SEQ ID NO: 5, 7 o 9.

El ácido nucleico codifica adicionalmente una proteína que mejora el direccionamiento de la proteína hTERT al proteasoma (aumentando la presentación de clase I de los péptidos derivados). Más concretamente, la proteína hTERT se fusiona en el extremo N con tal proteína que mejora el direccionamiento de la proteína hTERT al proteasoma. Dicha proteína es ubiquitina o una proteína chaperona, concretamente calreticulina.

En la lista de secuencias

SEQ ID NO: 11 es la secuencia completa del plásmido INVAC-1 que incluye el ADNc de Ubi-hTERT codificada por INVAC-1;

SEQ ID NO: 12 es la secuencia de aminoácidos correspondiente de Ubi-hTERT codificada por INVAC-1;

SEQ ID NO: 13 es el ADNc del inserto pUTD10Not;

SEQ ID NO: 14 es la secuencia de aminoácidos correspondiente;

SEQ ID NO: 15 es el ADNc del inserto pUTD10Cog;

SEQ ID NO: 16 es la secuencia de aminoácidos correspondiente;

SEQ ID NO: 17 es el ADNc del inserto pUTD23Tyn;

La SEQ ID NO: 18 es la secuencia de aminoácidos correspondiente.

5 En una realización concreta, la construcción de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 12.
Más concretamente, la construcción de ácido nucleico puede comprender SEQ ID NO: 11 o los nucleótidos 3488 a 6961 de SEQ ID NO: 11.

En otra realización, la construcción de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 14, 16 o 18, y preferiblemente comprende SEQ ID NO: 13, 15 o 17.

10 ΔhTERT se refiere a la hTERT con los aminoácidos VDD 867-869 suprimidos.

Construcciones genéticas, composiciones inmunogénicas y administración.

15 Preferiblemente, el ácido nucleico es una construcción genética que comprende una secuencia de polinucleótidos como se define en la presente memoria, y secuencias reguladoras (tales como uno o varios promotores, potenciadores, terminadores adecuados, etc.) que permiten la expresión (p. ej., transcripción y traducción) del producto proteico en la célula anfitriona u organismo anfitrión.

20 Las construcciones genéticas de la invención pueden ser ADN o ARN, y son preferiblemente ADN de doble hebra. Las construcciones genéticas de la invención también pueden estar en una forma adecuada para la transformación de la célula anfitriona u organismo anfitrión previstos, en una forma adecuada para la integración en el ADN genómico de la célula anfitriona prevista o en una forma adecuada para la replicación, mantenimiento y/o herencia independientes en el organismo anfitrión previsto. Por ejemplo, las construcciones genéticas de la invención pueden estar en forma de un vector, tal como por ejemplo un plásmido, cósmido, YAC, un vector viral o transposón. En particular, el vector puede ser un vector de expresión, es decir, un vector que puede proporcionar expresión *in vitro* y/o *in vivo* (p. ej., en una célula anfitriona, organismo anfitrión y/o sistema de expresión adecuados).

25 En un aspecto preferido pero no limitante, una construcción genética de la invención comprende i) al menos un ácido nucleico de la invención; conectado operablemente a ii) uno o más elementos reguladores, tales como un promotor y opcionalmente un terminador adecuado; y opcionalmente también iii) uno o más elementos adicionales de construcciones genéticas tales como secuencias 3'- o 5'-UTR, secuencias líder, marcadores de selección, marcadores de expresión/genes informadores, y/o elementos que pueden facilitar o aumentar (la eficacia de) la transformación o la integración.

30 En una realización concreta, la construcción genética se puede preparar digiriendo el polímero de ácido nucleico con una endonucleasa de restricción y clonando en un plásmido que contiene un promotor tal como el promotor de SV40, el promotor de citomegalovirus (CMV) o el promotor del virus del sarcoma de Rous (RSV). En una realización preferida, las secuencias de ácido nucleico TERT se insertan en un plásmido de expresión NTC8685-eRNA41H (véase la Figura 1A).

35 Otros vectores incluyen vectores retrovirales, vectores de lentivirus, vectores de adenovirus, vectores de virus vaccinia, vectores de virus de viruela, vectores de virus de sarampión y vectores asociados a adenovirus.

40 Se pueden preparar composiciones que comprenden dicho ácido nucleico o vector. Las composiciones son inmunogénicas. Pueden comprender un portador o excipientes que son adecuados para la administración en seres humanos o mamíferos (es decir, no tóxicos y, si fuera necesario, estériles). Tales excipientes incluyen diluyentes líquidos, semisólidos o sólidos que sirven como vehículos farmacéuticos, agentes isotónicos, estabilizadores o cualquier coadyuvante. Los diluyentes pueden incluir agua, solución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos pueden incluir cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol y lactosa, entre otros. Los estabilizadores incluyen albúmina, entre otros. Cualquier coadyuvante conocido en la técnica se puede utilizar en la composición de la vacuna, incluidos los coadyuvantes con una base oleosa tales como coadyuvante completo de Freund y coadyuvante incompleto de Freund, coadyuvantes con una base de micolato, lipopolisacáridos bacterianos (LPS), peptidoglicanos, proteoglicanos, hidróxido de aluminio, saponina, DEAE-dextrano, aceites neutros (tales como el migliol), aceites vegetales (tales como aceite de araquís), polioles Pluronic®.

50 El ácido nucleico o la composición se pueden administrar directamente o se pueden empaquetar en liposomas o aplicar como recubrimiento sobre partículas de oro coloidal antes de la administración. Los mecanismos para empaquetar vacunas de ADN en liposomas son conocidas en la técnica, por ejemplo, de Murray, 1991. De manera similar, los mecanismos para aplicar como recubrimiento ADN desnudo sobre partículas de oro son ilustradas por Yang, 1992, y los mecanismos para la expresión de proteínas utilizando vectores virales se encuentran en Adolph. 1996.

Para la inmunización genética, las composiciones de vacuna se administran preferiblemente por vía intradérmica, subcutánea, intramuscular, en los tumores o en cualquier tipo de órganos linfoides mediante inyección o mediante bombardeo de partículas impulsadas por gas, y se suministran en una cantidad eficaz para estimular una respuesta inmunitaria en el organismo anfitrión. En una realización preferida de la presente invención, la administración comprende una etapa de electroporación, también designada en la presente memoria mediante el término "electrotransferencia", además de la etapa de inyección (como describen Mir 2008, Sardesai y Weiner 2011).

Las composiciones también se pueden administrar *ex vivo* a células linfoides o mieloides mediante transfección liposómica, bombardeo de partículas o transducción viral (incluidas las técnicas de co-cultivo). Las células tratadas se reintroducen a continuación en el sujeto que se vaya a inmunizar.

Si bien se entenderá que la cantidad de material necesaria dependerá de la inmunogenicidad de cada construcción individual y no se puede predecir *a priori*, el procedimiento de determinación de la dosificación apropiada para cualquier construcción dada es sencillo. Específicamente, se administra una serie de dosificaciones de tamaño creciente, comenzando en aproximadamente 5 a 30 µg, o preferiblemente 20-25 µg, hasta aproximadamente 500 µg a aproximadamente 5 mg, preferiblemente hasta 500-1500 µg, 500-1200 µg, o 500-1000 µg, por ejemplo, a la especie correspondiente y se observa la respuesta inmunitaria resultante, por ejemplo, detectando la respuesta inmunitaria celular mediante un ensayo Elispot para IFN γ (como se describe en la sección experimental), detectando las respuestas CTL utilizando un ensayo de lisis *in vivo* o un ensayo de liberación de cromo o detectando la respuesta Th (célula T auxiliar) utilizando un ensayo de liberación de citocinas.

En una realización preferida, el régimen de vacunación comprende de una a tres inyecciones, preferiblemente repetidas tres o cuatro semanas después.

En una realización concreta, el programa de vacunación puede estar compuesto por una o dos inyecciones seguidas tres o cuatro semanas después por al menos un ciclo de tres a cinco inyecciones.

En otra realización, una dosis de cebador consiste en una a tres inyecciones, seguidas de al menos una dosis de refuerzo cada año, o cada dos o años, por ejemplo.

Estos son solo ejemplos, y cualquier otro régimen de vacunación está incluido en la presente memoria.

Prevención o tratamiento de tumores.

El ácido nucleico o la composición inmunogénica como se describe anteriormente es útil en un método para prevenir o tratar un tumor en un paciente.

Se describe un método para prevenir o tratar un tumor en un paciente, cuyo método comprende administrar una cantidad eficaz de dicho ácido nucleico o composición inmunogénica en un paciente que lo necesite. Dicho ácido nucleico o composición inmunogénica se administra en una cantidad suficiente para inducir una respuesta inmunitaria en el paciente.

El tumor puede ser cualquier proliferación no deseada de células, en particular un tumor benigno o un tumor maligno, especialmente un cáncer.

El cáncer puede estar en cualquier etapa de desarrollo, incluida la etapa metastásica. El cáncer puede ser crónico o no crónico (agudo).

En una realización concreta, el tumor es un cáncer sólido o un carcinoma. Los ejemplos incluyen melanoma, tumor cerebral tal como glioblastoma, neuroblastoma y astrocitoma y carcinomas de vejiga, mama, cuello uterino, colon, pulmón, especialmente cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), páncreas, próstata, cáncer de cabeza y cuello, o cáncer de estómago.

En otra realización, el tumor puede ser un tumor líquido, p. ej. un tumor hematopoyético o leucemia, tal como una leucemia linfocítica crónica o aguda, leucemia mieloide crónica o aguda, linfoma que incluye enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, mieloma maligno.

En una realización concreta, el tratamiento según la invención se puede combinar con terapia convencional, que incluye quimioterapia, radioterapia o cirugía. También podrían ser útiles las combinaciones con moléculas inmunomoduladoras coadyuvantes tales como GM-CSF o una citocina tal como IL-2 o IL-12.

Las Figuras y Ejemplos ilustran la invención sin limitar su alcance.

Ejemplo I

Abreviaturas

AA: Aminoácido, **APC:** Célula Presentadora de Antígeno, **pb:** Par de bases, **CTL:** Linfocito T citotóxico, **CMV:** Citomegalovirus **ADN** Ácido desoxirribonucleico, **EP:** Electroporación, **HTLV-1:** Virus linfotrópico T humano tipo I,

HTERT: transcriptasa inversa de la telomerasa humana, **ID:** Intradérmica, **IM:** Intramuscular, **IV:** Intravenosa, **LTR:** Repeticiones Terminales Largas, **NoLS:** Secuencia de Localización Nucleolar, **PBMC:** Células Mononucleares de Sangre Periférica, **RIG-I:** Gen 1 inducible por Ácido Retinoico, **ARN** Ácido ribonucleico, **RT:** Temperatura ambiente, **RTA:** Actividad Relativa de Telomerasa, **SC:** Subcutánea, **TRAP:** Protocolo de Amplificación de Repetición Telomérica, **TERT:** Transcriptasa inversa de la telomerasa, **Ubi:** Ubiquitina **VDD:** Valina-Ácido Aspártico-Ácido Aspártico.

Materiales y Métodos

Vectores de ADN plasmídico

INVAC-1

INVAC-1 es un vector de expresión plasmídico de 7120 pb que codifica una construcción de fusión de ubiquitina-telomerasa humana de 1158 AA (Ubi-hTERT) correspondiente a una proteína de aproximadamente 127,4 kDa (Figuras 1A y 16). Puesto que se pretende que INVAC-1 sea utilizado en seres humanos, la actividad enzimática de la transcriptasa inversa de la telomerasa se ha desactivado por razones de seguridad. De hecho, la secuencia TERT humana codificada por INVAC-1 se modificó en el sitio catalítico mediante una delección de 9 pb que codifica tres aminoácidos valina-ácido aspártico-ácido aspártico (867-869 AA), abreviado a VDD en el código de una letra (Figura 2A). Además, la porción N-terminal de 47 AA de la proteína, que incluye la secuencia de localización nucleolar (NoLS) requerida para la localización subcelular de telomerasa (Yang, 2002), fue reemplazada por la secuencia codificante de ubiquitina (Ubi) (1-76 AA).

El transgén Ubi-hTERT se inserta en un esqueleto de vector validado por NTC (Nature Technology Corporation, Lincoln, Nebraska) que combina genes sintéticos cuidadosamente diseñados para una producción bacteriana de alto rendimiento, una mayor expresión en células de mamíferos y, en consecuencia, respuestas inmunitarias eficaces.

La expresión del gen diana es impulsada por un intrón-promotor quimérico optimizado (intrón sintético SV40-CMV-HTLV-1 R) compuesto por un promotor CMV y el inicio del exón 1, una secuencia HTLV-I R que contiene el sitio aceptor de empalme 5', un sitio aceptor 3' sintético basado en el intrón de β -globina de conejo, un potenciador de empalme del exón 2 que comprende un sitio de unión a proteína rica en serina-arginina (SR) para mejorar la exportación de ARN (Lavigne et al., 1993) y una secuencia de Kozak del exón 2 aguas arriba del codón de inicio para el gen de interés. El ADN entre el codón de parada y el terminador está limitado para reducir la posibilidad de expresión de péptidos crípticos o alteración de la expresión mediada por microARN no deseada.

Para mejorar las respuestas inmunitarias celulares, el vector codifica un agonista de ARN de doble hebra transcrito con ARN polimerasa III del activador de respuesta inmunitaria innata del gen-1 (RIG-I) inducible por ácido retinoico.

No se conoce ninguna característica de virulencia asociada con este vector. El plásmido no se replica en las células diana eucarióticas. El propio esqueleto vector no contiene secuencias codificantes de proteínas y no se han identificado marcos de lectura abiertos que codifiquen proteínas alternativas en el esqueleto del vector, por lo tanto, no hay un gen de resistencia a antibióticos. La selección de plásmidos se realiza por medio de un marcador seleccionable de sacarosa libre de antibióticos (RNA-OUT).

Síntesis y clonación de genes

El gen Ubi-hTERT fue sintetizado *de novo* a través de un procedimiento de ensamblaje de oligonucleótidos de 40 unidades solapantes (GeneCust, Luxemburgo). Se realizaron varios cambios de bases conservativos para eliminar los sitios de restricción y atenuar las secuencias ricas en GC. El inserto se clonó en el vector de expresión pcDNA3.1(+) (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.) utilizando sitios de clonación HindIII-XbaI y se verificó mediante secuenciación.

Subclonación del inserto Ubi-hTERT en el vector de clonación NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI

El inserto de ubiquitina-telomerasa se clonó en el vector de expresión NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI diseñado mediante NTC. Sin embargo, su mejor vector apropiado NTC8685-eRNA41H (ref. NTC-DV8685-41HLV) no tenía sitios de restricción compatibles con el inserto Ubi-hTERT. Por consiguiente, este vector se digirió con SalI y BglII y se ligó a un oligonucleótido sintético de doble hebra que incluye sitios de restricción apropiados para subclonar Ubi-hTERT, es decir, HindIII-XbaI:

SalI HindIII SmaI XbaI BglII

GTCTGACAAGCTTCCCGGGTCTAGAAGATCT (SEQ ID NO: 23)

Este nuevo vector (NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI) que ahora incluye el policonector anterior se verificó mediante digestión con enzimas de restricción y secuenciación utilizando cebadores pVAC5' (GCTTTTCTGCCAGGTGCTGA SEQ ID NO: 24) y pVAC3' (GCCAGAAGTCAGATGCTCAA SEQ ID NO: 25) que se reasocian con secuencias aguas

arriba y aguas abajo del sitio policonector respectivamente.

El vector NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI hecho a medida se digirió con HindIII y XbaI y el vector de 3631 pb se purificó en gel a partir del conector de 12 pb. La construcción pcDNA3.1-Ubi-hTERT se digirió con HindIII y XbaI y el inserto Ubi-hTERT de 3489 pb se transfirió mediante ligadura en el aceptor NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI para crear NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI-Ubi-hTERT (INVAC-1) (Figura 1A). El producto de ligación se transformó en el anfitrión de selección libre de antibióticos NTC4862 (DH5 α att λ ::P_{5/6} 6/6-RNA-IN- SacB, catR) (ref. NTC-DVU-CC1). El vector resultante se verificó mediante digestión con enzimas de restricción (Figura 1B): BglII/NotI = 3496, 3262, 220, bandas de 142 pb; NcoI = 4084, bandas de 3036 pb; HindIII/XbaI = 3631, bandas de 3489 pb, y los términos del inserto Ubi-hTERT se verificó mediante secuenciación de ADN con cebadores pVAC5' y pVAC3'. No se identificó ninguna alteración de nucleótidos.

Producción de plásmidos

INVAC-1 fue producido por primera vez por NTC en condiciones de calidad de grado de investigación. El ADN plasmídico se transformó en células *E. coli* NTC4862 utilizando electroporación. Las células se colocaron en placas y se propagaron en medios con sacarosa al 6% según lo recomendado por el fabricante (Manual de Instrucciones de NTC, junio de 2011). Después de la extracción, el ADN plasmídico se resuspendió en PBS 1X sin endotoxina a una concentración final de 2 mg/ml.

Posteriormente, INVAC-1 fue fabricado por Eurogentec (Bélgica) para el aumento a escala de GLP y GMP, y la producción de GMP. La secuenciación completa del plásmido INVAC-1 se llevó a cabo en este punto.

Derivados de INVAC-1

Todas las construcciones derivadas de INVAC-1 son plásmidos de ADN de doble hebra de aproximadamente 8,9 kb que codifican proteínas de fusión de ubiquitina-telomerasa humanas que son enzimáticamente inactivas (Figura 2A). Los transgenes Ubi-hTERT se insertaron en el vector pcDNA3.1(+) (5,4 kb) de Invitrogen derivado de pcDNA3.0 que fue diseñado para un alto nivel de expresiones transitorias y estables en células de mamífero. Este vector contiene el promotor de citomegalovirus humano inmediato-temprano (CMV-IE) y la señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (BHG-poliA) como secuencia de terminación.

pUTD10Not (abreviado como Δ 10Not)

La secuencia codificante de hTERT se encuentra entre el nucleótido 923 y 4492 pb de la cadena principal del plásmido pcDNA3.1. pUTD10Not codifica una proteína de fusión de ubiquitina-telomerasa humana de 1189 AA (Δ 10Not) correspondiente a aproximadamente 130,8 kDa de peso molecular (Figura 2A). Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). En el dominio del sitio catalítico, se introdujo una delección adicional entre los aminoácidos 912-913 (marca *; Figura 17), correspondiente a AA 860-869 (DGLLLRLVDD_ SEQ ID NO: 21) de hTERT de tipo salvaje (número de acceso NM_198253). Esta delección de 10 aminoácidos incluye la delección de 3 AA (Δ VDD) que da como resultado la inactivación de la actividad enzimática de hTERT y la eliminación de 7 AA adicionales aguas arriba de la secuencia VDD. Catorce aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5 (Figura 2A).

pUTD10Cog (abreviado como Δ 10Cog)

La secuencia codificante de hTERT se encuentra entre el nucleótido 923 y 4492 pb de la cadena principal del plásmido pcDNA3.1. pUTD10Cog codifica una proteína de fusión de ubiquitina-telomerasa humana de 1189 AA (Δ 10Cog) correspondiente a aproximadamente 130,8 kDa de peso molecular (Figura 2A). Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). En el dominio del sitio catalítico, se introdujo una delección adicional entre los aminoácidos 919-920 (marca *; Figura 18), correspondiente a AA 867-876 (VDDFLLVTPH_ SEQ ID NO: 22) de hTERT de tipo salvaje (número de acceso NM_198253). Esta delección de 10 aminoácidos incluye la delección de 3 AA (Δ VDD) que da como resultado la inactivación de la actividad enzimática de hTERT y la delección de 7 AA adicionales aguas abajo de la secuencia VDD. Catorce aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican para la etiqueta epitópica V5 (Figura 2A).

pUTD23Tyn (abreviado como Δ 23)

La secuencia codificante de hTERT se encuentra entre el nucleótido 923 y 4453 pb de la cadena principal del plásmido pcDNA3.1. pUTD23Tyn codifica una proteína de fusión ubiquitina-telomerasa humana de 1176 AA (Δ 23) correspondiente a aproximadamente 129,4 kDa de peso molecular (Figura 2A). Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). En el dominio del sitio catalítico, se introdujo una delección adicional entre los aminoácidos 909-910 (marca *; Figura 19), correspondiente a AA 857-879 (IRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTH_ SEQ ID NO: 26) de hTERT de tipo salvaje (número de acceso NM_198253). Esta delección de 23 aminoácidos incluye la delección de 3 AA (Δ VDD) que da como resultado la inactivación de la actividad enzimática hTERT y la delección de 10 AA adicionales aguas arriba y 10 AA aguas abajo de la secuencia VDD. Catorce aminoácidos en la secuencia C-terminal de Ubi-hTERT codifican la

etiqueta epitópica V5 (Figura 2A).

Síntesis y clonación de genes

Los genes se sintetizaron *de novo* como construcciones de fusión de ubiquitina-telomerasa a través de un procedimiento o de ensamblaje de oligonucleótidos de 40 unidades solapantes (GeneCust, Luxemburgo). La síntesis génica incluyó sitios de restricción flanqueantes únicos HindIII/XbaI para permitir la subclonación del gen en el sistema de expresión deseado. Los genes sintetizados se clonaron entre los sitios de restricción HindIII y XbaI del vector de expresión pcDNA3.1(+) (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.). Las secuencias de los plásmidos se verificaron mediante secuenciación utilizando cebadores PEGFP-N5' CGGTGGGAGGTCTATATAAG (SEQ ID NO: 27) y BGH CAGGGTCAAGGAAGGCAC (SEQ ID NO: 28).

Producción de plásmidos

Todos los derivados de INVAC-1 fueron transformados y producidos en células *E. coli* 5-alfa (fhuA2Δ (argF-lacZ) U169 phoA glnV44 Φ80 Δ (lacZ) M15 gyrA96 recA1 re1A1 endA1 thi-1 hsdR17) (Lucigen Corporation, Middleton, EE.UU., ref. 60602-2) por RD Biotech (Besançon, Francia). Se prepararon provisiones de partida concentradas de plásmido gigaprep sin endotoxina (2 mg/ml) resuspendidas en 1X PBS estéril. Los vectores se verificaron mediante mapeo de restricción (HindIII-XbaI; Figura 2B).

pTRIP-CMV-hTERT

pTRIP-CMV-hTERT codifica la proteína TERT humana (hTERT) de tipo salvaje 1132 AA (correspondiente a aproximadamente 124,5 kDa) con actividad catalítica. Este plásmido se utilizó como control positivo para ensayos *in vitro*. La construcción se describió por primera vez en la solicitud de patente WO 2007/014740. El pTRIP-CMV-hTERT se construyó subclonando primero un inserto de hTERT EcoRI-Sall derivado del plásmido pBABE-hygro-hTERT (amablemente proporcionado por el Dr. Robert Weinberg) en el vector pSP73 (Promega Life Science, Wisconsin, EE.UU.) para generar la construcción pSPhTERT. A continuación se insertó un fragmento BglII-Sall en el vector derivado de retrovirus pTRIP-CMV cortado con BamHI y XhoI para crear pTRIP-CMV-hTERT. La expresión de hTERT es impulsada por el promotor de citomegalovirus humano (CMV).

El plásmido pTRIP-CMV-hTERT fue transformado y producido en células *E. coli* 5-alfa (fhuA2Δ (argF-lacZ) U169 phoA glnV44 Φ80 Δ (lacZ) M15 gyrA96 recA1 re1A1 endA1 thi-1 hsdR17) (Lucigen Corporation, Middleton, EE.UU., ref. 60602-2) por RD Biotech (Besançon, Francia).

Se preparó una provisión de partida concentrada de plásmido gigaprep libre de endotoxina de 2 mg/ml resuspendida en 1X PBS estéril. El vector producido se verificó por digestión con enzimas de restricción (EcoRI + BamHI = bandas de 10286 + 2720 + 886 pb).

pNTC-hTERT

pNTC-hTERT codifica la proteína TERT humana de tipo salvaje 1132 AA (hTERT) con actividad catalítica (SEQ ID NO: 2). Este plásmido se utilizó para investigar la amplitud de las respuestas de células T específicas para hTERT *in vivo* en comparación con la construcción INVAC-1.

El inserto hTERT de tipo salvaje se sintetizó *de novo* con sitios de clonación HindIII-XbaI a través de un procedimiento de ensamblaje de oligonucleótidos solapantes (GenScript, EE.UU.). La construcción sintética (3417 pb) se clonó en pUC57 (2710 pb) mediante sitios HindIII y XbaI y a continuación se verificó mediante secuenciación utilizando cebadores M13/pUC (-20) y M13/pUC (-26) y mapeo de restricción (HindIII/XbaI). En consecuencia, el inserto hTERT se subclonó mediante NTC en el vector de clonación NTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI como se describió anteriormente (véase la construcción INVAC-1). El vector resultante pNTC-hTERT se verificó mediante digestión con enzimas de restricción (XmaI = bandas de 4375, 2041, 506, 120 pb; BamHI/XmaI = bandas de 6887, 155 pb; HindIII/XbaI = bandas de 3631, 3411 pb) y secuenciación de ADN utilizando cebadores pVAC5', pVAC3' y hTERTseq (5' GGCAAGTCCTACGTCCAGTG 3', SEQ ID NO: 44).

El plásmido pNTC-hTERT fue producido por NTC en condiciones de calidad de grado de investigación como se describió anteriormente para el plásmido INVAC-1.

pNTC-hTERT-ΔVDD

pNTC-hTERT-ΔVDD codifica la secuencia de TERT humana de 1129 AA (hTERT) modificada en el sitio catalítico mediante una delección de 9 pb que codifica Valina - Ácido Aspártico - Ácido Aspártico (ΔVDD; 867-869 AA). Este plásmido se utilizó para investigar la amplitud de las respuestas de células T específicas para hTERT *in vivo* en comparación con la construcción INVAC-1.

La secuencia de ADN de hTERT-ΔVDD es idéntica a la hTERT de tipo salvaje, excepto por una delección de 3 aminoácidos (ΔVDD). Se sintetizó un inserto de ADN de 167 pb que incluye el fragmento BamHI/XmaI de 152 pb de hTERT, pero con la delección ΔVDD y sitios de restricción EcoRV adicionales *de novo* mediante GenScript. Este fragmento sintético se clonó en el vector pUC57 (2710 pb) utilizando sitios de clonación EcoRV. El gen sintetizado se

verificó mediante secuenciación utilizando cebadores M13/pUC (-20) y M13/pUC (-26) y productos de la digestión con enzimas de restricción (BamHI/NdeI). Este vector se digirió a continuación utilizando sitios BamHI/XmnI y el fragmento Δ VDD-BamHI/XmnI se clonó en la región hTERT predigerida con BamHI/XmnI del vector pNTC-hTERT (bandas de 6887, 155 pb). El vector resultante pNTC-hTERT- Δ VDD se verificó mediante digestión con enzimas de restricción (XmaI = bandas de 4375, 2032, 506, 120 pb; BamHI/XmnI = bandas de 6887, 146 pb; HindIII/XbaI = bandas de 3631, 3402 pb) y secuenciación de ADN utilizando cebadores pVAC5', pVAC3' y hTERTseq (5' GGCAAGTCCTACGTCCAGTG 3' SEQ ID NO: 44).

pNTC-hTERT- Δ VDD fue producido por NTC como se describió anteriormente para las construcciones de INVAC-1 y pNTC-hTERT.

Cultivos celulares y transfecciones transitorias para ensayos de transferencia Western y TRAP

Se cultivaron líneas celulares CrFK (riñón felino de Crandell Rees), HEK293T (riñón embrionario humano) y HeLa (adenocarcinoma cervical humano de Henrietta Lacks) en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) con un suplemento de suero de ternera fetal inactivado por calor al 10% (PAA, Velizy-Villacoublay, Francia) y penicilina/estreptomicina al 1% (Life Technologies, Saint-Aubin, Francia).

La línea celular QT6 (fibrosarcoma japonés de codorniz) se cultivó en F10 de Ham (Eurobio, Courtaboeuf, Francia) con un suplemento de suero de ternera fetal inactivado por calor (PAA) al 10%, penicilina/estreptomicina al 1% (Life Technologies), suero de pollo al 1% (PAA), L-glutamina 10 mM (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.), caldo de triptosa al 0,5% (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.).

Las células se cultivaron como monocapas en matraces de 75 cm² a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂. Las células se cultivaron hasta 70-80% de confluencia el día de la transfección. Para ensayos de transferencia Western, se sembraron 5x10⁵ células en placas de cultivo de tejidos de seis pocillos y se incubaron durante 24 h. Para los ensayos TRAP, se sembraron 7x10⁵ células en placas de cultivo de tejidos de seis pocillos y se incubaron durante 24 h.

Las construcciones de INVAC-1 y derivadas de INVAC-1 se transfectaron en células diana utilizando el reactivo de transfección de polímero catiónico jetPrime de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Polyplus-transfection Inc., Francia). Las células transfectadas con el plásmido pTRIP-CMV-hTERT se utilizaron como control positivo y las células no transfectadas o las células transfectadas con plásmido vacío pNTC8685-eRNA41H como control negativo. Los medios de transfección se eliminaron 4 horas más tarde y se reemplazaron por 2 ml de medio de cultivo DMEM. Después del tiempo apropiado de transfección: 18-96 horas para los ensayos de transferencia Western y 24 horas para los ensayos TRAP, las células se recolectaron y analizaron para determinar la expresión y actividad de la telomerasa.

Transferencia Western

Para los análisis de transferencia Western, se lisaron células CrFK y HEK293T transfectadas sobre hielo durante 10-20 minutos en tampón RIPA (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.) con un suplemento de cóctel inhibidor de proteasa (Roche Diagnostic, Indianápolis, EE.UU.). Los productos lisados se aclararon por centrifugación a 14.000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Se recogieron los sobrenadantes y se midió la concentración de proteína utilizando el ensayo colorimétrico de Bradford. Las muestras de proteínas se desnaturalizaron 5 minutos a 95°C, se separaron en geles Bis-Tris al 4-12% de Nu-PAGE® Novex (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.) y se electrotransfirieron sobre membranas de PVDF (pila de transferencia iBlot®, Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.) utilizando el dispositivo iBlot® (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.). Para determinar el peso molecular se utilizaron Protein Ladder Novex® Sharp Prestained Ladder (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.). Las membranas se cortaron aproximadamente a 60 kDa y se bloquearon con 1X PBS, Tween®20 al 0,05%, leche al 3%. La parte superior de la membrana se sondeó con un anticuerpo monoclonal de conejo anti-hTERT (Abcam, Cambridge, Reino Unido) diluido a 1/2000 en tampón de bloqueo o un anticuerpo monoclonal de ratón anti-V5 (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.) diluido a 1/5000. La parte inferior de la membrana se sondeó con un anticuerpo monoclonal de ratón anti- β -actina (Sigma Aldrich SARL, Saint-Quentin Fallavier, Francia) diluido a 1/5000. Finalmente, las proteínas relevantes se visualizaron mediante tinción con el anticuerpo conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) secundario apropiado durante 1 hora a temperatura ambiente - anti-anticuerpo de ratón ligado a HRP (GE Healthcare, Vélizy, Francia) diluido a 1/5000 o anti-anticuerpo de conejo ligado a HRP (Cell Signaling, Danvers, EE.UU.) diluido a 1/1000 en tampón de bloqueo. Las señales de inmunotransferencia se detectaron mediante un ensayo de quimioluminiscencia mejorado utilizando el kit de reactivo de sustrato quimioluminiscente HRP ECL. Las películas y el casete correspondiente se adquirieron a GE Healthcare (Buckinghamshire, Reino Unido).

Ensayo TRAP

La actividad de la telomerasa se evaluó mediante el enfoque del Protocolo de Amplificación de Repetición Telomérica (TRAP) (Kim et al. 1994) utilizando el kit TeloTAGGG Telomerase PCR ELISAPLUS (Roche Diagnostic GmbH Mannheim, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Veinticuatro horas después de la transfección como se describió anteriormente, se cosecharon células CrFK. Las células se lavaron con 1X PBS, seguido de centrifugación a 1.600 rpm durante 5 minutos a 4°C. Las células se resuspendieron en 0,2 ml de tampón

de lisis y se incubaron sobre hielo durante 30 minutos. Los productos lisados se aclararon por centrifugación a 14.000 rpm, 20 min a 4-8°C. Se recogieron los sobrenadantes y se midió la concentración de proteína utilizando el ensayo colorimétrico de Bradford. Los sobrenadantes se utilizaron para la elongación mediada por telomerasa de secuencias teloméricas y los productos se amplificaron por PCR utilizando cebadores biotinilados. Cada sobrenadante celular se dividió previamente en dos partes alícuotas antes de realizar el ensayo: una se utilizó para preparar un control negativo por inactivación por calor de la telomerasa durante 10 minutos a 85°C, la otra se utilizó para evaluar la elongación mediada por telomerasa de secuencias teloméricas. Además, se amplificó simultáneamente un patrón interno de 216 pb de longitud, presente en la mezcla de reacción, para excluir resultados falsos negativos debido a los inhibidores de la ADN-polimerasa Taq que pudieran estar presentes en los lisados. Se utilizó tampón de lisis como control negativo. Todas las mezclas de reacción se incubaron 20 minutos a 25°C y a continuación 5 minutos a 94°C. Los productos de telomerasa se amplificaron en 30 ciclos de PCR: 94°C durante 30 segundos, 50°C durante 30 segundos, 72°C durante 90 segundos, terminaron en 1 ciclo a 72°C durante 10 minutos y se mantuvieron a 4°C.

Se incubaron 2,5 µL de productos de amplificación por PCR durante 10 minutos a rt con el reactivo de desnaturalización proporcionado en el kit. Después de la incubación, se añadieron 100 µL de tampón de hibridación por pocillo. Cada solución se mezcló y se transfirieron 100 µL a una microplaca previamente recubierta con estreptavidina y se incubaron durante 2 horas a 37°C con agitación suave (300 rpm). A continuación, los pocillos se lavaron con un tampón de lavado y se incubaron con un anticuerpo ligado a peroxidasa de rábano picante (HRP) anti-digoxigenina (1/50) durante 30 minutos a rt. El sustrato de HRP (TMB) se añadió a continuación durante 15 minutos a temperatura ambiente para la medición colorimétrica. La reacción se detuvo con el reactivo de parada de ELISA.

El nivel de actividad de telomerasa en cada muestra se determinó comparando la señal de la muestra con la señal obtenida utilizando una cantidad conocida de molde de control positivo (ADN molde con la misma secuencia que un producto de telomerasa con ocho repeticiones teloméricas). Los valores de absorbancia fueron referidos mediante la lectura de A₄₅₀ frente a blanco (longitud de onda de referencia A₆₉₀ nm). La actividad relativa de la telomerasa (RTA) se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$RTA = [(A_S - A_{S0}) / A_{S,IS}] / [(A_{TS8} - A_{TS8,0}) / A_{TS8,IS}] \times 100$$

dónde:

A_S es la absorbancia de la muestra,

A_{S0}, absorbancia de la muestra tratada térmicamente,

A_{S,IS}, absorbancia del patrón interno (IS) de la muestra,

A_{TS8}, absorbancia del molde de control (TS8),

A_{TS8,0}, absorbancia del tampón de lisis,

A_{TS8,IS}, absorbancia del patrón interno (IS) del molde de control (TS8).

Inmunofluorescencia

Se sembraron células CrFK, HEK293T, HeLa y QT6 en portaobjetos de cámara Lab-Tek® de 8 pocillos (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.) a 2x10⁴ células/pocillo en 200 µL de medio de cultivo y se incubaron durante la noche a 37°C, 5% de CO₂. Al día siguiente, se desechó el medio de cultivo y se añadieron 200 µL de medio de nueva aportación. Se añadieron 10 µL de una solución de mezcla que contenía 0,2 µg de INVAC-1, pTRIP-CMV-hTERT o el plásmido de control vacío pNTC8685-eRNA41H y 0,5 µL de Eugene HD (Promega France, Charbonnières-les-bains, France) en OptiMEM (Life Technologies, Saint-Aubin, Francia) a la cámara correspondiente. Se utilizaron 2x10⁴ células no tratadas por cámara como control negativo. Los portaobjetos de cámara se incubaron durante 24 y 48 horas a 37°C, 5% de CO₂. Las células transfectadas se lavaron cuidadosamente con 1X PBS y se añadieron 200 µL de PFA al 2% a cada pocillo durante 10 minutos a 4°C para fijar y permeabilizar las células. A continuación, los pocillos se lavaron dos veces con 1X PBS con Tween®20 al 0,05% y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente con 200 µL de solución de bloqueo (Triton X100 al 0,5%; Sigma-Aldrich, BSA al 3%; Sigma-Aldrich, suero de cabra al 10%; Invitrogen, en 1X PBS con Tween®20 al 0,05%). El anticuerpo monoclonal de conejo anti-hTERT primario (Abcam, Cambridge, Reino Unido) diluido a 1/100 en tampón de bloqueo se aplicó sobre las células durante 1,5 horas a temperatura ambiente bajo agitación. Después de tres lavados en 1X PBS con Tween®20 al 0,05%, se aplicó un anticuerpo secundario de cabra anti-conejo-Alexa Fluor 488® (Life Technologies, Saint-Aubin, Francia) diluido en solución de bloqueo (1/500) durante 45 minutos a temperatura ambiente bajo agitación. Los pocillos se lavaron tres veces con 1X PBS con Tween®20 al 0,05% y se montaron en medio de montaje VECTASHIELD® que contenía DAPI (Vector Laboratories, Cambridgeshire, Reino Unido). Los cubreobjetos se analizaron bajo un microscopio de fluorescencia (Axio Observer Z1, Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Alemania) equipado con un sistema de procesamiento y análisis de imágenes (Axiovision, Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Alemania).

Ratones

Se adquirieron ratones hembra C57BL/6 (6-8 semanas de edad) de los laboratorios Janvier (Saint-Berthevin, Francia).

Se utilizaron dos cepas de ratones transgénicos: HLA-B*0702 y HLA-A2/DR1.

5 Los ratones transgénicos para HLA-B*0702 expresan los dominios $\alpha 1$ - $\alpha 2$ de HLA-B*0702 humano de la molécula y el dominio $\alpha 3$ murino de la molécula H2D. Estos ratones no expresan las moléculas H2-D^b y H2-K^b (Rohrlich et al., 2003).

10 Los ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 expresan los dominios $\alpha 1$ - $\alpha 2$ de HLA-A*0201 humano, el dominio $\alpha 3$ murino de la molécula H2D y la $\beta 2$ -microglobulina humana. Por otra parte, estos ratones transgénicos expresan las moléculas HLA-DRB1*0101 y HLA-DRA*0101 humanas. Estos tienen los genes H2-D^b, H2-K^b e IA^b murinos inactivados (Pajot et al., 2004).

15 Ambas cepas de ratones transgénicos se utilizaron entre las 6 y las 10 semanas de edad y fueron suministradas por el Instituto Pasteur de París. Los animales fueron alojados en la instalación de animales libres de patógenos específicos del Instituto Pasteur (Animal Facilities Lwoff núm. 22, número de acuerdo B 75 15-07). Antes de las inmunizaciones intradérmicas (ID), intramusculares (IM) o subcutáneas (SC) o la inyección intravenosa (IV), los ratones se anestesiaron con una solución mixta de xilacina al 2% (Rompun, Bayer Santé, Loos, Francia) y ketamina al 8% (Imalgen 1000, Merial, Lyon, Francia) en 1X solución salina tamponada con fosfato (1X PBS, Life Technologies, Saint-Aubin, Francia) a través de la ruta intraperitoneal (IP) según el peso individual del animal y la duración de la anestesia. Todos los animales fueron manejados en estricta conformidad con la buena práctica animal y cumplieron con la experimentación local con animales (Directiva 2010/63/UE).

Péptidos hTERT

25 Los péptidos de hTERT restringidos a HLA-B*0702, HLA-A*0201 o HLA-DR se describieron previamente (véanse las referencias en la Tabla 1). Los péptidos de hTERT restringidos a H2-D^b y H2-K^b fueron determinados mediante predicción de epítomos *in silico* para unir moléculas de MHC de clase I de ratón utilizando cuatro algoritmos disponibles en línea: Syfpeithi (<http://www.syfpeithi.de/>), Bimas (<http://www.bimas.cit.nih.gov/>), NetMHCpan y SMM (<http://tools.immuneepitope.org/main/>). Todos los péptidos sintéticos se adquirieron liofilizados (>90% de pureza) de Proimmune (Oxford, Reino Unido). Los péptidos liofilizados se disolvieron en agua estéril a 2 mg/ml y se almacenaron a -20°C antes de su uso. Los detalles de las secuencias peptídicas y la restricción de MHC se muestran en la Tabla 1.

30 **Tabla 1: péptidos de hTERT y restricción de MHC**

Código de péptido (referencia)	Secuencia	Restricción de MHC	Cepa de Ratón
277 (Adotevi et al., 2006)	RPAEEATSL (SEQ ID NO: 30)	HLA-B*0702	HLA-B7 transgénica
351 (Adotevi et al., 2006)	RPSLTGARRL (SEQ ID NO: 29)		
1123 (Cortez-Gonzalez et al., 2006)	LPSDFKIL (SEQ ID NO: 31)		
540 (Firat et al., 2002)	ILAKFLHWL (SEQ ID NO: 32)	HLA-A*0201	HLA-A2/DR1 transgénica
Y572 (Firat et al., 2002)	YLFFYRKSV (SEQ ID NO: 33)		

Código de péptido (referencia)	Secuencia	Restricción de MHC	Cepa de Ratón
Y988 (Firat et al., 2002)	YLQVNSLQTV (SEQ ID NO: 34)		
UCP2.1 (Dosset et al., 2012)	SVWSKLQSI (SEQ ID NO: 35)	HLA-A*0201	
UCP4.1 (Dosset et al., 2012)	SLCYSILKA (SEC ID NO: 36)	HLA-A*0201	
UCP2 (Godet et al., 2012)	KSVWSKLQSIGIRQH (SEQ ID NO: 37)		
UCP3 (Godet et al., 2012)	GTAFVQMPAHGLFPW (SEQ ID NO: 38)	HLA-DR	HLA-A2/DR1 transgénica
UCP4 (Godet et al., 2012)	SLCYSILKAKNAGMS (SEC ID NO: 39)		
429	RPIVNMDYV (SEC ID NO: 40)	H2D ^b	C57/BL6J
660	HAQCPYGVV (SEQ ID NO: 41)	H2K ^b	C57/B16J
1034	QAYRFHACVL (SEQ ID NO: 42)	H2K ^b	C57/B16J
1021	QTVCTINIKI (SEC ID NO: 43)	H2D ^b	C57/B16J

Biblioteca de péptidos de hTERT

Los péptidos de hTERT liofilizados (pureza >70%) se adquirieron de GenScript (EE.UU.). Este conjunto está compuesto por 269 péptidos de 15 AA con solapamiento de 11 AA y recuperación de la secuencia proteica completa de hTERT de INVAC-1. Cada péptido se resuspendió en agua destilada a 2 mg/ml antes de su uso de acuerdo con las recomendaciones del proveedor y se mantuvo congelado a -20°C antes de su uso. Se utilizaron veintisiete reservas de 9-10 péptidos solapantes de hTERT (Tabla 2) para escrutar la amplitud de la respuesta de células T específicas para hTERT en un ensayo ELISPOT con IFN γ .

Tabla 2: Reservas de péptidos solapantes de hTERT

P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	P26	P27
1	11	21	31	41	51	61	71	81	91	101	111	121	131	141	151	161	171	181	191	201	211	221	231	241	251	261
2	12	22	32	42	52	62	72	82	92	102	112	122	132	142	152	162	172	182	192	202	212	222	232	242	252	262
3	13	23	33	43	53	63	73	83	93	103	113	123	133	143	153	163	173	183	193	203	213	223	233	243	253	263
4	14	24	34	44	54	64	74	84	94	104	114	124	134	144	154	164	174	184	194	204	214	224	234	244	254	264
5	15	25	35	45	55	65	75	85	95	105	115	125	135	145	155	165	175	185	195	205	215	225	235	245	255	265
6	16	26	36	46	56	66	76	86	96	106	116	126	136	146	156	166	176	186	196	206	216	226	236	246	256	266
7	17	27	37	47	57	67	77	87	97	107	117	127	137	147	157	167	177	187	197	207	217	227	237	247	257	267
8	18	28	38	48	58	68	78	88	98	108	118	128	138	148	158	168	178	188	198	208	218	228	238	248	258	268
9	19	29	39	49	59	69	79	89	99	109	119	129	139	149	159	169	179	189	199	209	219	229	239	249	259	269
10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260	

Línea celular tumoral

La línea celular tumoral Sarc-2 utilizada para evaluar el efecto antitumoral mediado por INVAC-1 se obtuvo de un fibrosarcoma espontáneo de un ratón HLA-A2/DR3. La masa tumoral se disoció en condiciones estériles y se generó una suspensión celular primaria. Se demostró que la línea celular expresaba la molécula HLA-A*0201. Las células se cultivaron en medio RPMI glutamax (Life Technologies) con un suplemento de FBS al 10% (Life Technologies) y penicilina/estreptomicina al 1%.

Inmunización de ratón y procedimiento de electroporación *in vivo*

La inmunización intradérmica (ID) se realizó en la parte inferior del flanco del ratón con jeringas de insulina y agujas específicas (U-100, 29GX1/2"-0,33x12 mm, Terumo, Bélgica) después del afeitado. No se observó eritema después del afeitado, durante y después de los procedimientos de inmunización. Se realizó inmunización intramuscular (IM) en el músculo *tibialis cranealis* anterior, utilizando también jeringas de insulina y agujas específicas U-100. La inmunización subcutánea (SC) se realizó en la base de la cola, también con jeringas de insulina y agujas específicas U-100. Cada animal recibió una inyección de plásmido de cebado IM, ID o SC (INVAC-1, NTC, pUTD10Not, pUTD10Cog o pUTD23Tyn) correspondiente a 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 o 1200 µg de ADN o 1X PBS, dependiendo del experimento. Según el régimen de vacunación, los ratones podrían recibir una segunda o tercera inyección similar de ADN o 1X PBS.

La electroporación de ADN *in vivo* se realizó utilizando el sistema y el soporte lógico de electroporación CLINIPORATOR® 2 (IGEA, Italia) equipado con electrodos de placa (P-30-8G, IGEA). Inmediatamente después de la vacunación ID o SC, se realizó un pliegue de la piel en el sitio de inyección, completamente cubierto con gel conductor (Labo FH, gel de contacto azul, NM Médical, Francia) y se colocó entre los electrodos de la placa. Se aplicaron dos pulsos de diferentes voltajes (HV-LV): HV: 1250 V/cm, 1 Hz, 100 µs; 1 pulso, 1000 ms de descanso; LV: 180 V/cm, 1 Hz, 400 ms, 1 pulso. Directamente después de la inyección IM, cada músculo se cubrió por completo con gel conductor y se colocó entre los electrodos de la placa. Se aplicaron dos pulsos de diferentes voltajes (HV-LV): HV: 750 V/cm, 1 Hz, 100 µs; 1 pulso, 1000 ms de descanso; LV: 100 V/cm, 1 Hz, 400 ms, 1 pulso.

En ciertos experimentos, 18 horas antes de la vacunación de ADN o concomitantemente a la administración de INVAC-1, se inyectaron a los ratones ID 0,5 µg de GM-CSF murino o 1 ng de IL-12 murina en un volumen final de 25 µl/flanco. Ambas citocinas se adquirieron compraron de Miltenyi (Alemania).

Ensayo ELIsport

Se tomaron bazos de ratones inmunizados y se machacaron, y las suspensiones celulares se filtraron a través de una malla de nailon de 70 mm (Cell Strainer, BD Biosciences, Francia) para aislar los esplenocitos. La sangre de ratones inmunizados se recogió mediante punción retroorbital bajo anestesia para aislar células sanguíneas mononucleares periféricas (PBMC). Los esplenocitos o PBMC se purificaron utilizando Ficoll (medio de separación de linfocitos, Eurobio, Francia). Los linfocitos purificados con Ficoll de sangre o bazo se numeraron utilizando el contador Cellometer® Auto T4 Plus (Ozyme, Francia).

Las microplacas de PVDF ELIsport (kit IFNγ Elispot, Diaclone, Abcys, Francia, ref. 862.031.010P) se recubrieron durante la noche con anticuerpo de captura (anti-IFN-γ de ratón) y se bloquearon con 1X PBS-leche al 2%. Se añadieron suspensiones celulares a las placas por triplicado a 2×10^5 células/pocillo y se estimularon con 5 µg/ml de péptidos derivados de hTERT restringidos para HLA o H2 con medio de cultivo sin suero o con PMA-ionomicina (respectivamente 0,1 µM y 1 µM). Después de 19 horas, se revelaron manchas con el anticuerpo de detección conjugado con biotina seguido de estreptavidina-AP y solución de sustrato BCIP/NBT. Las manchas se contaron utilizando el contador y el soporte lógico Immunospot ELIsport (CTL, Alemania). Cuando se analizan los datos de ELIsport, un animal vacunado se considera un respondedor si la frecuencia de las manchas, correspondiente a las células T CD8 o CD4 específicas para hTERT, es superior al valor de corte de 10 manchas.

Ensayo de citotoxicidad *in vivo*

Para la preparación de las células diana, los esplenocitos de ratones HLA-B7 no sometidos a tratamiento previo se marcaron con una solución de PBS 1X que contenía concentraciones altas (5 µM), medias (1 µM) o bajas (0,2 µM) de CFSE (kit trazador de células CFDA-SE Vybrant; Life Technologies, Saint-Aubin, Francia). Los esplenocitos no sometidos a tratamiento previo marcados con CFSE 5 y 1 µM se pulsaron respectivamente con 2 péptidos HLA-B7 diferentes, 1123 y 351 a 5 µg/ml durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Los esplenocitos de baja marca de CFSE se dejaron sin pulsar. Cada ratón previamente vacunado con INVAC-1 o 1X PBS recibió, el día 14 después del cebado o el día 10 después de la inyección de refuerzo, 10^7 células marcadas con CFSE de una mezcla que contenía un número igual de células de cada fracción a través de la vena retroorbital. Después de 15-18 horas, las suspensiones unicelulares de bazos se analizaron por citometría de flujo utilizando el citómetro de flujo MACSQUANT® (Miltenyi, Alemania).

La desaparición de las células pulsadas con péptidos se determinó comparando la proporción de poblaciones pulsadas (intensidad de fluorescencia de CFSE alta/media) con las no pulsadas (intensidad de fluorescencia de CFSE baja) en ratones inmunizados con INVAC-1 frente ratones de control (1X PBS). El porcentaje de destrucción

específica por animal de prueba se estableció de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$[1 - [\text{media} (\text{CFSE}^{\text{baja}}\text{PBS}/\text{CFSE}^{\text{alta/media}}\text{PBS})/(\text{CFSE}^{\text{baja}}\text{pDNA}/\text{CFSE}^{\text{alta/media}}\text{pDNA})]] \times 100.$$

Ensayo de unión a citocinas (CBA)

Se cultivaron 24 h a 37°C esplenocitos (6×10^5 células) de ratones HLA-A2/DR1 vacunados con péptidos derivados de hTERT restringidos para HLA-DR (578, 904 y 1029) a 5 µg/ml. Los sobrenadantes del cultivo de citocinas se recuperaron y se mantuvieron congelados a -20°C hasta la prueba. Se utilizó un kit comercialmente disponible, el kit Cytometric Beads Array para Th1/Th2/Th17 de ratón (CBA, BD biosciences) para cuantificar, respectivamente, la concentración de IL-2, IFN γ , TNF α , IL-4, IL-6, IL-17a e IL-10. El inmunoensayo CBA se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La adquisición de citometría de flujo se realizó utilizando el citómetro de flujo FACScan LSRII (BD Biosciences); los análisis se realizaron con el soporte lógico FCAP Array TM versión 3.0 (BD Biosciences).

Efecto antitumoral *in vivo*

Para los experimentos de vacunación terapéutica, a ratones HLA-A2/DR1 de 24 semanas se les injertaron subcutáneamente $2 \cdot 10^4$ células Sarc-2 en el flanco abdominal derecho. A continuación, los animales se inmunizaron con vacunas de ADN *vía* ruta ID seguido de electroporación como se describió anteriormente los días 4, 21 y 35 después del injerto. Cada 2 a 3 días, se realizó el seguimiento del crecimiento tumoral utilizando un calibre. El peso del ratón también se controló cada 2 a 3 días. Los ratones se sacrificaron cuando los tumores alcanzaron los 2000 mm³. Se siguieron las pautas para el bienestar y el uso de animales en la investigación del cáncer, especialmente para el seguimiento de los signos clínicos que requerían una intervención inmediata (Workman *et al.* 2010, BJC). El volumen tumoral se calculó utilizando la siguiente fórmula: $(L \cdot l^2)/2$. Los resultados se expresan en mm³ (L = longitud; l = anchura).

Para la vacunación profiláctica, los ratones HLA-A2/DR1 de 5-10 semanas de edad se vacunaron dos veces (días 0 y 21) como se describió anteriormente. Treinta y dos días después de la última inmunización, a los animales se les injertaron subcutáneamente $5 \cdot 10^4$ células Sarc-2. Se realizó el seguimiento del peso de los ratones y el crecimiento tumoral cada 2 a 3 días como se describió anteriormente. Los ratones se sacrificaron cuando los tumores alcanzaron los 2000 mm³.

El criterio de retraso del crecimiento tumoral (TGD) se utilizó para evaluar la eficacia de la vacuna. Este compara el tiempo para alcanzar un volumen tumoral definido (500 mm³) en grupos de control y tratados.

Análisis estadístico y manejo de datos.

El soporte lógico Prism-5 se utilizó para el manejo de datos, el análisis y las representaciones gráficas. Los datos se representan como la media $\pm$ desviación típica o como la mediana. Los análisis estadísticos de los ensayos ELISpot se realizaron utilizando un análisis no paramétrico de Mann Whitney y/o Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. La significación se estableció en el valor $p < 0,05$.

Resultados

Caracterización y análisis de secuencia del ADN plasmídico de INVAC-1

El transgén Ubi-hTERT se insertó con éxito en pNTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI como se muestra mediante mapeo de restricción utilizando diversas endonucleasas de restricción (Figuras 1A y 1B). El vector resultante pNTC8685-eRNA41H-HindIII-XbaI-Ubi-hTERT (INVAC-1) también fue secuenciado parcialmente en las uniones utilizando cebadores pVAC5' y pVAC3'. Las secuencias confirmaron que el procedimiento de clonación se había logrado satisfactoriamente.

La secuenciación completa del plásmido INVAC-1 se realizó en el material plasmídico de Master Cell Bank (SEQ ID NO: 11 y Figura 16). El resultado coincidió con la secuencia esperada, excepto para una base. De hecho, esta secuenciación completa identificó una mutación silenciosa (G6064C; glicina GGG a glicina GGC) en comparación con el gen de la telomerasa humana archivado en las bases de datos (número de acceso NM_198253). Esta mutación silenciosa podría considerarse como una firma adicional de INVAC-1 ya que este cambio de base destruye un sitio único BamHI (GGATCC a GCATCC) presente en el gen de la telomerasa de tipo salvaje.

Caracterización y análisis de secuencia de construcciones derivadas de INVAC-1

Se sintetizaron y clonaron tres plásmidos de ADN derivado de INVAC-1 que expresaban diferentes proteínas de fusión Ubi-hTERT (Figura 2A). Todos los transgenes de Ubi-hTERT se ligaron con éxito en el vector de expresión pcDNA3.1(+) de Invitrogen como se muestra por digestión HindIII y XbaI y electroforesis (Figura 2B). Los insertos y las uniones se secuenciaron utilizando cebadores PEGFP-N5' y BGH que coinciden con la secuencia del vector que flanquea el inserto de ADN. Los resultados de la secuencia confirmaron que los transgenes se habían clonado correctamente (SEQ ID NO: 13, 15, 17 y Figuras 17 a 19).

INVAC-1 y las proteínas derivadas de INVAC-1 se expresan correctamente *in vitro* y son degradadas por la ruta del proteasoma

Se realizó un ensayo de transferencia Western para proporcionar información sobre la expresión global de hTERT de tipo salvaje, INVAC-1 y proteínas derivadas de INVAC-1 después de 18 h a 96 h de transfección transitoria *in vitro* en líneas celulares HEK293T y CrFK. Las bandas de la proteína hTERT de tipo salvaje correspondieron al tamaño de la hTERT no modificada a 124,5 kDa (Figuras 3A y 3B, parte izquierda de la Figura). La expresión de la proteína hTERT de tipo salvaje pareció ser estable a lo largo del tiempo, especialmente en las células HEK293T. Por el contrario, INVAC-1 (Figuras 3A y 3B, parte derecha de la Figura y Figura 3C, parte superior de la Figura) y proteínas derivadas de INVAC-1 (Figura 3C, parte inferior de la Figura) se degradaron rápidamente con el tiempo.

A diferencia de la hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT), la construcción INVAC-1 produjo dos bandas distintas: una banda superior débil que correspondía a la proteína de fusión Ubi-hTERT en el tamaño previsto de 127,4 kDa y una banda inferior que correspondía a la proteína hTERT codificada por INVAC-1 que carecía del polipéptido ubiquitina (119 kDa). Estas dos formas de proteína hTERT codificada por INVAC-1 se detectaron en ambas líneas celulares, HEK293T y CrFK (Figuras 3A y 3B). Se observó el mismo patrón para las construcciones derivadas de INVAC-1, Δ 10Not, Δ 10Cog y Δ 23 (Figura 3C). En conjunto, la expresión más débil de INVAC-1 y las proteínas derivadas de INVAC-1 en comparación con la hTERT de tipo salvaje, sus patrones de expresión y su cinética de desaparición con el tiempo sugieren que estas proteínas se degradaban rápidamente por la ruta del proteasoma dependiente de ubiquitina de acuerdo con el modelo propuesto para la degradación de las proteínas de fusión de ubiquitina (Bachmair, 1986). La rápida aparición de la banda de INVAC-1 de 119 kDa indica que la mayoría de la proteína fue escindida co-traduccionalmente o casi por proteasas de procesamiento específicas de ubiquitina en la unión Ubi-hTERT. En consecuencia, la proteína entró en una ruta de degradación rápida dependiente del proteasoma de acuerdo con la llamada regla del extremo N para la degradación de proteínas (Tasaki, 2012; Varshavsky, 1996).

Estos resultados validan el patrón de expresión *in vitro* y la identidad de las proteínas de fusión Ubi-hTERT codificadas por INVAC-1 y derivados de INVAC-1. El polipéptido de ubiquitina fusionado con las proteínas derivadas de hTERT desempeñó su papel al mejorar la degradación de las proteínas de acuerdo con la regla del extremo N. De acuerdo con esta regla del extremo N, la hTERT se convirtió en una proteína inestable rápidamente degradada por el sistema del proteasoma implicado en la producción de péptidos para la presentación de antígenos por moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (Cadima-Couto, 2009; Michalek et al, 1993). Por lo tanto, estos datos indican que las construcciones de fusión Ubi-hTERT que experimentan una mejora de la degradación en células de cultivo de tejidos de mamíferos, también podrían degradarse rápidamente *in vivo* y podrían inducir eficazmente respuestas de células T CD8+ más altas que hTERT de tipo salvaje.

La proteína INVAC-1 tiene una distribución citoplasmática predominante y un patrón de exclusión nucleolar.

Con la idea de deslocalizar la proteína hTERT derivada de INVAC-1 para mejorar su degradación, se eliminó la señal de localización nucleolar (porción N-terminal de hTERT). Por lo tanto, la localización celular de hTERT codificada por INVAC-1 se evaluó mediante análisis de inmunofluorescencia después de la transfección en líneas celulares CrFK, HEK293, HeLa, QT6 (Figura 4).

Se demostró que la hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT) se localizaba predominantemente en el núcleo y el nucleolo en las células HEK293T transfectadas a las 24 h (Figura 4A). En contraste, la proteína INVAC-1 se distribuyó entre el núcleo y el citoplasma con, ante todo, un patrón claro de exclusión nucleolar (Figura 4A). La transfección transitoria de los plásmidos hTERT de tipo salvaje (pTRIP-CMV-hTERT) e INVAC-1 en células HeLa mostró patrones de localización similares a las 24 y 48 horas de la transfección para ambas proteínas (Figura 4B).

La débil señal de fluorescencia anti-hTERT que se pudo observar en las células HEK293T y HeLa después de la transfección del vector con cadena principal vacía pNTC8685-eRNA41H probablemente se debió a la reactividad cruzada con hTERT endógena

Para superar el fondo de fluorescencia no específico debido a la expresión de la proteína hTERT endógena, se utilizaron líneas celulares no humanas, fibrosarcoma de codorniz QT6 y células de riñón felino CrFK para la inmunotinción. No se observó señal de fondo en ambas líneas celulares después de la transfección transitoria con el vector de cadena principal vacía pNTC8685-eRNA41H (Figuras 4C y D). Como se esperaba, la proteína hTERT de tipo salvaje exógena (pTRIP-CMV-hTERT) se detectó principalmente en el núcleo y el nucleolo de ambas líneas celulares (Figuras 4C y D). La proteína INVAC-1, como ya se observó en las células HEK293T y HeLa, tenía una distribución nuclear y citoplasmática en las células CrFK a las 24 h (Figura 4D). Curiosamente, la expresión de INVAC-1 en células QT6 a las 24 y 48 h solo fue citoplasmática, lo que sugiere que la eliminación de la señal de localización nucleolar alteró drásticamente la distribución de la proteína en esta línea celular.

Tomados en conjunto, estos resultados mostraron que la proteína hTERT derivada de INVAC-1 tiene una distribución subcelular modificada en comparación con la hTERT de tipo salvaje en diferentes líneas celulares. Esta alteración puede ser una ventaja para mejorar la degradación proteasómica de la proteína a péptidos para la presentación de MHC de clase I para generar respuestas inmunitarias celulares específicas (Andersson y Barry,

2004).

La transfección de células QT6 y CrFK (sin antecedentes de hTERT no específicos) con derivados de INVAC-1 (pUTD10Not, pUTD10Cog y pUTD23Tyn) confirmó un patrón de exclusión nucleolar de estas proteínas derivadas de hTERT (datos no mostrados). Su distribución subcelular fue principalmente citoplasmática en comparación con la hTERT de tipo salvaje.

INVAC-1 y los derivados de INVAC-1 no tienen actividad enzimática

La telomerasa humana juega un papel crítico en el crecimiento tumoral al participar en la inmortalización y prevenir la senescencia de las células tumorales. Por lo tanto, el uso de la telomerasa de tipo salvaje como producto de vacuna puede generar problemas de seguridad.

Se realizó un ensayo TRAP para evaluar la actividad de la telomerasa de las construcciones Ubi-hTERT en la línea celular CrFK negativa para telomerasa. La actividad de la telomerasa solo se detectó en células CrFK transfectadas con hTERT de tipo salvaje utilizando el plásmido pTRIP-CMV-hTERT. No se detectó actividad telomerasa en células CrFK transfectadas con INVAC-1 o derivados de INVAC-1 (Figura 5).

Como se muestra en las Figuras 5A y 5C, los datos de absorbancia sin procesar demostraron que el nivel de actividad telomerasa de INVAC-1 y derivados de INVAC-1 es comparable al nivel de células no tratadas.

Los datos de la actividad telomerasa relativa (RTA) (Figuras 5B y 5D) que representan resultados completamente analizados teniendo en cuenta la especificidad del ensayo mediante el uso de varios controles negativos, incluidas muestras inactivadas por calor, muestran que INVAC-1 y los derivados de INVAC-1 están completamente desprovistos de cualquier actividad de telomerasa.

Todas las muestras tratadas con el control de patrón de amplificación interno (IS) fueron altamente positivas confirmando la ausencia de inhibidores de ADN polimerasa Taq en muestras de producto lisado de CrFK y, por lo tanto, enfatizando nuevamente la especificidad del ensayo.

En conclusión, estos resultados confirmaron que INVAC-1 y los derivados de INVAC-1 no tienen actividad enzimática. Por lo tanto, con respecto a la actividad telomerasa, no existe ningún problema de seguridad para la utilización de INVAC-1 en seres humanos.

La electroporación es ventajosa para inducir niveles significativos de células T CD8 específicas para hTERT que secretan interferón- γ después de la administración ID de INVAC-1

La intensidad de las respuestas de células T CD8 específicas para hTERT se evaluó en ratones C57BL/6 previamente inmunizados con INVAC-1 a través de la vía intradérmica seguida o no de electroporación cutánea (Figura 6). Catorce días después de la inyección, se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de las respuestas inmunitarias inducidas a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a H2. Una diferencia significativa en la frecuencia de las células T CD8 IFN γ ⁺ se observó entre el grupo de ratones que recibieron una electroporación después de la inyección ID de INVAC-1 y el grupo que no lo hizo ($p < 0,05$). Por lo tanto, estos resultados sugieren que la electroporación es ventajosa para inducir niveles significativos de respuestas de células T CD8 específicas para hTERT después de la vacunación ID con INVAC-1.

La vacunación con INVAC-1 a través de diferentes vías de administración seguidas de electroporación induce células T CD8 específico de hTERT que secretan interferón γ . La ruta de vacunación ID parece ser la mejor vía

Las vacunas convencionales se administran comúnmente a través de la vía SC o IM. Sin embargo, la vía intradérmica de inmunización ahora está recuperando interés en el campo de la vacunación (Combadiere y Liard, 2011). En consecuencia, la vía ID se probó para la administración de INVAC-1 y se comparó con las vías SC e IM convencionales.

En un primer conjunto de experimentos, se inmunizaron diferentes grupos de ratones transgénicos para HLA-B7 con INVAC-1 a través de la vía ID o SC seguido inmediatamente de electroporación (Figura 7A). Catorce días después de la vacunación/electroporación, se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de la respuesta inmunitaria inducida en el bazo a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a HLA-B7. En un segundo conjunto de experimentos, un grupo de ratones transgénicos para HLA-B7 se inmunizó con INVAC-1 a través de la vía ID y el otro a través de la vía IM seguido inmediatamente de electroporación (Figura 7B). Se realizó un seguimiento de la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT en PBMC a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a HLA-B7. Se estableció que la vacunación con INVAC-1 seguida de electroporación fue capaz de inducir respuestas de células T CD8 específicas para hTERT en ratones HLA-B7 cualquiera que fuera la vía de vacunación utilizada (Figura 7A y 7B).

Por otra parte, como se muestra en la Figura 7A, el número de animales que respondían fue mayor en el grupo de ratones vacunados a través de la vía ID en comparación con el grupo vacunado a través de la vía SC, con 6 de 8 frente a 3 de 8 respondedores respectivamente. También se observó una diferencia significativa en la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT entre el grupo de ratones vacunados ID en comparación con los animales vacunados IM ($p < 0,05$) (Figura 7B).

Ambos experimentos demostraron que la vía ID de vacunación era más eficaz que las vías IM y SC para la inducción mediada por INVAC-1 de células T CD8 específicas para hTERT. Se obtuvieron datos similares utilizando otros modelos de ratón es decir ratones HLA-A2-DR1 (datos no mostrados). En consecuencia, todos los estudios de inmunogenicidad posteriores realizados con INVAC-1 se diseñaron con una administración ID de la vacuna seguida de electroporación.

Impacto de la dosis de la vacuna sobre la respuesta de células T CD8 específicas para hTERT después de una única inmunización ID con INVAC-1 y electroporación

Otro parámetro importante que se debía probar fue el impacto de la dosis de la vacuna sobre las respuestas de células T CD8 específicas para hTERT. Se inmunizaron ratones C57BL/6 a través de la vía ID seguido de electroporación en ambos flancos inferiores con dosis crecientes de INVAC-1. El volumen de la vacuna se mantuvo constante a 50 μ l/sitio. Los animales fueron vacunados en 2 o 4 sitios dependiendo de la dosis final de vacuna recibida. Catorce días después de la vacunación/electroporación, se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de las respuestas inmunitarias celulares específicas a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a H2.

En un primer conjunto de experimentos, los ratones C57BL/6 recibieron una inyección ID única de INVAC-1/electroporación con dosis que oscilaban de 12,5 μ g a 100 μ g (Figura 8A). Se observó una diferencia significativa en la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT en el grupo de animales vacunados con 100 μ g de INVAC-1 en comparación con los animales de control vacunados con PBS ($p < 0,01$) (Figura 8A). También se observó que la mediana del número de células T CD8 específicas para hTERT aumentó en proporción a la dosis de vacuna recibida (de 12,5 μ g a 100 μ g). El número de animales que respondían también aumentó junto con la dosis de la vacuna con 4 de 6 respondedores respectivamente para la dosis de 12,5 μ g, 4 de 5 para la dosis de 25 μ g y 6 de 6 respondedores para las dosis de 50 y 100 μ g.

En una segunda serie de experimentos, los ratones C57BL/6 recibieron una inyección ID única de INVAC-1/electroporación con dosis que oscilaban de 100 μ g a 1200 μ g (Figura 8B). Se observó una diferencia significativa en la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT en el grupo de animales vacunados con 800 μ g de INVAC-1 administrado a 4 mg/ml en comparación con los animales de control vacunados con PBS ($p < 0,05$) (Figura 8B). Se observó que la mediana del número de células T CD8 específicas para hTERT aumentó proporcionalmente a la dosis de vacuna recibida de 100 μ g a 800 μ g y que esta mediana del número disminuyó al inyectar 1200 μ g. El número de animales que respondían aumentó con la dosis de la vacuna con 4 de 5 respondedores para la dosis de 100 μ g, 5 de 5 o 4 de 4 respondedores para las dosis superiores a 200 μ g, respectivamente. Para la dosis de 1200 μ g, incluso si todos los animales fueran respondedores, todavía habría 2 de 5 animales con un nivel de respuestas específicas cercano al valor de corte.

En conclusión, para el criterio de células T CD8 específicas de vacuna en ratones C57BL/6, se observó una respuesta a la dosis como consecuencia de la administración de diferentes cantidades de INVAC-1. Curiosamente, no se observaron signos de toxicidad de la vacuna en animales a los que se habían inyectado las dosis más altas de vacuna (800 y 1200 μ g) en comparación con los ratones de control (control del peso corporal y autopsia macroscópica en el sacrificio). Se obtuvieron datos similares en ratones transgénicos para HLA-B7 (datos no mostrados).

Se recomienda un régimen de cebado-refuerzo para la vacunación con INVAC-1 para aumentar el nivel de respuesta de células T CD8 específicas para hTERT

La mayoría de los protocolos de vacunación recomendados para las vacunas convencionales (BCG, sarampión, influenza...) incluyen un régimen de cebado/refuerzo para mejorar la frecuencia de las respuestas inmunitarias específicas de la vacuna. En consecuencia, el impacto de un régimen de cebado/refuerzo sobre la generación de respuestas de células T CD8 específicas para hTERT se probó para la vacunación con INVAC-1 ID y electroporación. Con este objetivo, los ratones transgénicos para HLA-B7 se inmunizaron ID con INVAC-1 y los sitios de vacunación cutánea se sometieron a electroporación directamente después de la administración de la vacuna. Veintiún días después de la primera inmunización, los ratones recibieron una segunda inyección de INVAC-1 utilizando el mismo procedimiento de vacunación. En diferentes momentos después de las inmunizaciones de cebado y refuerzo, se recolectó sangre periférica para controlar las respuestas de células T CD8 específicas para hTERT a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a HLA-B7 (Figura 9). Se observó un pico de respuesta de células T CD8 específicas para hTERT a los 14 días después del cebado. Sin embargo, la mediana de la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT en el grupo de animales vacunados fue relativamente baja (11,3 puntos/200.000 PBMC) y hubo 2 de 5 animales que no respondieron a la vacuna. Después del refuerzo, se observó un pico de células T CD8 específicas para hTERT el día 10 después de la

inyección. La mediana de la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT en el grupo de animales vacunados en este momento (D31 post-cebado, D10 post-refuerzo) fue significativamente diferente de la mediana de la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT en muestras preinmunes ($p < 0,05$). Hubo 4 de 5 respondedores después del refuerzo.

5 En conclusión, se recomienda un régimen de vacunación de cebado/refuerzo para la vacunación ID con INVAC-1/electroporación debido a que en primer lugar permite aumentar la frecuencia de las células T CD8 específicas para hTERT que circulan en la sangre (células T efectoras) y, en segundo lugar, acorta el tiempo necesario para alcanzar el pico de la respuesta inmunitaria celular específica, que es un parámetro importante en el contexto de una vacunación contra el cáncer.

10 **La vacunación ID con construcciones $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ o $\Delta 23$ seguida de electroporación también induce una respuesta de células T CD8 específicas para hTERT. Se recomienda un régimen de vacunación de cebado/refuerzo para aumentar la frecuencia de las células T CD8 específicas de la vacuna.**

15 Junto con el desarrollo de INVAC-1, se diseñaron otras 3 construcciones de plásmidos de ADN (derivados de INVAC-1): $\Delta 10\text{Not}$ (pUTD10Not), $\Delta 10\text{Cog}$ (pUTD10Cog) o $\Delta 23$ (pUTD23Tyn). Se diseñaron tres delecciones en el sitio catalítico de la enzima hTERT. Oscilaron entre 10 y 23 residuos de aminoácidos y abarcaron el tríptico crucial de residuos de valina-ácido aspártico-ácido aspártico (Val-Asp-Asp o VDD en el código de una letra) (Figura 2A). Estas construcciones fueron diseñadas para mostrar que cualquier delección que elimine la actividad de la enzima podría conservar la inmunogenicidad.

20 Para confirmar esta hipótesis, se inmunizaron ratones C57BL/6 a través de la vía ID seguido de electroporación con INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$, $\Delta 23$ o PBS (Figura 10A). La mitad de los animales recibió una segunda inyección de ADN o PBS 21 días después de la primera inmunización utilizando el mismo procedimiento. Los animales fueron sacrificados catorce días (grupo de ratones que recibieron una sola inyección) o diez días (grupo de ratones que recibieron 2 inyecciones) después de la última vacunación/electroporación. Se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de la respuesta inducida de células T CD8 a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a H2 (reserva de 4 péptidos).

25 Para los animales que recibieron una única inyección de ADN, se observó una diferencia significativa en la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT solo en el grupo de ratones vacunados con 100 μg de INVAC-1 en comparación con los animales de control vacunados con PBS ($p < 0,05$) (Figura 10A, puntos oscuros). Al analizar la frecuencia de los respondedores, hubo 3 de 4 respondedores en el grupo de ratones vacunados con INVAC-1 y $\Delta 10\text{Cog}$. Sin embargo, para $\Delta 10\text{Cog}$, los animales respondieron poco con respuestas de células T CD8 específicas para hTERT inferiores a 50/200.000 esplenocitos. Solo hubo 1 de 4 respondedores en el grupo de animales vacunados con $\Delta 23$ y ningún respondedor con animales tratados con $\Delta 10\text{Not}$. Para los animales que recibieron dos vacunas (Figura 10A, puntos de color blanco), se observó una mediana de la frecuencia significativa de células T CD8 secretoras de IFN- γ específicas para hTERT en el bazo de los ratones inmunizados con INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$ y $\Delta 10\text{Cog}$ en comparación con los ratones de control a los que se había inyectado PBS ($p < 0,001$). Solo hubo 2 de los 4 animales que respondían en el grupo de ratones vacunados con $\Delta 23$, lo que no fue estadísticamente significativo. En conclusión, después de una o dos rondas de vacunación, las construcciones de INVAC-1 y derivadas de INVAC-1 permitieron la inducción de células T CD8 específicas para hTERT, siendo INVAC-1 la más inmunogénica en ratones C57BL/6.

30 En un segundo conjunto de experimentos, los ratones transgénicos para HLA-B7 se vacunaron ID con INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$, $\Delta 23$ o PBS (Figura 10B) seguido de electroporación y recibieron una segunda inyección 21 días después de la primera utilizando el mismo procedimiento. Se recogieron los bazo 10 días después de la última inyección y se controló la respuesta inducida de células T CD8 a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a B7. Como se muestra en la Figura 10B, se observó una mediana de la frecuencia significativa de células T CD8 secretoras de IFN- γ específicas para hTERT en el bazo de los ratones inmunizados con INVAC-1, $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ y $\Delta 23$ en comparación con los ratones de control a los que se había inyectado PBS ($p < 0,001$).

35 Como se muestra para INVAC-1, los 3 derivados de INVAC-1 $\Delta 10\text{Not}$, $\Delta 10\text{Cog}$ y $\Delta 23$ también fueron capaces de inducir células T CD8 específicas para hTERT *in vivo* después de la vacunación ID y la electroporación en dos cepas de ratones diferentes. También se recomendó un régimen de vacunación de cebado/refuerzo para que los derivados de INVAC-1 alcanzaran niveles significativos de respuestas de células T CD8 específicas para hTERT. Tomados en conjunto, estos resultados demuestran que INVAC-1 es la construcción que permite la inducción de la mejor respuesta de células T CD8 específicas para hTERT. Esto probablemente se deba a la diferencia observada en los niveles de expresión de la proteína ΔhTERT después de la transfección del plásmido como se muestra mediante transferencia Western (Figura 3).

40 **La amplitud de la respuesta de células T específicas para hTERT después de la vacunación o vacunaciones ID seguidas de electroporación es diferente según la construcción del plásmido hTERT utilizada para la vacunación (INVAC-1, pNTC-hTERT o pNTC-hTERT- ΔVDD)**

Se ha evaluado el impacto de las modificaciones de la secuencia de hTERT diseñadas dentro de la construcción INVAC-1, es decir, (1) la delección de la señal de localización nucleolar, (2) la adición de la secuencia de ubiquitina y (3) la delección dentro del sitio catalítico, sobre el repertorio de la respuesta inmunitaria de células T contra hTERT. Las respuestas inmunitarias celulares específicas para hTERT de INVAC-1 se escrutaron después de una o varias inmunizaciones ID/una o varias electroporaciones con INVAC-1 y se compararon con las respuestas inducidas por un ADN que codifica la secuencia de tipo nativo/salvaje de la TERT humana (pNTC-hTERT) y un ADN que codifica la secuencia de hTERT de la que se había eliminado solamente la región VDD (pNTC-hTERT-ΔVDD). Los animales de control recibieron una o varias inyecciones ID de 25 µg de vector vacío pNTC seguido de electroporación.

Una primera serie de ratones transgénicos para HLA-B7 recibió una inyección única de cualquiera de las 4 construcciones utilizando el protocolo de vacunación descrito anteriormente (25 µg/ratón). Una segunda serie de animales recibió una inyección de cebado y un refuerzo 21 días después de la primera vacunación con cualquiera de las 4 construcciones utilizando el protocolo de vacunación descrito anteriormente (25 µg/ratón).

Catorce días después de una inyección única o 10 días después del refuerzo, se analizaron los esplenocitos de ratones vacunados y de control en un ensayo ELISpot para IFNγ utilizando 269 péptidos de 15 AA solapantes de 11 AA y recuperando la secuencia de proteínas completa de hTERT (27 reservas compuestas de 10 péptidos cada una).

La inmunización con INVAC-1 indujo un gran repertorio de células T contra numerosos epítomos de hTERT ya que después del cebado, se reconocieron aproximadamente 12 reservas de péptidos (Figura 11A). Estos datos sugieren que se expresaron un mínimo de 12 epítomos restringidos a HLA-B7 después del procesamiento sobre la superficie de las células dendríticas con una densidad de complejos de péptidos del MHC que permitían la inducción de una fuerte respuesta de células T. Estos importantes resultados muestran la capacidad de INVAC-1 para el procesamiento y la expresión de numerosos péptidos de hTERT sobre la superficie de las APC. La diferencia obtenida con las otras construcciones (hTERT y hTERTΔVDD) valida las características de optimización realizadas en INVAC-1, lo que lleva al aumento de la amplitud del repertorio de células T contra hTERT. Además, estos resultados resaltan la ventaja de la vacunación de ADN frente a la inmunización peptídica.

En este estudio se confirmó la ventaja de un segundo ciclo de inmunización (cebado-refuerzo) con INVAC-1 en ratones transgénicos. El repertorio de células T *in vivo* se mejoró a medida que se revelaron al menos 5 nuevos epítomos (Figura 11B). Se reconoció un total de al menos 17 epítomos después del refuerzo. Estos datos confirman que varias inyecciones en el paciente serán beneficiosas para obtener una mejor respuesta antitumoral.

Al analizar estos datos globalmente al hacer la suma de la mediana total de la frecuencia de células T específicas detectadas para las 27 reservas de péptidos, no se observaron diferencias importantes después de uno (cebado) o dos (cebado-refuerzo) ciclos de inmunizaciones entre las tres construcciones de hTERT (Figura 11C). Esto sugiere que las modificaciones realizadas en hTERT de INVAC-1 no tuvieron impacto sobre la amplitud de la respuesta inmunitaria, a pesar de que se observó una respuesta inmunitaria mediada por células T significativamente mayor después del refuerzo con INVAC-1.

En conclusión, la vacunación con INVAC-1 medió un gran repertorio de respuesta inmunitaria de células T contra numerosos epítomos de hTERT diferentes de construcciones de hTERT de tipo salvaje y hTERTΔVDD en términos de péptidos/epítomos reconocidos por las células T.

La vacunación ID con INVAC-1 seguida de electroporación induce respuestas de células T específicas para hTERT con el sello distintivo de una respuesta inmunitaria anticancerosa: células T CD8 citotóxicas y células T CD4 Th1

Entre las células inmunitarias que son relevantes en las respuestas inmunitarias antitumorales, los linfocitos T CD8 citotóxicos (CTL) y las células T CD4 Th1 se han identificado como las células efectoras más potentes (Vesely et al., 2011) (Braumuller et al., 2013).

En una primera etapa, se investigó la actividad citotóxica de las células T CD8 específicas para hTERT *in vivo* después de la vacunación ID/electroporación con INVAC-1. De hecho, esta actividad es necesaria para destruir las células tumorales. Para medir la resistencia citolítica *in vivo* de la respuesta de las células T CD8⁺ específicas para hTERT provocada por la inmunización con INVAC-1, se realizó un ensayo de citotoxicidad *in vivo* utilizando esplenocitos pulsados con péptidos marcados con succinimidil éster diacetato de carboxifluoresceína (CFSE) como células diana. A ratones transgénicos para HLA-B7 que recibieron una vacunación con cebado o cebado/refuerzo con INVAC-1 (o PBS como control) a través de la vía ID como se describió anteriormente, se les inyectaron por vía intravenosa 7·10⁶ células diana. Las células diana eran esplenocitos de ratones congénicos no sometidos a tratamiento previo, marcados independientemente con 3 concentraciones diferentes de CFSE y pulsadas con un péptido hTERT restringido a HLA-B7 (p351, péptido inmunodominante o p1123, péptido subdominante) o no pulsadas como control interno. Después de 15-18 horas, se recogieron las células del bazo y la desaparición de las células pulsadas con péptidos en ratones inmunizados frente a ratones de control se cuantificó por citometría de flujo.

Los resultados muestran que todos los ratones desarrollaron CTL específicos contra el péptido inmunodominante

p351 después de una sola inyección (Figura 12A, puntos de color blanco) con una mediana de lisis específica de 35%. Un tercio de los animales desarrollaron CTL específicos contra el péptido subdominante p1123 (Figura 12A, puntos de color negro). Se puede esperar que múltiples ciclos de inyección permitirían aumentar el número de animales que desarrollan una lisis CTL específica contra el péptido subdominante 1123.

Recientemente se ha descrito que una respuesta de células T CD4 específicas para hTERT puede estar asociada con una mejor respuesta a la quimioterapia en pacientes con CPNM (Godet et al., 2012). Por lo tanto, se investigó la presencia de una respuesta de células T CD4 específicas para hTERT después de la inyección de INVAC-1 ID. Con este objetivo, los ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 se inmunizaron ID con INVAC-1 seguido de electroporación y se realizó un seguimiento de la respuesta de células T CD4 específicas para hTERT en el bazo 14 días después de la vacunación a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a DR1. Como se muestra en la Figura 12B, se observó una mediana de la frecuencia significativa de células T CD4 secretoras de IFN- γ específicas para hTERT en el bazo de los ratones vacunados ID en comparación con los ratones de control a los que se había inyectado PBS ($p < 0,001$).

Se ha enfatizado que la inmunidad Th1 tenía un claro efecto positivo sobre la eliminación de células cancerosas *in vivo* (Braumuller et al., 2013). De hecho, las células Th1 CD4⁺ producen varias citocinas (tales como IFN- γ , TNF- α e IL-2) esenciales para la inducción de inmunidad celular contra tumores. En consecuencia, después de la vacunación con INVAC-1 ID, se investigaron las diferentes citocinas secretadas por las células T CD4 específicas para hTERT. Con este objetivo, se estimularon los esplenocitos de ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 vacunados con INVAC-1 *in vitro* durante 24 horas con una reserva de péptidos de hTERT o se dejaron sin estimular. Los sobrenadantes se recuperaron y analizaron en un Ensayo de Unión a Citocinas (CBA) para evaluar la concentración de citocinas Th1, Th2 y Th17 secretadas por las células T CD4 específicas para hTERT.

Como se muestra en la Figura 12C, se detectaron concentraciones significativas de citocinas Th1 IL-2, TNF α e IFN γ en sobrenadantes de esplenocitos recuperados de ratones vacunados con INVAC-1 en comparación con sobrenadantes de ratones de control ($p < 0.05$).

Por lo tanto, la vacunación ID/electroporación con INVAC-1 puede promover la expansión de células T CD8 específicas para hTERT que exhiben una actividad citotóxica *in vivo* junto con células T CD4 específicas con un perfil Th1. Ambos tipos de respuesta son el sello distintivo de una respuesta inmunitaria anticancerosa favorable.

La vacunación ID terapéutica y preventiva con INVAC-1 seguida de electroporación retrasan el crecimiento tumoral después de la inoculación de tumor singénico a ratones transgénicos para HLA-A2/DR1

Hasta este punto, los resultados han demostrado que una inyección ID de INVAC-1 seguida de electroporación fue capaz de inducir células T CD8 citotóxicas y células T CD4 Th1 en ratones. La siguiente etapa consistió en evaluar a continuación la protección de los ratones HLA-A2/DR1 transgénicos conferida por la vacunación con INVAC-1 ID y electroporación después de la inoculación de células tumorales Sarc-2 (fibrosarcoma). En un primer intento, los ratones HLA-A2/DR1 transgénicos se vacunaron ID con INVAC-1 seguido de electroporación en una estrategia de cebado/refuerzo o se vacunaron simuladamente con PBS. Un mes después de la vacunación preventiva, los ratones fueron sensibilizados a través de la vía SC con 50.000 células Sarc-2. El volumen tumoral se midió cada 2-3 días. La Figura 13A muestra la cinética de la mediana del volumen del tumor después de la sensibilización según el tratamiento de los ratones. A continuación, se calculó el retraso del crecimiento tumoral (TGD) a 500 mm³. Este criterio permite medir el efecto del tratamiento de una vacuna sobre el crecimiento tumoral al comparar el tiempo para alcanzar un volumen tumoral definido en los grupos de control y tratados. Se observó un retraso en el crecimiento tumoral de once días entre el grupo de ratones vacunados con INVAC-1 y el grupo de animales que recibieron PBS. Por lo tanto, la vacunación preventiva con INVAC-1 fue responsable de una desaceleración en el crecimiento tumoral. Debido a que la inoculación del tumor se realizó un mes después de la última vacunación, los efectos antitumorales podrían atribuirse en cierta medida a la presencia de células T de memoria específicas para hTERT.

En una segunda serie de experimentos, a los ratones transgénicos se les injertaron 20.000 células Sarc-2 y se vacunaron ID con INVAC-1 seguido de electroporación 4 días después de la inoculación celular (Figura 13B). Los animales de control recibieron una inyección ID de un plásmido "vacío" (NTC) que tenía la misma cadena principal que INVAC-1 pero que no codificaba ningún antígeno tumoral. Se realizaron dos vacunaciones de refuerzo con el mismo procedimiento 21 y 35 días después del injerto tumoral. Se calculó el retraso del crecimiento tumoral a 500 mm³. Se observó un retraso del crecimiento tumoral de 4 días entre el grupo de ratones vacunados con INVAC-1 y el grupo de animales que recibieron el plásmido vacío NTC. En conclusión, la vacunación terapéutica con INVAC-1 permitió una desaceleración relativamente débil, aunque observada repetidamente, sobre el crecimiento tumoral.

La administración de GM-CSF murino junto con la vacunación ID con INVAC-1/electroporación mejora la intensidad y la calidad de la respuesta inmunitaria celular específica de hTERT y retrasa el crecimiento tumoral después de una sensibilización con tumor singénico en ratones transgénicos para HLA-A2/DR1.

Se han utilizado diferentes citocinas hasta ahora como inmunomoduladores para facilitar el reconocimiento de antígeno y la expansión de células T en estudios de vacunación contra el cáncer tanto en modelos animales como

en seres humanos. Una de las citocinas más frecuentemente utilizadas es el GM-CSF (Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-Macrófagos). Se sabe que esta citocina ayuda a la maduración de las Células Presentadoras de Antígenos y favorece las respuestas inmunitarias celulares Th1 (Parmiani et al., 2007). Con respecto al papel principal desempeñado por GM-CSF en el contexto de las vacunas antitumorales, se probó el impacto de la adición de GM-CSF murino (mGM-CSF) sobre las respuestas de células T específicas para hTERT después de la vacunación con INVAC-1 ID y la electroporación. Con este objetivo, los ratones C57BL/6 recibieron una inyección ID de mGM-CSF 18 horas antes de ser vacunados con INVAC-1 a través de la vía ID seguida de electroporación (Figura 14A). Otro grupo de ratones se vacunó ID con INVAC-1/electroporación sin adición de mGM-CSF. Los animales de control fueron vacunados simuladamente con PBS y electroporación. Catorce días después de la inyección, se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de las respuestas inmunitarias inducidas a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a H2. Se observó una diferencia significativa en la frecuencia de células T CD8 IFN γ ⁺ entre el grupo de ratones que recibieron mGM-CSF antes de la inyección ID de INVAC-1 y el grupo que no lo hizo ($p < 0,001$). Por lo tanto, la adición de mGM-CSF permitió un aumento importante en la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT. Una segunda etapa consistió en investigar el impacto de este inmunomodulador sobre la calidad de las células T CD4 específicas para hTERT, y especialmente sobre la generación de células T específicas de Th1. Con este objetivo, se estimularon los esplenocitos de ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 vacunados con INVAC-1 o INVAC-1/mGM-CSF *in vitro* durante 24 horas con una reserva de péptidos de hTERT restringidos a DR1 o se dejaron son estimular. Los sobrenadantes se recuperaron y analizaron en un Ensayo de Unión a Citocinas (CBA) para evaluar la concentración de citocinas Th1, Th2 y Th17 secretadas por las células T CD4 específicas para hTERT. Como se muestra en la Figura 14B, se detectaron concentraciones significativas de citocinas Th1 IL-2, TNF α e IFN γ en sobrenadantes de esplenocitos recuperados de ratones vacunados con INVAC-1/mGM-CSF en comparación con los sobrenadantes de ratones vacunados solo con INVAC-1. Al añadir mGM-CSF, hubo un aumento importante en la concentración de TNF α ($p < 0,01$), IFN γ ($p < 0,05$) e IL-2 ($p < 0,05$) que son citocinas antitumorales Th1.

Posteriormente, se estudió la combinación mGM-CSF/INVAC-1 en el modelo de tumor animal Sarc-2 para evaluar si mGM-CSF podría potenciar los efectos antitumorales.

Con este objetivo, se injertaron a ratones transgénicos para HLA-A2/DR1 20.000 células Sarc-2 y se vacunaron ID con INVAC-1 y mGM-CSF seguido de electroporación 4 días después del injerto celular (Figura 14C). Los animales de control recibieron una inyección ID de un plásmido vacío (NTC) y mGM-CSF o PBS y mGM-CSF. Se realizaron dos vacunaciones de refuerzo con el mismo procedimiento 21 y 35 días después del injerto tumoral. Se calculó retraso del crecimiento tumoral (TGD) a 500 mm³. Se observó un TGD de 14 días entre el grupo de ratones vacunados con INVAC-1/mGM-CSF y el grupo de animales que recibieron NTC/mGM-CSF; se observó TGD de 10 días entre el grupo INVAC-1/mGM-CSF y el grupo PBS/mGM-CSF. Estos resultados demuestran que una vacunación terapéutica con INVAC-1 combinado con mGM-CSF permitió una desaceleración en el crecimiento tumoral.

La administración de IL-12 murina junto con la vacunación ID con INVAC-1/electroporación mejora la intensidad de la respuesta de células T CD8 específicas para hTERT

También se investigó el impacto de la citocina IL-12 sobre la respuesta de células T CD8 específicas para hTERT después de la vacunación con INVAC-1 ID y la electroporación. Con este objetivo, los ratones HLA-A2/DR1 recibieron una inyección ID de IL-12 junto con la administración ID de INVAC-1 seguido de electroporación (Figura 15). Otro grupo de ratones se vacunó ID con INVAC-1/electroporación sin adición de IL-12. Los animales de control se vacunaron simuladamente con PBS e IL-12 o PBS solo seguido de electroporación. Catorce días después de la inyección, se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de las respuestas inmunitarias inducidas a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a A2. La frecuencia de respuesta de los ratones se incrementó al añadir IL-12. De hecho, hubo 2 de 5 y 4 de 5 animales que respondían para el grupo vacunado con INVAC-1 y el grupo vacunado con INVAC-1/IL-12 respectivamente.

Ejemplo II

Abreviaturas

AA: Aminoácidos, **pb:** Pares de bases, **CTL:** Linfocitos T citotóxicos, **CMV:** Citomegalovirus, **ADN:** Ácido desoxirribonucleico, **EP:** Electroporación, **ID:** Intradérmico, **NoLS:** Secuencia de localización nucleolar, **ARN:** Ácido ribonucleico, **RTA:** Actividad telomerasa relativa, **TRAP:** Protocolo de amplificación de repeticiones teloméricas, **TERT:** Transcriptasa inversa de telomerasa, **Ubi:** Ubiquitina, **VDD:** Valina-ácido aspártico-ácido aspártico.

Materiales y métodos

Vectores de ADN plasmídico

INVAC-1

La construcción INVAC-1 ya se describió en el Ejemplo I.

Derivados permutados al azar de INVAC-1

Las construcciones pUTScram y pUTInv son plásmidos de ADN de doble hebra de aproximadamente 8,9 kb que codifican proteínas de fusión basadas en ubiquitina-telomerasa humanas que son enzimáticamente inactivas. Los transgenes de Secuencia Aleatoria "Scrambled" y de Secuencia Invertida "Inverted" se insertaron en el vector

pUTScram (denominado de Secuencia Aleatoria)

El inserto de hTERT Ubi-Scrambled (de secuencia aleatoria, 1184 AA) comienza en la posición 923 y termina en la posición 4474 del plásmido pUTScram (Figura 20A). pUTScram codifica una construcción de fusión basada en ubiquitina-telomerasa humana (De secuencia aleatoria) de 1184 AA que corresponde a una proteína de aproximadamente 130,2 kDa. Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de la proteína hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido ubiquitina (76 AA). El sitio catalítico se inactivó mediante una delección de 9 pb que codificaba **VDD** (marca *; Figura 28) y correspondiente a AA 867-869 de telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; patente WO 2007/014740 y e isoforma 1 de hTERT con Número de acceso NM_198253). La secuencia de hTERT se dividió en diez fragmentos inmunogénicos y se volvió a montar en el siguiente orden específico: **fragmento 7** (210 pb), **fragmento 2** (201 pb), **fragmento 6** (312 pb), **fragmento 4** (117 pb), **fragmento 9** (576 pb), **fragmento 3** (120 pb), **fragmento 1** (258 pb), **fragmento 8** (477 pb), **fragmento 10** (516 pb), **fragmento 5** (303 pb). Estos 10 fragmentos están unidos por puentes con un conector 6xGly (conector G; 18 pb). En consecuencia, se eliminaron 76 AA no inmunogénicos (228 pb) de la secuencia de hTERT. Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal del inserto permutado al azar Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5 (Figura 22).

pUTInv (denominado de secuencia invertida)

El inserto de hTERT Ubi-inverted (Secuencia Invertida, 1184 AA) comienza en la posición 923 y termina en la posición 4474 del plásmido pUTInv (Figura 20B). pUTInv codifica una construcción de fusión basada en ubiquitina-telomerasa humana (Secuencia Invertida) de 1184 AA correspondiente a una proteína de aproximadamente 130,2 kDa. Se suprimieron los 23 primeros aminoácidos (1-23 AA) de la proteína hTERT que fueron reemplazados por un polipéptido de ubiquitina (76 AA). El sitio catalítico se inactivó mediante una delección de 9 pb que codificaba **VDD** (marca *; Figura 29) y correspondiente a los AA 867-869 de telomerasa humana de tipo salvaje (hTERT; patente WO 2007/014740; Número de acceso NM_198253). La secuencia de hTERT se dividió en diez fragmentos inmunogénicos y se volvió a montar en el siguiente orden específico: **fragmento 10** (516 pb), **fragmento 9** (576 pb), **fragmento 8** (477 pb), **fragmento 7** (210 pb), **fragmento 6** (312 pb), **fragmento 5** (303 pb), **fragmento 4** (117 pb), **fragmento 3** (120 pb), **fragmento 2** (201 pb), **fragmento 1** (258 pb). Estos 10 fragmentos se unieron con un conector 6xGly (conector G; 18 pb). En consecuencia, se eliminaron 76 AA no inmunogénicos (228 pb) de la secuencia de hTERT. Los 14 aminoácidos en la secuencia C-terminal del inserto permutado al azar Ubi-hTERT codifican la etiqueta epitópica V5 (Figura 22).

Síntesis y clonación genes

Los genes fueron sintetizado *de novo* como construcciones de fusión basadas en ubiquitina-telomerasa a través de un procedimiento de ensamblaje de oligonucleótidos de 40 unidades solapantes (GeneCust, Luxemburgo). Se realizaron varios cambios de bases conservativos para eliminar los sitios de restricción y atenuar las secuencias ricas en GC. La síntesis génica incluyó sitios de restricción flanqueantes únicos HindIII/XbaI para permitir la subclonación del gen en el sistema de expresión deseado. Los genes sintetizados se clonaron entre los sitios de restricción HindIII y XbaI del vector de expresión pcDNA3.1(+) (Invitrogen, Carlsbad, EE.UU.). Las secuencias de los plásmidos se verificaron mediante secuenciación utilizando cebadores PEGFP-N5' CGGTGGGAGGCTATATAAG (SEQ ID NO: 27) y BGH CAGGGTCAAGGAAGGCAC (SEQ ID NO: 28).

Producción de plásmidos

Estos derivados permutados al azar de INVAC-1 sintetizados por GeneCust se transformaron y produjeron en células *E. coli* 5-alfa (fhuA2Δ (argF-lacZ) U169 phoA glnV44 Φ80 Δ (lacZ)M15 gyrA96 recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17) (Lucigen Corporation, Middleton, EE.UU., ref. 60602-2) por RD Biotech (Besançon, Francia). Las células se colocaron en placa y se propagaron en medio de caldo Lenox que contenía ampicilina (Núm. EU04000D, Euromedex). Después de la extracción y purificación, se prepararon provisiones de partida concentradas de plásmido gigaprep sin endotoxina (2 mg/ml) resuspendidas en 1X PBS estéril. Los vectores se verificaron mediante mapeo de restricción (HindIII-XbaI; Figura 21).

pTRIP-CMV-hTERT

Este plásmido de ADN ya se describió en el Ejemplo I.

Cultivos celulares y transfecciones transitorias para ensayos de transferencia Western y TRAP

Se cultivaron líneas celulares CrFK (riñón felino de Crandell Rees) y HEK293T (riñón embrionario humano) en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) con un suplemento de suero de ternera fetal inactivado por calor al 10% (PAA, Velizy-Villacoublay, Francia) y penicilina/estreptomicina al 1% (Life Technologies, Saint-Aubin, Francia).

- 5 Las células se cultivaron como monocapas en matraces de 75 cm² a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂. Las células se cultivaron hasta 70-80% de confluencia el día de la transfección. Para los ensayos de transferencia Western, se sembraron 5x10⁵ células en placas de cultivo de tejidos de seis pocillos y se incubaron durante 24 h. Para ensayos TRAP, se sembraron 7x10⁵ células en placas de cultivo de tejidos de seis pocillos y se incubaron durante 24 h.
- 10 Las construcciones pUTScram y pUTInv de INVAC-1 se transfectaron en células diana utilizando el reactivo de transfección de polímero catiónico jetPrime de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Polyplus-transfection Inc., Francia). Las células transfectadas con el plásmido pTRIP-CMV-hTERT se utilizaron como control positivo y las células no transfectadas como control negativo. Los medios de transfección se eliminaron 4 horas más tarde y se reemplazaron por 2 ml de medio de cultivo DMEM. Después del tiempo apropiado de transfección - 18-96 horas para los ensayos de transferencia Western y 24 horas para los ensayos de TRAP, las células se recolectaron y analizaron para determinar la expresión y actividad de la telomerasa.
- 15

Transferencia Western

Los análisis de transferencia Western se realizaron utilizando células HEK293T transfectadas. El procedimiento de transferencia Western es el que se ha descrito en el Ejemplo I.

Ensayo TRAP

Este procedimiento es el que se ha descrito en el Ejemplo I.

Ratones

En estos experimentos se utilizó la cepa de ratón transgénico HLA-B*0702.

- 25 Los ratones transgénicos para HLA-B*0702 expresan los dominios $\alpha 1$ - $\alpha 2$ de HLA-B*0702 humanos de la molécula y el dominio $\alpha 3$ murino de la molécula H2D. Estos ratones no expresan las moléculas H2-D^b y H2-K^b (Rohrlich, Cardinaud et al. 2003).

- 30 Los ratones se utilizaron entre las 9 y 15 semanas de edad y fueron suministrados por el Instituto Pasteur de París. Los animales fueron alojados en la instalación de animales libres de patógenos específicos del Instituto Pasteur (Animal Facilities Lwoff Núm. 22, número de acuerdo B 75 15-07). Antes de la inyección intradérmica (ID) o intravenosa (IV), los ratones fueron anestesiados con una solución mixta de xilazina al 2% (Rompun, Bayer Santé, Loos, Francia) y ketamina al 8% (Imalgen 1000, Merial, Lyon, Francia) en 1X Solución Salina Tamponada con Fosfato (IX PBS, Life Technologies, Saint-Aubin, Francia) a través de la vía intraperitoneal (IP) según el peso individual del animal y la duración de la anestesia. Todos los animales fueron manejados en estricta conformidad con la buena práctica animal y cumplieron con la experimentación local con animales (Directiva 2010/63/UE).

Péptidos de hTERT

Los péptidos de hTERT restringidos a HLA-B*0702, se describieron previamente en el Ejemplo I. Los péptidos liofilizados se disolvieron en agua estéril a 2 mg/ml y se almacenaron a -20°C antes de su uso.

Inmunización de ratones y procedimiento de electroporación *in vivo*

- 40 La inmunización intradérmica (ID) se realizó en la parte inferior del flanco del ratón con jeringas de insulina y agujas específicas (U-100, 29GX1/2"-0,33x12 mm, Terumo, Bélgica) después del afeitado. No se observó eritema después del afeitado, durante y después de los procedimientos de inmunización. Cada animal recibió una inyección ID de cebado de plásmido (INVAC-1, pUTScram o pUTInv) con 100 µg de ADN o 1X PBS. Según el régimen de vacunación, los ratones podrían recibir una segunda inyección similar de ADN o 1X PBS.

- 45 La electroporación de ADN *in vivo* se realizó utilizando el sistema y el soporte lógico de electroporación CLINIPORATOR® 2 (IGEA, Italia) equipado con electrodos de placa (P-30-8G, IGEA). Inmediatamente después de la vacunación ID, se realizó un pliegue de la piel en el sitio de inyección, se cubrió completamente con gel conductor (Labo FH, gel de contacto azul, NM Medical, Francia) y se colocó entre los electrodos de la placa. Se aplicaron dos pulsos de diferentes voltajes (HV-LV): HV: 1250 V/cm, 1 Hz, 100 µs; 1 pulso, 1000 ms de descanso; LV: 180 V/cm, 1 Hz, 400 ms, 1 pulso.

50

Ensayo ELISpot

El ensayo ELISpot se realizó de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo I. Solo se utilizó una reserva de tres péptidos de hTERT específicos restringidos a HLA-B*0702 (p277, p351 y p1123) en el Ejemplo II.

Ensayo de citotoxicidad *in vivo*

- 5 El ensayo de lisis *in vivo* se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo I. Solo se utilizaron dos péptidos de hTERT específicos restringidos a HLA-B*0702 (p351 y p1123) respectivamente como péptidos inmunodominantes y subdominantes en el Ejemplo II.

Análisis estadístico y manejo de datos.

- 10 Se utilizó el soporte lógico GraphPad Prism 5 para el manejo de datos, el análisis y las representaciones gráficas. Los datos se representan como la media $\pm$ desviación típica o como la mediana. Los análisis estadísticos de los ensayos ELISpot se realizaron utilizando un análisis no paramétrico de Mann Whitney y/o Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. La significación se estableció en el valor $p < 0,05$.

Resultados

Caracterización y análisis de secuencia del ADN plasmídico de INVAC-1

- 15 La caracterización y el análisis de secuencia del ADN plasmídico de INVAC-1 ya se describieron en el Ejemplo I.

Caracterización y análisis de secuencia de construcciones derivadas por permutaciones al azar de INVAC-1 (pUTScram y pUTInv)

- 20 Se sintetizaron y clonaron dos genes derivados por permutaciones al azar de INVAC-1 (Figura 20). Estas construcciones se basaron en la secuencia de nucleótidos de INVAC-1 descrita en el Ejemplo I y la secuencia de aminoácidos de hTERT de tipo salvaje descrita en la solicitud de patente internacional WO 2007/014740.

- 25 La optimización de codones se realizó para la expresión de alto nivel en células de mamífero (Figura 27). Los transgenes permutados al azar Ubi-hTERT de secuencia aleatoria y de secuencia invertida se ligaron con éxito en el vector de expresión de Invitrogen pcDNA3.1(+) como se muestra por digestión con HindIII y XbaI y electroforesis (Figura 21). Los insertos y las uniones se secuenciaron utilizando los cebadores PEGFP-N5' y BGH que coincidían con la secuencia del vector que flanqueaba el inserto de ADN. Los resultados de la secuencia confirmaron que los transgenes se habían clonado correctamente (Figuras 28 y 29).

Las proteínas derivadas con permutaciones al azar de INVAC-1 se expresan correctamente *in vitro* y se degradan por la ruta del proteasoma

- 30 Se realizó el ensayo de transferencia Western para proporcionar información sobre la expresión global de las proteínas hTERT de tipo salvaje, INVAC-1, pUTScram y pUTInv después de 18 h a 96 h de transfección transitoria *in vitro* en líneas celulares HEK293T. Las bandas de proteína hTERT de tipo salvaje correspondían al tamaño de la hTERT no modificada en 124,5 kDa (Figuras 23A y 23C, parte izquierda de las Figuras). En el Ejemplo I, se ha demostrado que las proteínas INVAC-1 se degradan rápidamente con el tiempo en sentido contrario a las proteínas hTERT de tipo salvaje expresadas a un nivel estable. Se detectaron bandas específicas para proteínas con permutaciones al azar de Secuencia Aleatoria o de Secuencia Invertida con el tiempo (Figuras 23A y 23C, parte derecha de las Figuras). Para ambas, estas bandas se observaron a un tamaño menor (<110 kDa) que el tamaño pronosticado para las proteínas completas (130,2 kDa). Estas formas de proteínas de Secuencia Aleatoria y de Secuencia Invertida correspondían a los productos degradados. De hecho, los productos no degradados de expresión de Secuencia Aleatoria y de Secuencia Invertida no fueron detectables en el análisis de transferencia Western. Estas construcciones produjeron, respectivamente, de 1 a 3 bandas específicas lo que sugieren una degradación rápida de estas proteínas inmediatamente después de la producción. En cuanto a INVAC-1, se demostró el mismo patrón de degradación con el tiempo para los productos degradados de Secuencia Aleatoria después de la normalización al control de carga de β -actina (análisis ImageJ; Figura 23B). Los productos degradados de Secuencia Invertida tienen un patrón más similar a las otras proteínas derivadas de INVAC-1 (Figuras 23C, 23D y Figura 3C: pUTD10Not, pUTD10Cog y pUTD23Tyn, véase el Ejemplo I).

Los derivados con permutaciones al azar de INVAC-1 tienen una distribución citoplasmática predominante y un patrón de exclusión nucleolar

- 50 Como se demostró para INVAC-1 y derivados INVAC-1 (pUTD10Not, pUTD10Cog y pUTD23Tyn, véase el Ejemplo I), las proteínas con permutaciones al azar de Secuencia Aleatoria y de Secuencia Invertida codificadas por pUTScram y pUTInv se distribuyeron entre el núcleo y el citoplasma con un patrón de exclusión nucleolar (datos no mostrados).

Los derivados con permutaciones al azar de INVAC-1 no tienen actividad enzimática

Se realizó un ensayo TRAP para evaluar la actividad telomerasa de las construcciones con permutaciones al azar de Ubi-hTERT en la línea celular CrFK negativa para telomerasa. La actividad telomerasa solo se detectó en células CrFK transfectadas con hTERT de tipo salvaje utilizando el plásmido pTRIP-CMV-hTERT.

Como se muestra en la Figura 24A, los datos de absorbancia sin procesar demostraron que el nivel de actividad telomerasa de las proteínas de Secuencia Aleatoria y de Secuencia Invertida es comparable al nivel de las células no tratadas. Los datos de la Actividad Telomerasa Relativa (RTA) (Figura 24B) que representan resultados completamente analizados teniendo en cuenta la especificidad del ensayo mediante el uso de varios controles negativos, incluidas las muestras inactivadas por calor, confirmaron que estas proteínas con permutaciones al azar están completamente desprovistas de cualquier actividad telomerasa.

Las construcciones de hTERT con permutaciones al azar inducen una respuesta de células T CD8 específicas para hTERT

Las construcciones pUTScram y pUTInv se diseñaron para inducir la presentación de antígenos de múltiples epítomos de hTERT aumentando el alcance de las características de INVAC-1. Se evaluó la comparación de inmunogenicidad de pUTScram, pUTInv e INVAC-1 en ratones HLA-B7 inmunizados ID con las diferentes construcciones seguido de electroporación cutánea después de dos ciclos de inmunización (régimen de cebado/refuerzo). Los animales fueron sacrificados diez días después de la segunda vacunación/electroporación. Se recogieron los bazo de los ratones y se realizó un seguimiento de la respuesta de células T CD8 inducida a través de un ensayo ELISPOT para IFN- γ utilizando péptidos de hTERT restringidos a HLA-B7 MHC clase I (reserva de 3 péptidos p277, p351 y p1123). Se observó una diferencia significativa en la frecuencia de células T CD8 específicas para hTERT en ratones vacunados con INVAC-1, pUTScram (Secuencia Aleatoria) y pUTInv (Secuencia Invertida) en comparación con los animales de control (Figura 25).

Estos resultados demuestran que las construcciones artificiales con permutaciones al azar de hTERT, pUTScram (Secuencia Aleatoria) y pUTInv (Secuencia Invertida), fueron capaces de inducir niveles altos significativos de respuestas de células T CD8 específicas para hTERT después de dos ciclos de inmunización como lo hizo INVAC-1. De hecho, como se demostró previamente para INVAC-1, la ventaja de un régimen de vacunación de cebado/refuerzo es reforzar selectivamente las células T específicas activadas previamente y ampliar la presentación del epítipo para generar células T específicas secundarias de hTERT que impliquen nuevos TCR específicos.

La vacunación con construcciones artificiales de hTERT con permutaciones al azar pUTScram y pUTInv inducen células T CD8 específicas para hTERT citotóxicas *in vivo*

Entre las células inmunitarias que son relevantes en las respuestas inmunitarias antitumorales, los linfocitos T CD8 citotóxicos (CTL) y las células T CD4 Th1 se han identificado como las células efectoras más potentes (Vesely, Kershaw et al. 2011) (Braumuller, Wieder et al. 2013)

Se investigó la actividad citotóxica de las células T CD8 específicas para hTERT *in vivo* después de la vacunación ID/electroporación con INVAC-1, pUTScram y pUTInv. Para medir la resistencia citolítica *in vivo* de la respuesta de células T CD8 específica de hTERT⁺ provocada por la inmunización con ADN, se realizó un ensayo de citotoxicidad *in vivo* utilizando esplenocitos marcados con pulsos de péptidos y succinimidil éster diacetato carboxifluoresceína (CFSE) como células diana. A ratones transgénicos para HLA-B7 que recibieron una vacuna con construcciones de ADN (o PBS como control) a través de la vía ID, como se describió anteriormente, se les inyectaron por vía intravenosa 10^7 células diana. Las células diana eran esplenocitos de ratones congénicos no sometidos a tratamiento previo marcados independientemente con 3 concentraciones diferentes de CFSE y pulsadas con un péptido hTERT restringido a HLA-B7 (p351, péptido inmunodominante o p1123, péptido subdominante) o sin pulsar como control interno. Después de 15-18 horas, se recogieron bazo de ratones inmunizados y se analizaron las suspensiones de esplenocitos mediante citometría de flujo. El porcentaje de lisis específica se evaluó comparando la proporción de células marcadas con CFSE pulsado a no pulsado en ratones vacunados versus ratones control.

Los resultados muestran que todos los ratones inmunizados con las diferentes construcciones desarrollaron linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos de hTERT después de una inmunización.

Como se esperaba, la citotoxicidad contra el péptido inmunodominante p351 fue mayor que contra el péptido subdominante p1123 para los tres grupos (Figura 26).

La inmunización con INVAC-1 y pUTInv condujo a una lisis específica de células diana portadoras de epítomos inmuno-dominantes de telomerasa (p351) de 37% y 35%, respectivamente (Figura 26, puntos de color negro). En comparación, la inmunización con pUTScram condujo a una lisis específica de 20%. Dos ratones de cinco inmunizados con INVAC-1 y uno de seis con pUTScram desarrollaron CTL específicos contra el péptido subdominante p1123 (Figura 26, puntos de color gris).

Como se indicó anteriormente, se puede esperar que múltiples ciclos de inyección permitan aumentar el número de animales que desarrollan una lisis por CTL específica contra péptidos inmunodominantes y subdominantes. De hecho, los resultados anteriores (véase el Ejemplo I) demostraron que una segunda inmunización amplía el abanico de respuestas inmunitarias contra los epítomos subdominantes.

5 En conclusión, como INVAC-1, la inmunización artificial mediada por hTERT con permutaciones al azar de Secuencia Aleatoria o de Secuencia Invertida puede generar células T CD8 específicas para hTERT que exhiben actividad citolítica *in vivo*.

Referencias

- Adolph, K. 1996 ed. "Viral Genome Methods" CRC Press, Florida
- 10 • Adotevi, O., Mollier, K., Neuveut, C., Cardinaud, S., Boulanger, E., Mignen, B., Fridman, W.H., Zanetti, M., Charneau, P., Tartour, E., et al. (2006). Immunogenic HLA-B*0702-restricted epitopes derived from human telomerase reverse transcriptase that elicit antitumor cytotoxic T-cell responses. Clin Cancer Res 12, 3158-3167.
- Andersson, H.A., y Barry, M.A. (2004). Maximizing antigen targeting to the proteasome for gene-based vaccines. Mol Ther 10, 432-446.
- 15 • Bachmair, A., Finley, D., y Varshavsky, A. (1986). In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. Science 234, 179-186.
- Braumuller, H., Wieder, T., Brenner, E., Assmann, S., Hahn, M., Alkhaled, M., Schilbach, K., Essmann, F., Kneilling, M., Griessinger, C., et al. (2013). T-helper-1-cell cytokines drive cancer into senescence. Nature 20 494, 361-365.
- Cadima-Couto, I., Freitas-Vieira, A., Nowarski, R., Britan-Rosich, E., Kotler, M., y Goncalves, J. (2009). Ubiquitin-fusion as a strategy to modulate protein half-life: A3G antiviral activity revisited. Virology 393, 286-294.
- Cheever et al., The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. Clin Cancer Res, 2009. 15(17): p. 5323-37.
- 25 • Combadiere, B., y Liard, C. (2011). Transcutaneous and intradermal vaccination. Human Vaccines 7, 811-827.
- Cortez-Gonzalez, X., Sidney, J., Adotevi, O., Sette, A., Millard, F., Lemonnier, F., Langlade-Demoyen, P., y Zanetti, M. (2006). Immunogenic HLA-B7-restricted peptides of hTERT. Int Immunol 18, 1707-1718.
- 30 • Dosset, M., Godet, Y., Vauchy, C., Beziaud, L., Lone, Y.C., Sedlik, C., Liard, C., Levionnois, E., Clerc, B., Sandoval, F., et al. (2012). Universal cancer peptide-based therapeutic vaccine breaks tolerance against telomerase and eradicates established tumor. Clin Cancer Res 18, 6284-6295.
- Firat, H., Cochet, M., Rohrich, P.S., Garcia-Pons, F., Darche, S., Danos, O., Lemonnier, F.A., y Langlade-Demoyen, P. (2002). Comparative analysis of the CD8(+) T cell repertoires of H-2 class I wild-type/HLA-A2.1 and H-2 class I knockout/HLA-A2.1 transgenic mice. Internat Immunol 14, 925-934.
- 35 • Godet, Y., Fabre-Guillevin, E., Dosset, M., Lamuraglia, M., Levionnois, E., Ravel, P., Benhamouda, N., Cazes, A., Le Pimpec-Barthes, F., Gaugler, B., et al. (2012). Analysis of spontaneous tumor-specific CD4 T cell immunity in lung cancer using promiscuous HLA-DR telomerase-derived epitopes: potential synergistic effect with chemotherapy response. Clin Cancer Res 18, 2943-2953.
- 40 • Lavigueur, A., H. La Branche, et al. (1993). A splicing enhancer in the human fibronectin alternate ED1 exon interacts with SR proteins and stimulates U2 snRNP binding. Genes Dev 7: 2405-2417.
- Michalek, M.T., Grant, E.P., Gramm, C., Goldberg, A.L., y Rock, K.L. (1993). A role for the ubiquitin-dependent proteolytic pathway in MHC class I-restricted antigen presentation. Nature 363, 552-554.
- 45 • Mir LM. 2008. Application of electroporation gene therapy: past, current, and future. Methods Mol Biol 423: 3-17.
- Murray, 1991, ed. "Gene Transfer and Expression Protocols" Humana Pres, Clifton, N.J.
- Pajot, A., Michel, M.L., Fazilleau, N., Pancre, V., Auriault, C., Ojcius, D.M., Lemonnier, F.A., y Lone, Y.C. (2004). A mouse model of human adaptive immune functions: HLA-A2.1-/HLA-DR1-transgenic H-2 class I-/class II-knockout mice. Eur J Immunol 34, 3060-3069.
- 50 • Parmiani, G., Castelli, C., Pilla, L., Santinami, M., Colombo, M.P., y Rivoltini, L. (2007). Opposite immune functions of GM-CSF administered as vaccine adjuvant in cancer patients. Ann Oncol 18, 226-232.
- Rohrich, P.S., Cardinaud, S., Firat, H., Lamari, M., Briand, P., Escriou, N., y Lemonnier, F.A. (2003). HLA-B*0702 transgenic, H-2KbDb double-knockout mice: phenotypical and functional characterization in response to influenza virus. Int Immunol 15, 765-772.
- 55 • Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP (2004). Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. Nat Med. 10:909-15.
- Sardesai NY, Weiner DB. 2011. Electroporation delivery of DNA vaccines: prospects for success. Curr Opin Immunol 23: 421-429.

- Tasaki, T., Sriram, S.M., Park, K.S., y Kwon, Y.T. (2012). The N-end rule pathway. *Annu Rev Biochem* 81, 261-289.
- Varshavsky, A. (1996). The N-end rule: functions, mysteries, uses. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 12142-12149.
- Vesely, M.D., Kershaw, M.H., Schreiber, R.D., y Smyth, M.J. (2011). Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol* 29, 235-271.
- Yang, 1992, "Gene transfer into mammalian somatic cells in vivo", *Crit. Rev. Biotech.* 12: 335-356
- Yang, Y., Chen, Y., Zhang, C., Huang, H., y Weissman, S.M. (2002). Nucleolar localization of hTERT protein is associated with telomerase function. *Exp Cell Res* 277, 201-209.

5

10

LISTA DE SECUENCIAS

<110> INVECTYS

5 <120> Una vacuna de ADN que codifica telomerasa

<130> B1698PC00

<160> 50

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

15 <211> 4018

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20 <220>

<221> CDS

<222> (59)..(3457)

<400> 1

caggcagcgc tgcgtcctgc tgcgcacgtg ggaagccctg gccccggcca cccccgcg 58

atg	ccg	cgc	gct	ccc	cgc	tgc	cga	gcc	gtg	cgc	tcc	ctg	ctg	cgc	agc	106
Met	Pro	Arg	Ala	Pro	Arg	Cys	Arg	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Leu	Arg	Ser	
1				5					10					15		

cac	tac	cgc	gag	gtg	ctg	ccg	ctg	gcc	acg	ttc	gtg	cgg	cgc	ctg	ggg	154
His	Tyr	Arg	Glu	Val	Leu	Pro	Leu	Ala	Thr	Phe	Val	Arg	Arg	Leu	Gly	
			20				25					30				

ccc	cag	ggc	tgg	cgg	ctg	gtg	cag	cgc	ggg	gac	ccg	gcg	gct	ttc	cgc	202
Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	
		35				40					45					

gcg	ctg	gtg	gcc	cag	tgc	ctg	gtg	tgc	gtg	ccc	tgg	gac	gca	cgg	ccg	250
Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	
	50				55					60						

ccc	ccc	gcc	gcc	ccc	tcc	ttc	cgc	cag	gtg	tcc	tgc	ctg	aag	gag	ctg	298
Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	
65				70					75					80		

gtg	gcc	cga	gtg	ctg	cag	agg	ctg	tgc	gag	cgc	ggc	gcg	aag	aac	gtg	346
Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val	
			85					90					95			

ctg	gcc	ttc	ggc	ttc	gcg	ctg	ctg	gac	ggg	gcc	cgc	ggg	ggc	ccc	ccc	394
Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	
			100					105					110			

gag	gcc	ttc	acc	acc	agc	gtg	cgc	agc	tac	ctg	ccc	aac	acg	gtg	acc	442
Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val	Thr	
			115				120					125				

gac	gca	ctg	cgg	ggg	agc	ggg	gcg	tgg	ggg	ctg	ctg	ctg	cgc	cgc	gtg	490
Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg	Val	
	130					135				140						

ggc	gac	gac	gtg	ctg	gtt	cac	ctg	ctg	gca	cgc	tgc	gcg	ctc	ttt	gtg	538
Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe	Val	

ES 2 771 862 T3

145	150	155	160	
ctg gtg gct ccc agc tgc gcc tac cag gtg tgc ggg ccg ccg ctg tac				586
Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr	165	170	175	
cag ctc ggc gct gcc act cag gcc cgg ccc ccg cca cac gct agt gga				634
Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly	180	185	190	
ccc cga agg cgt ctg gga tgc gaa cgg gcc tgg aac cat agc gtc agg				682
Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg	195	200	205	
gag gcc ggg gtc ccc ctg ggc ctg cca gcc ccg ggt gcg agg agg cgc				730
Glu Ala Gly Val Pro Leu Gln Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg	210	215	220	
ggg ggc agt gcc agc cga agt ctg ccg ttg ccc aag agg ccc agg cgt				778
Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg	225	230	235	240
ggc gct gcc cct gag ccg gag cgg acg ccc gtt ggg cag ggg tcc tgg				826
Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp	245	250	255	
gcc cac ccg ggc agg acg cgt gga ccg agt gac cgt ggt ttc tgt gtg				874
Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val	260	265	270	
gtg tca cct gcc aga ccc gcc gaa gaa gcc acc tct ttg gag ggt gcg				922
Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala	275	280	285	
ctc tct ggc acg cgc cac tcc cac cca tcc gtg ggc cgc cag cac cac				970
Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His	290	295	300	
gcg ggc ccc cca tcc aca tcg cgg cca cca cgt ccc tgg gac acg cct				1018
Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro	305	310	315	320
tgt ccc ccg gtg tac gcc gag acc aag cac ttc ctc tac tcc tca ggc				1066
Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly	325	330	335	
gac aag gag cag ctg cgg ccc tcc ttc cta ctc agc tct ctg agg ccc				1114
Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro	340	345	350	
agc ctg act ggc gct cgg agg ctc gtg gag acc atc ttt ctg ggt tcc				1162
Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser	355	360	365	
agg ccc tgg atg cca ggg act ccc cgc agg ttg ccc cgc ctg ccc cag				1210
Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln	370	375	380	
cgc tac tgg caa atg cgg ccc ctg ttt ctg gag ctg ctt ggg aac cac				1258
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His	385	390	395	400
gcg cag tgc ccc tac ggg gtg ctc ctc aag acg cac tgc ccg ctg cga				1306

ES 2 771 862 T3

Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Arg	
				405					410					415		
gct	gcg	gtc	acc	cca	gca	gcc	ggt	gtc	tgt	gcc	cgg	gag	aag	ccc	cag	1354
Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	Arg	Glu	Lys	Pro	Gln	
			420					425					430			
ggc	tct	gtg	gcg	gcc	ccc	gag	gag	gag	gac	aca	gac	ccc	cgt	cgc	ctg	1402
Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Asp	Pro	Arg	Arg	Leu	
		435					440					445				
gtg	cag	ctg	ctc	cgc	cag	cac	agc	agc	ccc	tgg	cag	gtg	tac	ggc	ttc	1450
Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Tyr	Gly	Phe	
	450					455					460					
gtg	cgg	gcc	tgc	ctg	cgc	cgg	ctg	gtg	ccc	cca	ggc	ctc	tgg	ggc	tcc	1498
Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly	Ser	
465					470					475					480	
agg	cac	aac	gaa	cgc	cgc	ttc	ctc	agg	aac	acc	aag	aag	ttc	atc	tcc	1546
Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys	Phe	Ile	Ser	
				485					490					495		
ctg	ggg	aag	cat	gcc	aag	ctc	tcg	ctg	cag	gag	ctg	acg	tgg	aag	atg	1594
Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Met	
			500					505					510			
agc	gtg	cgg	gac	tgc	gct	tgg	ctg	cgc	agg	agc	cca	ggg	gtt	ggc	tgt	1642
Ser	Val	Arg	Asp	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly	Cys	
		515					520					525				
gtt	ccg	gcc	gca	gag	cac	cgt	ctg	cgt	gag	gag	atc	ctg	gcc	aag	ttc	1690
Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	
	530					535					540					
ctg	cac	tgg	ctg	atg	agt	gtg	tac	gtc	gtc	gag	ctg	ctc	agg	tct	ttc	1738
Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	
545					550					555					560	
ttt	tat	gtc	acg	gag	acc	acg	ttt	caa	aag	aac	agg	ctc	ttt	ttc	tac	1786
Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	
			565					570						575		
cgg	aag	agt	gtc	tgg	agc	aag	ttg	caa	agc	att	gga	atc	aga	cag	cac	1834
Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	
			580					585					590			
ttg	aag	agg	gtg	cag	ctg	cgg	gag	ctg	tcg	gaa	gca	gag	gtc	agg	cag	1882
Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	
		595					600					605				
cat	cgg	gaa	gcc	agg	ccc	gcc	ctg	ctg	acg	tcc	aga	ctc	cgc	ttc	atc	1930
His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	
		610				615					620					
ccc	aag	cct	gac	ggg	ctg	cgg	ccg	att	gtg	aac	atg	gac	tac	gtc	gtg	1978
Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg	Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	
625					630					635					640	
gga	gcc	aga	acg	ttc	cgc	aga	gaa	aag	agg	gcc	gag	cgt	ctc	acc	tcg	2026
Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	
				645					650					655		

ES 2 771 862 T3

agg gtg aag gca ctg ttc agc gtg ctc aac tac gag cgg gcg cgg cgc Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg 660 665 670	2074
ccc ggc ctc ctg ggc gcc tct gtg ctg ggc ctg gac gat atc cac agg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg 675 680 685	2122
gcc tgg cgc acc ttc gtg ctg cgt gtg cgg gcc cag gac ccg ccg cct Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro 690 695 700	2170
gag ctg tac ttt gtc aag gtg gat gtg acg ggc gcg tac gac acc atc Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile 705 710 715 720	2218
ccc cag gac agg ctc acg gag gtc atc gcc agc atc atc aaa ccc cag Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln 725 730 735	2266
aac acg tac tgc gtg cgt cgg tat gcc gtg gtc cag aag gcc gcc cat Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His 740 745 750	2314
ggg cac gtc cgc aag gcc ttc aag agc cac gtc tct acc ttg aca gac Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp 755 760 765	2362
ctc cag ccg tac atg cga cag ttc gtg gct cac ctg cag gag acc agc Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser 770 775 780	2410
ccg ctg agg gat gcc gtc gtc atc gag cag agc tcc tcc ctg aat gag Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu 785 790 795 800	2458
gcc agc agt ggc ctc ttc gac gtc ttc cta cgc ttc atg tgc cac cac Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His 805 810 815	2506
gcc gtg cgc atc agg ggc aag tcc tac gtc cag tgc cag ggg atc ccg Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro 820 825 830	2554
cag ggc tcc atc ctc tcc acg ctg ctc tgc agc ctg tgc tac ggc gac Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp 835 840 845	2602
atg gag aac aag ctg ttt gcg ggg att cgg cgg gac ggg ctg ctc ctg Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu 850 855 860	2650
cgt ttg gtg gat gat ttc ttg ttg gtg aca cct cac ctc acc cac gcg Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala 865 870 875 880	2698
aaa acc ttc ctc agg acc ctg gtc cga ggt gtc cct gag tat ggc tgc Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys 885 890 895	2746
gtg gtg aac ttg cgg aag aca gtg gtg aac ttc cct gta gaa gac gag Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu 900 905 910	2794

ES 2 771 862 T3

gcc ctg ggt ggc acg gct ttt gtt cag atg ccg gcc cac ggc cta ttc Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe 915 920 925	2842
ccc tgg tgc ggc ctg ctg ctg gat acc cgg acc ctg gag gtg cag agc Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser 930 935 940	2890
gac tac tcc agc tat gcc cgg acc tcc atc aga gcc agt ctc acc ttc Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe 945 950 955 960	2938
aac cgc ggc ttc aag gct ggg agg aac atg cgt cgc aaa ctc ttt ggg Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly 965 970 975	2986
gtc ttg cgg ctg aag tgt cac agc ctg ttt ctg gat ttg cag gtg aac Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn 980 985 990	3034
agc ctc cag acg gtg tgc acc aac atc tac aag atc ctc ctg ctg cag Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln 995 1000 1005	3082
gcg tac agg ttt cac gca tgt gtg ctg cag ctc cca ttt cat cag Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln 1010 1015 1020	3127
caa gtt tgg aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp 1025 1030 1035	3172
acg gcc tcc ctc tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly 1040 1045 1050	3217
atg tgc ctg ggg gcc aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu 1055 1060 1065	3262
gcc gtg cag tgg ctg tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr 1070 1075 1080	3307
cga cac cgt gtc acc tac gtg cca ctc ctg ggg tca ctc agg aca Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr 1085 1090 1095	3352
gcc cag acg cag ctg agt cgg aag ctc ccg ggg acg acg ctg act Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr 1100 1105 1110	3397
gcc ctg gag gcc gca gcc aac ccg gca ctg ccc tca gac ttc aag Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys 1115 1120 1125	3442
acc atc ctg gac tga tggccacccg cccacagcca ggccgagagc agacaccagc Thr Ile Leu Asp 1130	3497
agccctgtca cgccgggctc tacgtcccag ggagggaggg gcggcccaca cccaggcccc	3557

ES 2 771 862 T3

caccgctggg agtctgaggg ctgagtgagt gtttggccga ggctgcatg tccggctgaa 3617
 ggctgagtgt ccggctgagg cctgagcgag tgtccagcca agggctgagt gtccagcaca 3677
 cctgccgtct tcacttcccc acaggctggc gctcggtcc accccagggc cagcttttcc 3737
 tcaccaggag cccggcttcc actccccaca taggaatagt ccatccccag attcgccatt 3797
 gttcaccctt cgccctgccc tcctttgcct tccaccccca ccatccaggt ggagaccctg 3857
 agaaggaccc tgggagctct gggaatttgg agtgaccaa ggtgtgccct gtacacaggg 3917
 gaggaccctg cacctggatg ggggtccctg tgggtcaa at tggggggagg tgctgtggga 3977
 gtaaaatact gaatatatga gtttttcagt tttgaaaaa a 4018

<210> 2
 <211> 1132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
 1 5 10 15
 His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
 20 25 30
 Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
 35 40 45
 Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
 50 55 60
 Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
 65 70 75 80
 Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
 85 90 95
 Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
 100 105 110
 Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
 115 120 125
 Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
 130 135 140
 Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
 145 150 155 160

ES 2 771 862 T3

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
 165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
 180 185 190

Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
 195 200 205

Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg
 210 215 220

Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
 225 230 235 240

Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
 245 250 255

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
 260 265 270

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
 275 280 285

Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
 290 295 300

Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
 305 310 315 320

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
 325 330 335

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

Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
 355 360 365

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
 370 375 380

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
 385 390 395 400

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
 405 410 415

ES 2 771 862 T3

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510

Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg

ES 2 771 862 T3

660	665	670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg		
675	680	685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro		
690	695	700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile		
705	710	715
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln		
725	730	735
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His		
740	745	750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp		
755	760	765
Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser		
770	775	780
Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu		
785	790	795
Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His		
805	810	815
Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro		
820	825	830
Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp		
835	840	845
Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu		
850	855	860
Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala		
865	870	875
Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys		
885	890	895
Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu		
900	905	910

ES 2 771 862 T3

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp
1130

5 <210> 3
<211> 3246
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(3246)

ES 2 771 862 T3

<400> 3																
cgc gct ctg gtg gcc cag tgc ctg gtg tgc gtg ccc tgg gac gca cgg																48
Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg																
1 5 10 15																
cca ccc cct gcc gca ccc tca ttc cgc caa gtg tcc tgc ctg aag gag																96
Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu																
20 25 30																
ctg gtg gcc cga gtg ctg cag agg ctg tgc gag cgc ggc gcg aag aac																144
Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn																
35 40 45																
gtg ctg gcc ttc ggc ttc gcg ctg ctg gac ggg gct cgc gga ggc cca																192
Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro																
50 55 60																
ccc gag gcc ttc acc acc agc gtg cgc agc tac ctg ccc aac acg gtg																240
Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val																
65 70 75 80																
acc gac gca ctg cgg ggg agc ggg gcg tgg ggg ctg ctg ttg cgc cgc																288
Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg																
85 90 95																
gtg ggc gac gac gtg ctg gtt cac ctg ctg gca cgc tgc gcg ctc ttt																336
Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe																
100 105 110																
gtg ctg gtg gct ccc agc tgc gcc tac cag gtg tgc ggg ccg ccg ctg																384
Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu																
115 120 125																
tac cag ctc ggc gct gcc act cag gca cgg cct cca cct cac gct agt																432
Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser																
130 135 140																
gga ccc cga agg cgt ctg gga tgc gaa cgg gcc tgg aac cat agc gtc																480
Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val																
145 150 155 160																
agg gag gcc ggg gtc ccc ctg ggc ctg cca gcc ccg ggt gcg agg agg																528
Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg																
165 170 175																
cgc ggg ggc agt gcc agc cga agt ctg ccg ttg ccc aag agg ccc agg																576
Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg																
180 185 190																
cgt ggc gct gcc cct gag ccg gag cgg acg ccc gtt ggg cag ggg tcc																624
Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser																
195 200 205																
tgg gcc cac ccg ggc agg acg cgt gga ccg agt gac cgt ggt ttc tgt																672
Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys																
210 215 220																

ES 2 771 862 T3

gtg gtg tca cct gcc aga ccc gcc gaa gaa gcc acc tct ttg gag ggt Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly 225 230 235 240	720
gcg ctc tct ggc acg cgc cac tcc cac cca tcc gtg ggc cgc cag cac Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His 245 250 255	768
cac gcg ggc ccc cca tcc aca tcg cgg cca cca cgt ccc tgg gac acg His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr 260 265 270	816
cct tgt ccc ccg gtg tac gcc gag acc aag cac ttc ctc tac tcc tca Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser 275 280 285	864
ggc gac aag gag cag ctg cgg cca tcc ttc ctg ctg agc tct ctg agg Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg 290 295 300	912
ccc agc ctg act ggc gct cgg agg ctc gtg gag acc atc ttt ctg ggt Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly 305 310 315 320	960
tcc agg ccc tgg atg cca ggg act ccc cgc agg ttg ccc cgc ctg ccc Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro 325 330 335	1008
cag cgc tac tgg caa atg cgg ccc ctg ttt ctg gag ctg ctt ggg aac Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn 340 345 350	1056
cac gcg cag tgc ccc tac ggg gtg ctc ctc aag acg cac tgc ccg ctg His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu 355 360 365	1104
cga gct gcg gtc acc cca gca gcc ggt gtc tgt gcc cgg gag aag ccc Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro 370 375 380	1152
cag ggc tct gtg gcg gcc ccc gag gag gag gac aca gac ccc cgt cgc Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg 385 390 395 400	1200
ctg gtg cag ctg ctc cgc cag cac agc agc ccc tgg cag gtg tac ggc Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly 405 410 415	1248
ttc gtg cgg gcc tgc ctg cgc cgg ctg gtg ccc cca ggc ctc tgg ggc Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly 420 425 430	1296
tcc agg cac aac gaa cgc cgc ttc ctc agg aac acc aag aag ttc atc Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile 435 440 445	1344
tcc ctg ggg aag cat gcc aag ctc tcg ctg cag gag ctg acg tgg aag Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys 450 455 460	1392
atg agc gtg cgg ggc tgc gct tgg ctg cgc agg agc cca ggg gtt ggc Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly 1440	1440

ES 2 771 862 T3

465	470	475	480	
tgt gtt ccg gcc gca gag cac cgt ctg cgt gag gag atc ctg gcc aag Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys 485 490 495				1488
ttc ctg cac tgg ctg atg agt gtg tac gtc gtc gag ctg ctc agg tca Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser 500 505 510				1536
ttc ttt tac gtg acg gag acc acg ttt caa aag aac agg ctg ttt ttc Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe 515 520 525				1584
tac cgg aag agt gtc tgg agc aag ttg caa agc att gga atc aga cag Tyr Arg Lys Ser Val Trp Phe Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln 530 535 540				1632
cac ttg aag agg gtg cag ctg cgg gag ctg tcg gaa gca gag gtc agg His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg 545 550 555 560				1680
cag cat cgg gaa gcc agg ccc gcc ctg ctg acg tcc aga ctc cgc ttc Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe 565 570 575				1728
atc ccc aag cct gac ggg ctg cgg ccg att gtg aac atg gac tac gtc Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val 580 585 590				1776
gtg gga gcc aga acg ttc cgc aga gaa aag agg gcc gag cgt ctc acc Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr 595 600 605				1824
tca cgg gtg aag gca ctg ttc agc gtg ctc aac tac gag cgg gct cgg Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg 610 615 620				1872
cgc cct ggc ctc ctg ggc gcc tct gtg ctg ggc ctg gac gat atc cac Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His 625 630 635 640				1920
agg gcc tgg cgc acc ttc gtg ctg cgt gtg cgg gcc cag gac ccg ccg Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro 645 650 655				1968
cct gag ctg tac ttt gtc aag gtg gat gtg acg ggc gcg tac gac acc Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr 660 665 670				2016
atc ccc cag gac agg ctc acg gag gtc atc gcc agc atc atc aaa ccc Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro 675 680 685				2064
cag aac acg tac tgc gtg cgt cgg tat gcc gtg gtc cag aag gcc gcc Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala 690 695 700				2112
cat ggg cac gtc cgc aag gcc ttc aag agc cac gtc tct acc ttg aca His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr 705 710 715 720				2160
gac ctc cag ccg tac atg cga cag ttc gtg gct cac ctg cag gag acc				2208

ES 2 771 862 T3

Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	
				725					730					735		
agc	ccg	ctg	agg	gat	gcc	gtc	gtc	atc	gag	cag	agc	tcc	tcc	ctg	aat	2256
Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	
			740					745					750			
gag	gcc	agc	agt	ggc	ctc	ttc	gac	gtc	ttc	cta	cgc	ttc	atg	tgc	cac	2304
Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	
		755					760					765				
cac	gcc	gtg	cgc	atc	agg	ggc	aag	tcc	tac	gtc	cag	tgc	cag	ggc	atc	2352
His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys	Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	
		770				775					780					
ccg	cag	ggc	tcc	atc	ctc	tcc	acg	ctg	ctc	tgc	agc	ctg	tgc	tac	ggc	2400
Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	
		785			790					795					800	
gac	atg	gag	aac	aag	ctg	ttt	gcg	ggg	att	cgg	cgg	gac	ggg	ctg	ctc	2448
Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala	Gly	Ile	Arg	Arg	Asp	Gly	Leu	Leu	
			805					810						815		
ctg	cgt	ttg	ttc	ttg	ttg	gtg	aca	cct	cac	ctc	acc	cac	gcg	aaa	acc	2496
Leu	Arg	Leu	Phe	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	His	Leu	Thr	His	Ala	Lys	Thr	
			820					825					830			
ttc	ctc	agg	acc	ctg	gtc	cga	ggt	gtc	cct	gag	tat	ggc	tgc	gtg	gtg	2544
Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys	Val	Val	
		835					840					845				
aac	ttg	cgg	aag	aca	gtg	gtg	aac	ttc	cct	gta	gaa	gac	gag	gcc	ctg	2592
Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu	Ala	Leu	
		850				855					860					
ggt	ggc	acg	gct	ttt	gtt	cag	atg	ccg	gcc	cac	ggc	cta	ttc	ccc	tgg	2640
Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Pro	Trp	
				870						875					880	
tgc	ggc	ctg	ctg	ctg	gat	acc	cgg	acc	ctg	gag	gtg	cag	agc	gac	tac	2688
Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser	Asp	Tyr	
				885				890						895		
tcc	agc	tat	gcc	cgg	acc	tcc	atc	aga	gcc	agt	ctc	acc	ttc	aac	cgc	2736
Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn	Arg	
			900					905					910			
ggc	ttc	aag	gct	ggg	agg	aac	atg	cgt	cgc	aaa	ctc	ttt	ggg	gtc	ttg	2784
Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val	Leu	
		915					920					925				
cgg	ctg	aag	tgt	cac	agc	ctg	ttt	ctg	gat	ttg	cag	gtg	aac	agc	ctc	2832
Arg	Leu	Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln	Val	Asn	Ser	Leu	
		930				935					940					
cag	acg	gtg	tgc	acc	aac	atc	tac	aag	atc	ctc	ctg	ctg	cag	gcg	tac	2880
Gln	Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Tyr	
				950					955						960	
agg	ttt	cac	gca	tgt	gtg	ctg	cag	ctc	cca	ttt	cat	cag	caa	gtt	tgg	2928
Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	Pro	Phe	His	Gln	Gln	Val	Trp	
			965					970						975		

ES 2 771 862 T3

aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac acg gcc tcc ctc 2976
 Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu
 980 985 990

tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg atg tcg ctg ggg gcc 3024
 Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala
 995 1000 1005

aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag gcc gtg cag tgg ctg 3069
 Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu
 1010 1015 1020

tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act cga cac cgt gtc acc 3114
 Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr
 1025 1030 1035

tac gtg cca ctc ctg ggg tca ctc agg aca gcc cag acg cag ctg 3159
 Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu
 1040 1045 1050

agt cgg aag ctc ccg ggg acg acg ctg act gcc ctg gag gcc gca 3204
 Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala
 1055 1060 1065

gcc aac ccg gca ctg ccc tca gac ttc aag acc atc ctg gac 3246
 Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
 1070 1075 1080

<210> 4
 <211> 1082
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg
 1 5 10 15

Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu
 20 25 30

Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn
 35 40 45

Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro
 50 55 60

Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val
 65 70 75 80

Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg
 85 90 95

Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe
 100 105 110

ES 2 771 862 T3

Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu
 115 120 125
 Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser
 130 135 140
 Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg
 165 170 175
 Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg
 180 185 190
 Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser
 195 200 205
 Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys
 210 215 220
 Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly
 225 230 235 240
 Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His
 245 250 255
 His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr
 260 265 270
 Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser
 275 280 285
 Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg
 290 295 300
 Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly
 305 310 315 320
 Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro
 325 330 335
 Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn
 340 345 350
 His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu
 355 360 365

ES 2 771 862 T3

Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro
 370 375 380
 Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg
 385 390 395 400
 Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly
 405 410 415
 Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly
 420 425 430
 Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile
 435 440 445
 Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys
 450 455 460
 Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly
 465 470 475 480
 Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys
 485 490 495
 Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser
 500 505 510
 Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe
 515 520 525
 Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln
 530 535 540
 His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg
 545 550 555 560
 Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
 565 570 575
 Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val
 580 585 590
 Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr
 595 600 605
 Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg

ES 2 771 862 T3

610		615		620	
Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His					
625		630		635	640
Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro					
		645		650	655
Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr					
		660		665	670
Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro					
		675		680	685
Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala					
		690		695	700
His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr					
		710		715	720
Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr					
		725		730	735
Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn					
		740		745	750
Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His					
		755		760	765
His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile					
		770		775	780
Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly					
		790		795	800
Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu					
		805		810	815
Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr					
		820		825	830
Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val					
		835		840	845
Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu					
		850		855	860

ES 2 771 862 T3

Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp
865 870 875 880

Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr
885 890 895

Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg
900 905 910

Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu
915 920 925

Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu
930 935 940

Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr
945 950 955 960

Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp
965 970 975

Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu
980 985 990

Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala
995 1000 1005

Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu
1010 1015 1020

Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr
1025 1030 1035

Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu
1040 1045 1050

Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala
1055 1060 1065

Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
1070 1075 1080

<210> 5
<211> 3297
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3297)

<400> 5

ES 2 771 862 T3

ctg gcc acc ttc gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val 1 5 10 15	48
cag cgc ggg gac cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu 20 25 30	96
gtc tgc gtt cct tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe 35 40 45	144
cgg cag gtg agt tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg 50 55 60	192
ctt tgt gaa agg gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu 65 70 75 80	240
ctc gat gga gca cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val 85 90 95	288
cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly 100 105 110	336
gcc tgg ggt ctg ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His 115 120 125	384
ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala 130 135 140	432
tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln 145 150 155 160	480
gcc cgc cca cca cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc Ala Arg Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys 165 170 175	528
gaa cgg gca tgg aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly 180 185 190	576
ctg cca gcc ccc gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser 195 200 205	624
ctc ccc ttg cct aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu 210 215 220	672
aga aca cct gtc ggc cag ggc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg 225 230 235 240	720

ES 2 771 862 T3

ggc cca agc gat agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala 245 250 255	768
gaa gag gct acc tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser 260 265 270	816
cat cca tct gtg ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser 275 280 285	864
aga cct ccc aga cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu 290 295 300	912
acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro 305 310 315 320	960
tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg 325 330 335	1008
ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca ggc acc Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr 340 345 350	1056
ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro 355 360 365	1104
ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val 370 375 380	1152
ctg ctg aag acc cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Val Thr Pro Ala Ala 385 390 395 400	1200
ggt gtg tgt gct aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu 405 410 415	1248
gag gag gac act gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His 420 425 430	1296
tca tca cca tgg cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg 435 440 445	1344
ctg gtc ccc ccc gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe 450 455 460	1392
ctg agg aat aca aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu 465 470 475 480	1440
agc ttg cag gag ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp	1488

ES 2 771 862 T3

485								490					495					
ctc	agg	cgg	tca	cct	gga	gtt	gga	tgc	gtt	cca	gca	gca	gag	cac	agg	1536		
Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly	Cys	Val	Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg			
			500					505					510					
ctg	cgc	gaa	gag	att	ctc	gca	aag	ttc	ctg	cac	tgg	ctt	atg	agc	gtc	1584		
Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	Leu	His	Trp	Leu	Met	Ser	Val			
		515					520					525						
tac	gtg	gtc	gaa	ctg	ctg	cgg	tct	ttc	ttc	tac	gtg	aca	gag	acc	act	1632		
Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	Phe	Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr			
	530					535					540							
ttt	cag	aag	aac	aga	ctg	ttc	ttc	tac	agg	aag	tcc	gtc	tgg	agc	aag	1680		
Phe	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Arg	Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys			
545					550					555					560			
ctc	cag	agt	att	ggg	att	aga	cag	cac	ctt	aag	aga	gtt	cag	ctt	aga	1728		
Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg			
				565					570					575				
gag	ctg	tcc	gaa	gct	gaa	gtc	cgc	cag	cac	cgc	gaa	gct	cgc	ccc	gcc	1776		
Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala			
			580					585					590					
ctc	ctg	acc	tct	cgg	ctg	cgg	ttt	att	ccc	aaa	ccc	gat	ggc	ctt	aga	1824		
Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg			
		595					600					605						
cct	atc	gtg	aat	atg	gat	tac	gtc	gtg	ggg	gcc	cgc	act	ttc	aga	agg	1872		
Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg			
	610					615					620							
gag	aag	cgc	gcc	gag	aga	ctg	aca	tct	cgc	gtg	aag	gca	ctt	ttt	tct	1920		
Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser			
625					630					635					640			
gtg	ctt	aat	tat	gaa	aga	gcc	cgc	aga	cct	ggg	ctt	ctc	gga	gcc	agc	1968		
Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser			
				645					650					655				
gtg	ctc	ggc	ctg	gat	gat	atc	cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	ctt	2016		
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu			
			660					665					670					
cgg	gtg	agg	gca	cag	gat	cct	cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	gtt	2064		
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val			
		675				680						685						
gat	gtt	act	ggg	gct	tac	gat	aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	gag	2112		
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu			
	690					695					700							
gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	2160		
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg			
705					710					715					720			
tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gct	ttc	2208		
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe			
				725					730					735				
aaa	tcc	cac	gtg	tct	acc	ttg	aca	gac	ctc	cag	cct	tat	atg	cgg	cag	2256		

ES 2 771 862 T3

Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln		
			740					745					750				
ttt	gtc	gca	cac	ctg	cag	gag	act	agc	ccc	ttg	agg	gac	gct	gtg	gtc		2304
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val		
		755					760					765					
atc	gaa	cag	tcc	agc	tct	ctc	aat	gag	gca	tcc	tca	ggc	ctg	ttt	gat		2352
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp		
	770					775					780						
gtg	ttc	ctg	cgc	ttt	atg	tgc	cac	cac	gcc	gtg	cgg	att	agg	ggc	aag		2400
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys		
	785				790					795					800		
tct	tac	gtg	cag	tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggc	agc	atc	ctg	agc	aca		2448
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr		
			805						810					815			
ctg	ctg	tgt	agc	ctg	tgc	tat	ggc	gat	atg	gag	aat	aaa	ttg	ttc	gcc		2496
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala		
			820					825					830				
ggc	atc	aga	aga	ttc	ctg	ctg	gtt	acc	ccc	cat	ctg	act	cat	gcc	aaa		2544
Gly	Ile	Arg	Arg	Phe	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	His	Leu	Thr	His	Ala	Lys		
		835					840					845					
aca	ttt	ttg	cgg	act	ctg	gtt	agg	ggc	gtg	cca	gag	tat	ggc	tgt	gtt		2592
Thr	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys	Val		
	850					855					860						
gtg	aat	ttg	cgg	aaa	act	gtg	gtt	aat	ttc	cca	gtg	gag	gac	gaa	gct		2640
Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu	Ala		
	865				870					875					880		
ctc	gga	ggc	aca	gct	ttt	gtt	cag	atg	cct	gcc	cac	ggc	ctg	ttc	cca		2688
Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Pro		
			885						890					895			
tgg	tgc	gga	ctg	ctg	ctc	gat	acc	cgg	acc	ctc	gag	gtg	cag	tcc	gat		2736
Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser	Asp		
			900					905					910				
tat	agt	tcc	tat	gca	aga	aca	tca	att	cgg	gct	agc	ctg	act	ttc	aac		2784
Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn		
		915					920					925					
agg	ggc	ttc	aag	gcc	ggc	cgg	aat	atg	aga	agg	aaa	ctg	ttc	gga	gtg		2832
Arg	Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val		
	930					935					940						
ttg	aga	ctt	aag	tgt	cat	agt	ctt	ttt	ttg	gac	ttg	cag	gtc	aat	tct		2880
Leu	Arg	Leu	Lys	Cys	His	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln	Val	Asn	Ser		
	945				950					955					960		
ctc	cag	aca	gtg	tgt	acc	aac	att	tat	aaa	atc	ctc	ttg	ctg	cag	gct		2928
Leu	Gln	Thr	Val	Cys	Thr	Asn	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala		
			965						970					975			
tac	aga	ttc	cat	gcc	tgc	gtc	ctg	cag	ctg	cct	ttc	cac	cag	cag	gtg		2976
Tyr	Arg	Phe	His	Ala	Cys	Val	Leu	Gln	Leu	Pro	Phe	His	Gln	Gln	Val		
			980					985					990				

ES 2 771 862 T3

tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc agt	3024
Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser	
995 1000 1005	
ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc ttg	3069
Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu	
1010 1015 1020	
gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc cag	3114
Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln	
1025 1030 1035	
tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac cgc	3159
Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg	
1040 1045 1050	
gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag acc	3204
Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr	
1055 1060 1065	
cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc gaa	3249
Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu	
1070 1075 1080	
gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc ctg	3294
Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu	
1085 1090 1095	
gac	3297
Asp	

<210> 6
 <211> 1099
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
 1 5 10 15
 Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu
 20 25 30
 Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe
 35 40 45
 Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg
 50 55 60
 Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu
 65 70 75 80
 Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val
 85 90 95

ES 2 771 862 T3

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

Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His
 115 120 125

Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala
 130 135 140

Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln
 145 150 155 160

Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys
 165 170 175

Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly
 180 185 190

Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser
 195 200 205

Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu
 210 215 220

Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala
 245 250 255

Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser
 260 265 270

His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser
 275 280 285

Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu
 290 295 300

Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro
 305 310 315 320

Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg
 325 330 335

Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr
 340 345 350

ES 2 771 862 T3

Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro
 355 360 365
 Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val
 370 375 380
 Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala
 385 390 395 400
 Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu
 405 410 415
 Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His
 420 425 430
 Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg
 435 440 445
 Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe
 450 455 460
 Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu
 465 470 475 480
 Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp
 485 490 495
 Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg
 500 505 510
 Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val
 515 520 525
 Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr
 530 535 540
 Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys
 545 550 555 560
 Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg
 565 570 575
 Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala
 580 585 590
 Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg

ES 2 771 862 T3

595					600					605					
Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg
610					615						620				
Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser
625					630					635					640
Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser
				645					650					655	
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu
			660					665					670		
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val
		675					680					685			
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu
	690					695					700				
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg
705					710					715					720
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe
				725					730					735	
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln
			740					745					750		
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val
		755					760					765			
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp
	770					775					780				
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys
785					790					795					800
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr
			805						810					815	
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala
			820					825					830		
Gly	Ile	Arg	Arg	Phe	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	His	Leu	Thr	His	Ala	Lys
		835					840					845			

ES 2 771 862 T3

Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val
 850 855 860
 Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala
 865 870 875 880
 Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro
 885 890 895
 Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp
 900 905 910
 Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn
 915 920 925
 Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val
 930 935 940
 Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser
 945 950 955 960
 Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala
 965 970 975
 Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val
 980 985 990
 Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser
 995 1000 1005
 Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
 1010 1015 1020
 Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln
 1025 1030 1035
 Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg
 1040 1045 1050
 Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr
 1055 1060 1065
 Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu
 1070 1075 1080
 Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
 1085 1090 1095

Asp

5 <210> 7
 <211> 3297
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <220>
 <221> CDS

ES 2 771 862 T3

<222> (1)..(3297)

<400> 7

ctg gcc acc ttc gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val 1 5 10 15	48
cag cgc ggg gac cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu 20 25 30	96
gtc tgc gtt cct tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe 35 40 45	144
cgg cag gtg agt tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg 50 55 60	192
ctt tgt gaa agg gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu 65 70 75 80	240
ctc gat gga gca cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val 85 90 95	288
cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly 100 105 110	336
gcc tgg ggt ctg ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His 115 120 125	384
ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala 130 135 140	432
tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln 145 150 155 160	480
gcc cgc cca cca cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys 165 170 175	528
gaa cgg gca tgg aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly 180 185 190	576

ES 2 771 862 T3

ctg cca gcc ccc gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser 195 200 205	624
ctc ccc ttg cct aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu 210 215 220	672
aga aca cct gtc ggc cag ggc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg 225 230 235 240	720
ggc cca agc gat agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala 245 250 255	768
gaa gag gct acc tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser 260 265 270	816
cat cca tct gtg ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser 275 280 285	864
aga cct ccc aga cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu 290 295 300	912
acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro 305 310 315 320	960
tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg 325 330 335	1008
ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca ggc acc Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr 340 345 350	1056
ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro 355 360 365	1104
ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val 370 375 380	1152
ctg ctg aag acc cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala 385 390 395 400	1200
ggt gtg tgt gct aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu 405 410 415	1248
gag gag gac act gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His 420 425 430	1296
tca tca cca tgg cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg 435 440 445	1344

ES 2 771 862 T3

435	440	445	
ctg gtc ccc ccc gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe 450 455 460			1392
ctg agg aat aca aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu 465 470 475 480			1440
agc ttg cag gag ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Val Arg Gly Cys Ala Trp 485 490 495			1488
ctc agg cgg tca cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg Leu Arg Arg Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg 500 505 510			1536
ctg cgc gaa gag att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc Leu Arg Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val 515 520 525			1584
tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr 530 535 540			1632
ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys 545 550 555 560			1680
ctc cag agt att ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg 565 570 575			1728
gag ctg tcc gaa gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala 580 585 590			1776
ctc ctg acc tct cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg 595 600 605			1824
cct atc gtg aat atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg 610 615 620			1872
gag aag cgc gcc gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser 625 630 635 640			1920
gtg ctt aat tat gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser 645 650 655			1968
gtg ctc ggc ctg gat gat atc cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg ctt Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu 660 665 670			2016
cgg gtg agg gca cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val 675 680 685			2064
gat gtt act ggt gct tac gat aca atc cct cag gac cgg ctc acc gag			2112

ES 2 771 862 T3

Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu		
690						695					700						
gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	2160	
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg		
705					710					715					720		
tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gct	ttc	2208	
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe		
				725					730					735			
aaa	tcc	cac	gtg	tct	acc	ttg	aca	gac	ctc	cag	cct	tat	atg	cgg	cag	2256	
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln		
			740					745					750				
ttt	gtc	gca	cac	ctg	cag	gag	act	agc	ccc	ttg	agg	gac	gct	gtg	gtc	2304	
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val		
		755					760					765					
atc	gaa	cag	tcc	agc	tct	ctc	aat	gag	gca	tcc	tca	ggc	ctg	ttt	gat	2352	
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp		
	770					775					780						
gtg	ttc	ctg	cgc	ttt	atg	tgc	cac	cac	gcc	gtg	cgg	att	agg	ggc	aag	2400	
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys		
	785				790					795					800		
tct	tac	gtg	cag	tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggg	agc	atc	ctg	agc	aca	2448	
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr		
			805						810					815			
ctg	ctg	tgt	agc	ctg	tgc	tat	ggc	gat	atg	gag	aat	aaa	ttg	ttc	gcc	2496	
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala		
			820					825					830				
ggg	atc	aga	aga	gac	ggg	ttg	ctc	ctg	agg	ctg	ctg	act	cat	gcc	aaa	2544	
Gly	Ile	Arg	Arg	Asp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Thr	His	Ala	Lys		
		835				840						845					
aca	ttt	ttg	cgg	act	ctg	gtt	agg	ggc	gtg	cca	gag	tat	ggc	tgt	gtt	2592	
Thr	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys	Val		
		850				855					860						
gtg	aat	ttg	cgg	aaa	act	gtg	gtt	aat	ttc	cca	gtg	gag	gac	gaa	gct	2640	
Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu	Ala		
	865				870					875					880		
ctc	gga	ggc	aca	gct	ttt	gtt	cag	atg	cct	gcc	cac	ggc	ctg	ttc	cca	2688	
Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Pro		
			885						890					895			
tgg	tgc	gga	ctg	ctg	ctc	gat	acc	cgg	acc	ctc	gag	gtg	cag	tcc	gat	2736	
Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser	Asp		
			900					905					910				
tat	agt	tcc	tat	gca	aga	aca	tca	att	cgg	gct	agc	ctg	act	ttc	aac	2784	
Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn		
		915					920					925					
agg	ggc	ttc	aag	gcc	ggc	cgg	aat	atg	aga	agg	aaa	ctg	ttc	gga	gtg	2832	
Arg	Gly	Phe	Lys	Ala	Gly	Arg	Asn	Met	Arg	Arg	Lys	Leu	Phe	Gly	Val		
	930					935					940						

ES 2 771 862 T3

ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct	2880
Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser	
945 950 955 960	
ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag gct	2928
Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala	
965 970 975	
tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag gtg	2976
Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val	
980 985 990	
tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc agt	3024
Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser	
995 1000 1005	
ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc ttg	3069
Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu	
1010 1015 1020	
gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc cag	3114
Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln	
1025 1030 1035	
tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac cgc	3159
Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg	
1040 1045 1050	
gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag acc	3204
Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr	
1055 1060 1065	
cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc gaa	3249
Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu	
1070 1075 1080	
gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc ctg	3294
Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu	
1085 1090 1095	
gac	3297
Asp	

<210> 8
 <211> 1099
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 8
 Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
 1 5 10 15

Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu
 20 25 30

Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe
 35 40 45

ES 2 771 862 T3

Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg
 50 55 60

Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val
 85 90 95

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

Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His
 115 120 125

Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala
 130 135 140

Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln
 145 150 155 160

Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys
 165 170 175

Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly
 180 185 190

Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser
 195 200 205

Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu
 210 215 220

Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala
 245 250 255

Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser
 260 265 270

His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser
 275 280 285

Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu
 290 295 300

ES 2 771 862 T3

Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro
 305 310 315 320
 Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg
 325 330 335
 Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr
 340 345 350
 Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro
 355 360 365
 Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val
 370 375 380
 Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala
 385 390 395 400
 Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu
 405 410 415
 Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His
 420 425 430
 Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg
 435 440 445
 Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe
 450 455 460
 Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu
 465 470 475 480
 Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp
 485 490 495
 Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg
 500 505 510
 Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val
 515 520 525
 Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr
 530 535 540
 Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys

ES 2 771 862 T3

545		550		555		560									
Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg
				565					570					575	
Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala
			580					585					590		
Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	Arg
		595					600					605			
Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	Arg
	610					615					620				
Glu	Lys	Arg	Ala	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Leu	Phe	Ser
625					630					635					640
Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser
				645					650					655	
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu
			660					665					670		
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val
		675					680					685			
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu
	690					695					700				
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg
705					710					715					720
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe
				725					730					735	
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln
			740					745					750		
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val
		755					760					765			
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp
	770					775					780				
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys
785					790					795					800

ES 2 771 862 T3

Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr
 805 810 815
 Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
 820 825 830
 Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Leu Thr His Ala Lys
 835 840 845
 Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val
 850 855 860
 Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala
 865 870 875 880
 Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro
 885 890 895
 Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp
 900 905 910
 Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn
 915 920 925
 Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val
 930 935 940
 Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser
 945 950 955 960
 Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala
 965 970 975
 Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val
 980 985 990
 Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser
 995 1000 1005
 Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
 1010 1015 1020
 Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln
 1025 1030 1035
 Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg
 1040 1045 1050

ES 2 771 862 T3

Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr
1055 1060 1065

Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu
1070 1075 1080

Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
1085 1090 1095

Asp

<210> 9
<211> 3258
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3258)

<400> 9
ctg gcc acc ttc gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg 48
Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
1 5 10 15
cag cgc ggg gac cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg 96
Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu
20 25 30
gtc tgc gtt cct tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc 144
Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe
35 40 45
cgg cag gtg agt tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg 192
Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg
50 55 60
ctt tgt gaa agg gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg 240
Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu
65 70 75 80
ctc gat gga gca cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc 288
Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val
85 90 95
cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt 336
Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly
100 105 110
gcc tgg ggt ctg ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac 384
Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His
115 120 125
ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca 432
Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala
130 135 140

ES 2 771 862 T3

tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln 145 150 155 160	480
gcc cgc cca cca cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg gcc tgc Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys 165 170 175	528
gaa cgg gca tgg aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly 180 185 190	576
ctg cca gcc ccc gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser 195 200 205	624
ctc ccc ttg cct aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu 210 215 220	672
aga aca cct gtc ggc cag ggc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg 225 230 235 240	720
ggc cca agc gat agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala 245 250 255	768
gaa gag gct acc tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser 260 265 270	816
cat cca tct gtg ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser 275 280 285	864
aga cct ccc aga cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu 290 295 300	912
acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro 305 310 315 320	960
tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg 325 330 335	1008
ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca gcc acc Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr 340 345 350	1056
ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro 355 360 365	1104
ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val 370 375 380	1152
ctg ctg aag acc cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala 1200	1200

ES 2 771 862 T3

385	390	395	400	
ggt gtg tgt gct aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu 405 410 415				1248
gag gag gac act gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His 420 425 430				1296
tca tca cca tgg cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga Ser Ser Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg 435 440 445				1344
ctg gtc ccc ccc gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe 450 455 460				1392
ctg agg aat aca aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu 465 470 475 480				1440
agc ttg cag gag ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp 485 490 495				1488
ctc agg cgg tca cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg 500 505 510				1536
ctg cgc gaa gag att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc Leu Arg Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val 515 520 525				1584
tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr 530 535 540				1632
ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys 545 550 555 560				1680
ctc cag agt att ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg 565 570 575				1728
gag ctg tcc gaa gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala 580 585 590				1776
ctc ctg acc tct cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg 595 600 605				1824
cct atc gtg aat atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg 610 615 620				1872
gag aag cgc gcc gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser 625 630 635 640				1920
gtg ctt aat tat gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc				1968

ES 2 771 862 T3

Val	Leu	Asn	Tyr	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	
				645					650					655		
gtg	ctc	ggc	ctg	gat	gat	atc	cat	cgg	gct	tgg	cgc	acc	ttt	gtg	ctt	2016
Val	Leu	Gly	Leu	Asp	Asp	Ile	His	Arg	Ala	Trp	Arg	Thr	Phe	Val	Leu	
			660					665					670			
cgg	gtg	agg	gca	cag	gat	cct	cct	cct	gag	ctt	tat	ttt	gtg	aaa	gtt	2064
Arg	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	
		675					680					685				
gat	gtt	act	ggg	gct	tac	gat	aca	atc	cct	cag	gac	cgg	ctc	acc	gag	2112
Asp	Val	Thr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Thr	Ile	Pro	Gln	Asp	Arg	Leu	Thr	Glu	
	690					695				700						
gtg	atc	gcc	tct	att	atc	aaa	ccc	cag	aac	acc	tac	tgc	gtg	aga	agg	2160
Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Asn	Thr	Tyr	Cys	Val	Arg	Arg	
705				710						715					720	
tac	gcc	gtc	gtt	cag	aaa	gcc	gca	cac	gga	cac	gtg	cgc	aaa	gct	ttc	2208
Tyr	Ala	Val	Val	Gln	Lys	Ala	Ala	His	Gly	His	Val	Arg	Lys	Ala	Phe	
				725					730					735		
aaa	tcc	cac	gtg	tct	acc	ttg	aca	gac	ctc	cag	cct	tat	atg	cgg	cag	2256
Lys	Ser	His	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Pro	Tyr	Met	Arg	Gln	
			740					745					750			
ttt	gtc	gca	cac	ctg	cag	gag	act	agc	ccc	ttg	agg	gac	gct	gtg	gtc	2304
Phe	Val	Ala	His	Leu	Gln	Glu	Thr	Ser	Pro	Leu	Arg	Asp	Ala	Val	Val	
	755					760						765				
atc	gaa	cag	tcc	agc	tct	ctc	aat	gag	gca	tcc	tca	ggc	ctg	ttt	gat	2352
Ile	Glu	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	
	770					775					780					
gtg	ttc	ctg	cgc	ttt	atg	tgc	cac	cac	gcc	gtg	cgg	att	agg	ggc	aag	2400
Val	Phe	Leu	Arg	Phe	Met	Cys	His	His	Ala	Val	Arg	Ile	Arg	Gly	Lys	
785				790						795					800	
tct	tac	gtg	cag	tgc	cag	ggc	atc	cca	cag	ggg	agc	atc	ctg	agc	aca	2448
Ser	Tyr	Val	Gln	Cys	Gln	Gly	Ile	Pro	Gln	Gly	Ser	Ile	Leu	Ser	Thr	
			805						810					815		
ctg	ctg	tgt	agc	ctg	tgc	tat	ggc	gat	atg	gag	aat	aaa	ttg	ttc	gcc	2496
Leu	Leu	Cys	Ser	Leu	Cys	Tyr	Gly	Asp	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Phe	Ala	
			820					825					830			
ggg	gcc	aaa	aca	ttt	ttg	cgg	act	ctg	gtt	agg	ggc	gtg	cca	gag	tat	2544
Gly	Ala	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Val	Pro	Glu	Tyr	
		835					840					845				
ggc	tgt	gtt	gtg	aat	ttg	cgg	aaa	act	gtg	gtt	aat	ttc	cca	gtg	gag	2592
Gly	Cys	Val	Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	Phe	Pro	Val	Glu	
	850					855					860					
gac	gaa	gct	ctc	gga	ggc	aca	gct	ttt	gtt	cag	atg	cct	gcc	cac	ggc	2640
Asp	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	Pro	Ala	His	Gly	
	865				870					875					880	
ctg	ttc	cca	tgg	tgc	gga	ctg	ctg	ctc	gat	acc	cgg	acc	ctc	gag	gtg	2688
Leu	Phe	Pro	Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Leu	Glu	Val	
				885					890						895	

ES 2 771 862 T3

cag tcc gat tat agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu 900 905 910	2736
act ttc aac agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu 915 920 925	2784
ttc gga gtg ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln 930 935 940	2832
gtc aat tct ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu 945 950 955 960	2880
ctg cag gct tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His 965 970 975	2928
cag cag gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp 980 985 990	2976
acc gcc agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met 995 1000 1005	3024
agc ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala 1010 1015 1020	3069
gtc cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg 1025 1030 1035	3114
cac cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala 1040 1045 1050	3159
cag acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala 1055 1060 1065	3204
ctc gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr 1070 1075 1080	3249
atc ctg gac Ile Leu Asp 1085	3258

<210> 10
<211> 1086
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10
Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val
1 5 10 15

ES 2 771 862 T3

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

ES 2 771 862 T3

His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser
 275 280 285
 Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu
 290 295 300
 Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro
 305 310 315 320
 Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg
 325 330 335
 Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr
 340 345 350
 Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro
 355 360 365
 Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val
 370 375 380
 Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala
 385 390 395 400
 Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu
 405 410 415
 Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His
 420 425 430
 Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg
 435 440 445
 Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe
 450 455 460
 Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu
 465 470 475 480
 Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp
 485 490 495
 Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg
 500 505 510
 Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val

ES 2 771 862 T3

515		520		525
Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr				
530		535		540
Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys				
545		550		555
				560
Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg				
		565		570
				575
Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala				
		580		585
				590
Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg				
		595		600
				605
Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg				
		610		615
				620
Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser				
		625		630
				635
				640
Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser				
		645		650
				655
Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu				
		660		665
				670
Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val				
		675		680
				685
Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu				
		690		695
				700
Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg				
		705		710
				715
				720
Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe				
		725		730
				735
Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln				
		740		745
				750
Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val				
		755		760
				765

ES 2 771 862 T3

Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp
 770 775 780
 Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys
 785 790 795 800
 Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr
 805 810 815
 Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
 820 825 830
 Gly Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr
 835 840 845
 Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu
 850 855 860
 Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly
 865 870 875 880
 Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val
 885 890 895
 Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu
 900 905 910
 Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu
 915 920 925
 Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln
 930 935 940
 Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu
 945 950 955 960
 Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His
 965 970 975
 Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
 980 985 990
 Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met
 995 1000 1005
 Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala
 1010 1015 1020

ES 2 771 862 T3

Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg
1025 1030 1035

His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala
1040 1045 1050

Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala
1055 1060 1065

Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr
1070 1075 1080

Ile Leu Asp
1085

<210> 11
<211> 7120
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> vector de expresión de plásmido INVAC-1

<220>
<221> CDS
<222> (3488)..(6961)

<400> 11
gctagcaccg ttggtttccg tagtgtagtg gttatcacgt tcgcctaaca cgcgaaaggt 60
ccccggttcg aaaccgggca ctacaaacca acaacgttaa aaaacaggtc ctccccatac 120
tctttcattg tacacaccgc aagctcgaca atcatcggat tgaagcattg tcgcacacat 180
cttcacacaca ggatcagtag ctgcttttcgc ttttaaccaa ggctttttctc caagggatat 240
ttatagtctc aaaacacaca attactttac agttaggggtg agtttccttt tgtgctgttt 300
tttaaaataa taatttagta tttgtatctc ttatagaaat ccaagcctat catgtaaaat 360
gtagctagta ttaaaaagaa cagattatct gtctttttatc gcacattaag cctctatagt 420
tactaggaaa tattatatgc aaattaaccg gggcagggga gtagccgagc ttctcccaca 480
agtctgtgcg agggggcccg cgcgggccta gagatggcgg cgtcggatcg gccagcccg 540
ctaagtagcg ggcttttttt tcttaggggtg caaaaggaga gcctgtaagc gggcactctt 600
ccgtggtctg gtggataaat tcgcaagggt atcatggcgg acgaccgggg ttcgagcccc 660
gtatccggcc gtccgccgtg atccatgcgg ttaccgcccg cgtgtcgaac ccaggtgtgc 720
gacgtcagac aacgggggag tgctcctttt ggcttccttc ccctaccggt ctgcctcgcg 780
cgtttcggtg atgacggtga aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct 840

ES 2 771 862 T3

tgtctgtaag	cggatgccgg	gagcagacaa	gcccgtcagg	gcgcgtcagc	gggtgttggc	900
gggtgtcggg	gcgcagccat	gacccagtca	cgtagcgata	gcggagtgtg	tactggctta	960
actatgccc	atcagagcag	attgtactga	gagtgcacca	tatgcggtgt	gaaataccgc	1020
acagatgcgt	aaggagaaaa	taccgcatca	ggcgctcttc	cgcttcctcg	ctcactgact	1080
cgctgcgctc	ggctgttcgg	ctgcggcgag	cggtatcagc	tcactcaaag	gcggtataac	1140
ggttatccac	agaatcaggg	gataacgcag	gaaagaacat	gtgagcaaaa	ggccagcaaa	1200
agggcaggaa	ccgtaaaaag	gccgcgttgc	tggcggtttt	ccataggctc	cgcctccctg	1260
acgagcatca	caaaaaatcg	cgctcaagtc	agaggtggcg	aaacccgaca	ggactataaa	1320
gataccaggc	gtttccccct	ggaagctccc	tcgtgcgctc	tcctgttccg	accctgccgc	1380
ttaccggata	cctgtccggc	tttctccctt	cggaagcgt	ggcgctttct	catagctcac	1440
gctgtaggta	tctcagttcg	gtgtaggctg	ttcgctccaa	gctgggctgt	gtgcacgaac	1500
ccccggttca	gcccagccgc	tgcgcttat	ccggtaaacta	tcgtcttgag	tccaaccggg	1560
taagacacga	cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgaggt	1620
atgtaggcgg	tgctacagag	ttcttgaagt	ggtggcctaa	ctacggctac	actagaagaa	1680
cagtatttgg	tatctcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	gttggtagct	1740
cttgatccgg	caaaacaacc	accgctggta	gcggtggttt	ttttgtttgc	aagcagcaga	1800
ttacgcgcag	aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	1860
ctcagtggaa	cgaaaaactca	cgtaagggg	ttttggtcat	gagattatca	aaaaggatct	1920
tcacctagat	ccttttaaat	taaaaatgaa	gttttaaatc	aatctaaagt	atatatgagt	1980
aaacttggtc	tgacagttac	caatgcttaa	tcagtgaggc	acctatctca	gcgatctgtc	2040
tatttcgttc	atccatagtt	gcctgactcc	tgcaaaccac	gttggtgtag	aattggtaaa	2100
gagagtctgt	taaaatatcg	agttcgacac	tcttggtgtc	tgattattga	tttttggcga	2160
aaccatttga	tcatatgaca	agatgtgtat	ctaccttaac	ttaatgattt	tgataaaaat	2220
cattaggtac	ccctgatcac	tgtggaatgt	gtgtcagtta	gggtgtggaa	agtccccagg	2280
ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaagcat	gcattctcaat	tagtcagcaa	ccagggtgtgg	2340
aaagtcccca	ggctccccag	caggcagaag	tatgcaaagc	atgcatctca	attagtcagc	2400
aaccatagtc	ccgcccctaa	ctccgcccct	cccgccccta	actccgcccc	gttacgggggt	2460
cattagttca	tagcccatat	atggagttcc	gcgttacata	acttacggta	aatggcccg	2520
ctggctgacc	gcccaacgac	ccccgcccct	tgacgtcaat	aatgacgtat	gttcccatag	2580
taacgccaat	agggactttc	cattgacgtc	aatgggtgga	gtatttacgg	taaactgccc	2640
acttggcagt	acatcaagtg	tatcatatgc	caagtacgcc	ccctattgac	gtcaatgacg	2700
gtaaatggcc	cgcttgccat	tatgcccgat	acatgacctt	atgggacttt	cctacttggc	2760

ES 2 771 862 T3

agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatggtgat gcggttttgg cagtacatca	2820
atgggcgtgg atagcggttt gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca	2880
atgggagttt gttttggcac caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg	2940
ccccattgac gcaaatgggc ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc	3000
gtttagttaa ccgtcagatc gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa	3060
gacaccggga ccgatccagc ctccgaggct cgcattctctc ctccacgcgc ccgccgcct	3120
acctgaggcc gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctccgc ctgtggtgcc	3180
tcctgaactg cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtagagacc gggcctttgt	3240
ccggcgctcc ctggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg	3300
cttgctcaac tctagttctc tcgttaactt aatgagacag atagaaactg gtctttaga	3360
aacagagtag tcgcctgctt ttctgccagg tgctgacttc tctcccctgg gctttttct	3420
ttttctcagg ttgaaaagaa gaagacgaag aagacgaaga agacaaaccg tcgtcgacaa	3480
gcttacc atg cag atc ttc gtg aag acc ctg acc ggc aag acc atc act	3529
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr	
1 5 10	
ctc gag gtg gag ccc agt gac acc atc gaa aat gtg aag gcc aag atc	3577
Leu Glu Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile	
15 20 25 30	
caa gat aaa gaa ggc atc cca ccc gac cag cag agg ctc atc ttt gct	3625
Gln Asp Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala	
35 40 45	
ggc aag cag ctg gaa gat ggc cgc act ctg tct gac tac aac atc cag	3673
Gly Lys Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln	
50 55 60	
aaa gag tcg acc ctg cac ctg gtc ctg cgt ctg aga ggc ggc cgc gct	3721
Lys Glu Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Arg Ala	
65 70 75	
ctg gtg gcc cag tgc ctg gtg tgc gtg ccc tgg gac gca cgg cca ccc	3769
Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro	
80 85 90	
cct gcc gca ccc tca ttc cgc caa gtg tcc tgc ctg aag gag ctg gtg	3817
Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val	
95 100 105 110	
gcc cga gtg ctg cag agg ctg tgc gag cgc ggc gcg aag aac gtg ctg	3865
Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu	
115 120 125	
gcc ttc ggc ttc gcg ctg ctg gac ggg gct cgc gga ggc cca ccc gag	3913
Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu	
130 135 140	
gcc ttc acc acc agc gtg cgc agc tac ctg ccc aac acg gtg acc gac	3961
Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp	

ES 2 771 862 T3

145	150	155	
gca ctg cgg ggg agc ggg gcg tgg ggg ctg ctg ttg cgc cgc gtg ggc Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Arg Arg Val Gly 160 165 170			4009
gac gac gtg ctg gtt cac ctg ctg gca cgc tgc gcg ctc ttt gtg ctg Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu 175 180 185 190			4057
gtg gct ccc agc tgc gcc tac cag gtg tgc ggg ccg ccg ctg tac cag Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln 195 200 205			4105
ctc ggc gct gcc act cag gca cgg cct cca cct cac gct agt gga ccc Leu Gly Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro His Ala Ser Gly Pro 210 215 220			4153
cga agg cgt ctg gga tgc gaa cgg gcc tgg aac cat agc gtc agg gag Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu 225 230 235			4201
gcc ggg gtc ccc ctg ggc ctg cca gcc ccg ggt gcg agg agg cgc ggg Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly 240 245 250			4249
ggc agt gcc agc cga agt ctg ccg ttg ccc aag agg ccc agg cgt ggc Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg Gly 255 260 265 270			4297
gct gcc cct gag ccg gag cgg acg ccc gtt ggg cag ggg tcc tgg gcc Ala Ala Pro Glu Glu Arg Thr Pro Gly Gln Gly Ser Trp Ala 275 280 285			4345
cac ccg ggc agg acg cgt gga ccg agt gac cgt ggt ttc tgt gtg gtg His Pro Gly Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val 290 295 300			4393
tca cct gcc aga ccc gcc gaa gaa gcc acc tct ttg gag ggt gcg ctc Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu 305 310 315			4441
tct ggc acg cgc cac tcc cac cca tcc gtg ggc cgc cag cac cac gcg Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala 320 325 330			4489
ggc ccc cca tcc aca tcg cgg cca cca cgt ccc tgg gac acg cct tgt Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys 335 340 345 350			4537
ccc ccg gtg tac gcc gag acc aag cac ttc ctc tac tcc tca ggc gac Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp 355 360 365			4585
aag gag cag ctg cgg cca tcc ttc ctg ctg agc tct ctg agg ccc agc Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser 370 375 380			4633
ctg act ggc gct cgg agg ctc gtg gag acc atc ttt ctg ggt tcc agg Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg 385 390 395			4681
ccc tgg atg cca ggg act ccc cgc agg ttg ccc cgc ctg ccc cag cgc			4729

ES 2 771 862 T3

Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Arg	
400						405				410						
tac	tgg	caa	atg	cgg	ccc	ctg	ttt	ctg	gag	ctg	ctt	ggg	aac	cac	gcg	4777
Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Asn	His	Ala	
415				420					425						430	
cag	tgc	ccc	tac	ggg	gtg	ctc	ctc	aag	acg	cac	tgc	ccg	ctg	cga	gct	4825
Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala	
				435					440					445		
gcg	gtc	acc	cca	gca	gcc	ggt	gtc	tgt	gcc	cgg	gag	aag	ccc	cag	ggc	4873
Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	Arg	Glu	Lys	Pro	Gln	Gly	
			450					455					460			
tct	gtg	gcg	gcc	ccc	gag	gag	gag	gac	aca	gac	ccc	cgt	cgc	ctg	gtg	4921
Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Asp	Pro	Arg	Arg	Leu	Val	
		465				470						475				
cag	ctg	ctc	cgc	cag	cac	agc	agc	ccc	tgg	cag	gtg	tac	ggc	ttc	gtg	4969
Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Tyr	Gly	Phe	Val	
480						485					490					
cgg	gcc	tgc	ctg	cgc	cgg	ctg	gtg	ccc	cca	ggc	ctc	tgg	ggc	tcc	agg	5017
Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly	Ser	Arg	
495				500					505						510	
cac	aac	gaa	cgc	cgc	ttc	ctc	agg	aac	acc	aag	aag	ttc	atc	tcc	ctg	5065
His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys	Phe	Ile	Ser	Leu	
				515					520					525		
ggg	aag	cat	gcc	aag	ctc	tcg	ctg	cag	gag	ctg	acg	tgg	aag	atg	agc	5113
Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Met	Ser	
			530					535					540			
gtg	cgg	ggc	tgc	gct	tgg	ctg	cgc	agg	agc	cca	ggg	gtt	ggc	tgt	gtt	5161
Val	Arg	Gly	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly	Cys	Val	
		545				550						555				
ccg	gcc	gca	gag	cac	cgt	ctg	cgt	gag	gag	atc	ctg	gcc	aag	ttc	ctg	5209
Pro	Ala	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Arg	Glu	Glu	Ile	Leu	Ala	Lys	Phe	Leu	
560						565					570					
cac	tgg	ctg	atg	agt	gtg	tac	gtc	gtc	gag	ctg	ctc	agg	tca	ttc	ttt	5257
His	Trp	Leu	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Phe	Phe	
575					580					585					590	
tac	gtg	acg	gag	acc	acg	ttt	caa	aag	aac	agg	ctg	ttt	ttc	tac	cgg	5305
Tyr	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Gln	Lys	Asn	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Arg	
				595					600					605		
aag	agt	gtc	tgg	agc	aag	ttg	caa	agc	att	gga	atc	aga	cag	cac	ttg	5353
Lys	Ser	Val	Trp	Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	Gln	His	Leu	
			610					615					620			
aag	agg	gtg	cag	ctg	cgg	gag	ctg	tcg	gaa	gca	gag	gtc	agg	cag	cat	5401
Lys	Arg	Val	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	
			625				630					635				
cgg	gaa	gcc	agg	ccc	gcc	ctg	ctg	acg	tcc	aga	ctc	cgc	ttc	atc	ccc	5449
Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	
640						645					650					

ES 2 771 862 T3

aag cct gac ggg ctg cgg ccg att gtg aac atg gac tac gtc gtg gga Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly 655 660 665 670	5497
gcc aga acg ttc cgc aga gaa aag agg gcc gag cgt ctc acc tca cgg Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg 675 680 685	5545
gtg aag gca ctg ttc agc gtg ctc aac tac gag cgg gct cgg cgc cct Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro 690 695 700	5593
ggc ctc ctg ggc gcc tct gtg ctg ggc ctg gac gat atc cac agg gcc Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala 705 710 715	5641
tgg cgc acc ttc gtg ctg cgt gtg cgg gcc cag gac ccg ccg cct gag Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu 720 725 730	5689
ctg tac ttt gtc aag gtg gat gtg acg ggc gcg tac gac acc atc ccc Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro 735 740 745 750	5737
cag gac agg ctc acg gag gtc atc gcc agc atc atc aaa ccc cag aac Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn 755 760 765	5785
acg tac tgc gtg cgt cgg tat gcc gtg gtc cag aag gcc gcc cat ggg Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly 770 775 780	5833
cac gtc cgc aag gcc ttc aag agc cac gtc tct acc ttg aca gac ctc His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu 785 790 795	5881
cag ccg tac atg cga cag ttc gtg gct cac ctg cag gag acc agc ccg Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro 800 805 810	5929
ctg agg gat gcc gtc gtc atc gag cag agc tcc tcc ctg aat gag gcc Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala 815 820 825 830	5977
agc agt ggc ctc ttc gac gtc ttc cta cgc ttc atg tgc cac cac gcc Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala 835 840 845	6025
gtg cgc atc agg ggc aag tcc tac gtc cag tgc cag ggc atc ccg cag Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln 850 855 860	6073
ggc tcc atc ctc tcc acg ctg ctc tgc agc ctg tgc tac ggc gac atg Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met 865 870 875	6121
gag aac aag ctg ttt gcg ggg att cgg cgg gac ggg ctg ctc ctg cgt Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg 880 885 890	6169
ttg ttc ttg ttg gtg aca cct cac ctc acc cac gcg aaa acc ttc ctc Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu 895 900 905 910	6217

ES 2 771 862 T3

agg acc ctg gtc cga ggt gtc cct gag tat ggc tgc gtg gtg aac ttg Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu 915 920 925	6265
cgg aag aca gtg gtg aac ttc cct gta gaa gac gag gcc ctg ggt ggc Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly 930 935 940	6313
acg gct ttt gtt cag atg ccg gcc cac ggc cta ttc ccc tgg tgc ggc Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly 945 950 955	6361
ctg ctg ctg gat acc cgg acc ctg gag gtg cag agc gac tac tcc agc Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser 960 965 970	6409
tat gcc cgg acc tcc atc aga gcc agt ctc acc ttc aac cgc ggc ttc Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe 975 980 985 990	6457
aag gct ggg agg aac atg cgt cgc aaa ctc ttt ggg gtc ttg cgg ctg Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu 995 1000 1005	6505
aag tgt cac agc ctg ttt ctg gat ttg cag gtg aac agc ctc cag Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln 1010 1015 1020	6550
acg gtg tgc acc aac atc tac aag atc ctc ctg ctg cag gcg tac Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr 1025 1030 1035	6595
agg ttt cac gca tgt gtg ctg cag ctc cca ttt cat cag caa gtt Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val 1040 1045 1050	6640
tgg aag aac ccc aca ttt ttc ctg cgc gtc atc tct gac acg gcc Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala 1055 1060 1065	6685
tcc ctc tgc tac tcc atc ctg aaa gcc aag aac gca ggg atg tcg Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser 1070 1075 1080	6730
ctg ggg gcc aag ggc gcc gcc ggc cct ctg ccc tcc gag gcc gtg Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val 1085 1090 1095	6775
cag tgg ctg tgc cac caa gca ttc ctg ctc aag ctg act cga cac Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Lys Leu Thr Arg His 1100 1105 1110	6820
cgt gtc acc tac gtg cca ctc ctg ggg tca ctc agg aca gcc cag Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln 1115 1120 1125	6865
acg cag ctg agt cgg aag ctc ccg ggg acg acg ctg act gcc ctg Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu 1130 1135 1140	6910
gag gcc gca gcc aac ccg gca ctg ccc tca gac ttc aag acc atc Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile 1145 1150 1155	6955
ctg gac taataatcta gaagatcttt ttccctctgc caaaaattat ggggacatca Leu Asp	7011
tgaagccct tgagcatctg acttctggct aataaaggaa atttattttc attgcaatag	7071
tgtgttgga ttttttgtgt ctctcactcg gaaggacata agggcggcc	7120

<211> 1158
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 12

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
 1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
 20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
 35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
 50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Arg Ala Leu Val
 65 70 75 80

Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala
 85 90 95

Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg
 100 105 110

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

Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe
 130 135 140

Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu
 145 150 155 160

Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp
 165 170 175

ES 2 771 862 T3

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

ES 2 771 862 T3

420	425	430
Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val		
435	440	445
Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val		
450	455	460
Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu		
465	470	475
480		
Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala		
485	490	495
Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn		
500	505	510
Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys		
515	520	525
His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg		
530	535	540
Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala		
545	550	555
560		
Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp		
565	570	575
Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val		
580	585	590
Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser		
595	600	605
Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg		
610	615	620
Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu		
625	630	635
640		
Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro		
645	650	655
Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg		
660	665	670

ES 2 771 862 T3

Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys
 675 680 685
 Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
 690 695 700
 Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg
 705 710 715 720
 Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr
 725 730 735
 Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp
 740 745 750
 Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr
 755 760 765
 Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val
 770 775 780
 Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro
 785 790 795 800
 Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg
 805 810 815
 Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser
 820 825 830
 Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg
 835 840 845
 Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser
 850 855 860
 Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn
 865 870 875 880
 Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe
 885 890 895
 Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr
 900 905 910
 Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys
 915 920 925

ES 2 771 862 T3

Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala
 930 935 940
 Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu
 945 950 955 960
 Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala
 965 970 975
 Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala
 980 985 990
 Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys
 995 1000 1005
 His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val
 1010 1015 1020
 Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe
 1025 1030 1035
 His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys
 1040 1045 1050
 Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu
 1055 1060 1065
 Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly
 1070 1075 1080
 Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp
 1085 1090 1095
 Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val
 1100 1105 1110
 Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln
 1115 1120 1125
 Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala
 1130 1135 1140
 Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
 1145 1150 1155

<210> 13
 <211> 3570
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> secuencia del inserto pUTD10Not

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3570)

ES 2 771 862 T3

<400> 13

atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa	48
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu	
1 5 10 15	
gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac	96
Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp	
20 25 30	
aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag	144
Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys	
35 40 45	
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa	192
Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu	
50 55 60	
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ctg gcc acc ttc	240
Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe	
65 70 75 80	
gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac	288
Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp	
85 90 95	
cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg gtc tgc gtt cct	336
Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro	
100 105 110	
tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc cgg cag gtg agt	384
Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser	
115 120 125	
tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg ctt tgt gaa agg	432
Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg	
130 135 140	
gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg ctc gat gga gca	480
Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala	
145 150 155 160	
cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc cgg tcc tac ctg	528
Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu	
165 170 175	
ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt gcc tgg ggt ctg	576
Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu	
180 185 190	
ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac ctc ctg gcc cgg	624
Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg	
195 200 205	

ES 2 771 862 T3

tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca tac cag gtc tgc Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys 210 215 220	672
gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag gcc cgc cca cca Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro 225 230 235 240	720
cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc gaa cgg gca tgg Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp 245 250 255	768
aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc ctg cca gcc ccc Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro 260 265 270	816
gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca ctc ccc ttg cct Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro 275 280 285	864
aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag aga aca cct gtc Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val 290 295 300	912
ggc cag gcc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg ggc cca agc gat Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp 305 310 315 320	960
agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc gaa gag gct acc Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr 325 330 335	1008
tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct cat cca tct gtg Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val 340 345 350	1056
ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc aga cct ccc aga Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg 355 360 365	1104
cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag acc aag cac ttt Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe 370 375 380	1152
ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc tct ttt ctg ctc Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu 385 390 395 400	1200
tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg ctg gtg gag acc Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr 405 410 415	1248
atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca ggc acc ccc cgc aga ctg Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu 420 425 430	1296
ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct ctc ttt ctg gaa Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu 435 440 445	1344
ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc ctg ctg aag acc Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr	1392

ES 2 771 862 T3

450	455	460	
cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc ggt gtg tgt gct His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala 465 470 475 480			1440
aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa gag gag gac act Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr 485 490 495			1488
gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat tca tca cca tgg Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp 500 505 510			1536
cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga ctg gtc ccc ccc Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro 515 520 525			1584
gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt ctg agg aat aca Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr 530 535 540			1632
aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc agc ttg cag gag Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu 545 550 555 560			1680
ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg ctc agg cgg tca Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser 565 570 575			1728
cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu 580 585 590			1776
att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu 595 600 605			1824
ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act ttt cag aag aac Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn 610 615 620			1872
aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile 625 630 635 640			1920
ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga gag ctg tcc gaa Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu 645 650 655			1968
gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc ctc ctg acc tct Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser 660 665 670			2016
cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga cct atc gtg aat Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn 675 680 685			2064
atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg gag aag cgc gcc Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala 690 695 700			2112
gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct gtg ctt aat tat			2160

ES 2 771 862 T3

Glu 705	Arg	Leu	Thr	Ser	Arg 710	Val	Lys	Ala	Leu	Phe 715	Ser	Val	Leu	Asn	Tyr 720	
gaa Glu	aga Arg	gcc Ala	cgc Arg	aga Arg	cct Pro	ggt Gly	ctt Leu	ctc Leu	gga Gly	gcc Ala	agc Ser	gtg Val	ctc Leu	ggc Gly	ctg Leu	2208
gat Asp	gat Asp	atc Ile	cat His	cgg Arg	gct Ala	tgg Trp	cgc Arg	acc Thr	ttt Phe	gtg Val	ctt Leu	cgg Arg	gtg Val	agg Arg	gca Ala	2256
cag Gln	gat Asp	cct Pro	cct Pro	cct Pro	gag Glu	ctt Leu	tat Tyr	ttt Phe	gtg Val	aaa Lys	gtt Val	gat Asp	gtt Val	act Thr	ggt Gly	2304
gct Ala	tac Tyr	gat Asp	aca Thr	atc Ile	cct Pro	cag Gln	gac Asp	cgg Arg	ctc Leu	acc Thr	gag Glu	gtg Val	atc Ile	gcc Ala	tct Ser	2352
att Ile	atc Ile	aaa Lys	ccc Pro	cag Gln	aac Asn	acc Thr	tac Tyr	tgc Cys	gtg Val	aga Arg	agg Tyr	tac Ala	gcc Val	gtc Val	gtt Val	2400
cag Gln	aaa Lys	gcc Ala	gca Ala	cac His	gga Gly	cac His	gtg Val	cgc Arg	aaa Lys	gct Ala	ttc Phe	aaa Lys	tcc Ser	cac His	gtg Val	2448
tct Ser	acc Thr	ttg Leu	aca Asp	gac Leu	ctc Gln	cag Pro	cct Tyr	tat Met	atg Arg	cgg Gln	cag Phe	ttt Val	gtc Ala	gca His	cac His	2496
ctg Leu	cag Gln	gag Glu	act Thr	agc Ser	ccc Pro	ttg Leu	agg Arg	gac Asp	gct Ala	gtg Val	gtc Val	atc Ile	gaa Glu	cag Gln	tcc Ser	2544
agc Ser	tct Ser	ctc Leu	aat Asn	gag Glu	gca Ala	tcc Ser	tca Ser	ggc Gly	ctg Leu	ttt Phe	gat Asp	gtg Val	ttc Phe	ctg Leu	cgc Arg	2592
ttt Phe	atg Met	tgc Cys	cac His	cac His	gcc Ala	gtg Val	cgg Arg	att Ile	agg Arg	ggc Gly	aag Lys	tct Ser	tac Tyr	gtg Val	cag Gln	2640
tgc Cys	cag Gln	ggc Gly	atc Ile	cca Pro	cag Gln	ggt Gly	agc Ser	atc Ile	ctg Leu	agc Ser	aca Thr	ctg Leu	ctg Leu	tgt Cys	agc Ser	2688
ctg Leu	tgc Cys	tat Tyr	ggc Gly	gat Asp	atg Met	gag Glu	aat Asn	aaa Lys	ttg Leu	ttc Phe	gcc Ala	ggt Gly	atc Ile	aga Arg	aga Arg	2736
ttc Phe	ctg Leu	ctg Leu	gtt Val	acc Thr	ccc Pro	cat His	ctg Leu	act Thr	cat His	gcc Ala	aaa Lys	aca Thr	ttt Phe	ttg Leu	cgg Arg	2784
act Thr	ctg Leu	gtt Val	agg Arg	ggc Gly	gtg Val	cca Pro	gag Glu	tat Tyr	ggc Gly	tgt Cys	gtt Val	gtg Val	aat Asn	ttg Leu	cgg Arg	2832
aaa Lys	act Thr	gtg Val	gtt Val	aat Asn	ttc Phe	cca Pro	gtg Val	gag Glu	gac Asp	gaa Glu	gct Ala	ctc Leu	gga Gly	ggc Gly	aca Thr	2880

gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca tgg tgc gga ctg Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu 965 970 975	2928
ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat tat agt tcc tat Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr 980 985 990	2976
gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac agg ggc ttc aag Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys 995 1000 1005	3024
gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg ttg aga ctt Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu 1010 1015 1020	3069
aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct ctc cag Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln 1025 1030 1035	3114
aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag gct tac Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr 1040 1045 1050	3159
aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag gtg Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val 1055 1060 1065	3204
tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala 1070 1075 1080	3249
agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser 1085 1090 1095	3294
ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val 1100 1105 1110	3339
cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His 1115 1120 1125	3384
cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln 1130 1135 1140	3429
acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu 1145 1150 1155	3474
gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile 1160 1165 1170	3519
ctg gac ggc aag cca att cct aat cca ttg ctg ggc ctg gac tca Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser 1175 1180 1185	3564
act tga Thr	3570

<210> 14
<211> 1189
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 14

ES 2 771 862 T3

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

ES 2 771 862 T3

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

ES 2 771 862 T3

His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
 465 470 475 480
 Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
 485 490 495
 Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
 500 505 510
 Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
 515 520 525
 Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
 530 535 540
 Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
 545 550 555 560
 Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
 565 570 575
 Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
 580 585 590
 Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
 595 600 605
 Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
 610 615 620
 Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
 625 630 635 640
 Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
 645 650 655
 Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 660 665 670
 Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
 675 680 685
 Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
 690 695 700
 Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr

ES 2 771 862 T3

705		710		715		720
Glu Arg Ala Arg Arg	Pro Gly Leu Leu Gly	Ala Ser Val Leu Gly	Leu			
	725		730			735
Asp Asp Ile His Arg	Ala Trp Arg Thr Phe	Val Leu Arg Val Arg	Ala			
	740		745			750
Gln Asp Pro Pro Pro	Glu Leu Tyr Phe Val Lys	Val Asp Val Thr Gly				
	755		760			765
Ala Tyr Asp Thr Ile	Pro Gln Asp Arg Leu Thr	Glu Val Ile Ala Ser				
	770		775			780
Ile Ile Lys Pro Gln	Asn Thr Tyr Cys Val Arg	Arg Tyr Ala Val Val				
	785		790			795
Gln Lys Ala Ala His	Gly His Val Arg Lys	Ala Phe Lys Ser His	Val			
	805		810			815
Ser Thr Leu Thr Asp	Leu Gln Pro Tyr Met	Arg Gln Phe Val Ala	His			
	820		825			830
Leu Gln Glu Thr Ser	Pro Leu Arg Asp Ala	Val Val Ile Glu Gln	Ser			
	835		840			845
Ser Ser Leu Asn Glu	Ala Ser Ser Gly Leu	Phe Asp Val Phe Leu	Arg			
	850		855			860
Phe Met Cys His His	Ala Val Arg Ile Arg	Gly Lys Ser Tyr Val	Gln			
	865		870			875
Cys Gln Gly Ile Pro	Gln Gly Ser Ile Leu	Ser Thr Leu Leu Cys	Ser			
	885		890			895
Leu Cys Tyr Gly Asp	Met Glu Asn Lys Leu	Phe Ala Gly Ile Arg	Arg			
	900		905			910
Phe Leu Leu Val Thr	Pro His Leu Thr His	Ala Lys Thr Phe Leu	Arg			
	915		920			925
Thr Leu Val Arg Gly	Val Pro Glu Tyr Gly	Cys Val Val Asn Leu	Arg			
	930		935			940
Lys Thr Val Val Asn	Phe Pro Val Glu Asp	Glu Ala Leu Gly Gly	Thr			
	945		950			955
						960

ES 2 771 862 T3

Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu
965 970 975

Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr
980 985 990

Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys
995 1000 1005

Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu
1010 1015 1020

Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln
1025 1030 1035

Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr
1040 1045 1050

Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val
1055 1060 1065

Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala
1070 1075 1080

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser
1085 1090 1095

Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val
1100 1105 1110

Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His
1115 1120 1125

Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln
1130 1135 1140

Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu
1145 1150 1155

Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile
1160 1165 1170

Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser
1175 1180 1185

Thr

<210> 15
<211> 3570
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> secuencia del inserto pUTD10Cog

<220>
<221> CDS

ES 2 771 862 T3

<222> (1)..(3570)

<400> 15

atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa	48
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu	
1 5 10 15	
gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac	96
Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp	
20 25 30	
aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag	144
Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys	
35 40 45	
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa	192
Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu	
50 55 60	
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ctg gcc acc ttc	240
Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe	
65 70 75 80	
gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac	288
Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp	
85 90 95	
cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg gtc tgc gtt cct	336
Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro	
100 105 110	
tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc cgg cag gtg agt	384
Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser	
115 120 125	
tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg ctt tgt gaa agg	432
Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg	
130 135 140	
gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg ctc gat gga gca	480
Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala	
145 150 155 160	
cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc cgg tcc tac ctg	528
Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu	
165 170 175	
ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt gcc tgg ggt ctg	576
Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu	
180 185 190	

ES 2 771 862 T3

ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac ctc ctg gcc cgg Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg 195 200 205	624
tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca tac cag gtc tgc Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys 210 215 220	672
gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag gcc cgc cca cca Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro 225 230 235 240	720
cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc gaa cgg gca tgg Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp 245 250 255	768
aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc ctg cca gcc ccc Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro 260 265 270	816
gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca ctc ccc ttg cct Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro 275 280 285	864
aag agg cca aga aga gga gcc gcc cct gaa ccc gag aga aca cct gtc Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val 290 295 300	912
ggc cag ggc tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg ggc cca agc gat Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp 305 310 315 320	960
agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc gaa gag gct acc Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr 325 330 335	1008
tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg cat tct cat cca tct gtg Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val 340 345 350	1056
ggt agg cag cat cat gcc ggc ccc ccc tct aca agc aga cct ccc aga Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg 355 360 365	1104
cct tgg gac aca ccc tgc cca cca gtg tat gcc gag acc aag cac ttt Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe 370 375 380	1152
ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag cag ctc cgg ccc tct ttt ctg ctc Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu 385 390 395 400	1200
tca agc ctc cgc ccc tct ctg acc gga gct cgc agg ctg gtg gag acc Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr 405 410 415	1248
atc ttt ctg ggc tca aga cca tgg atg cca ggc acc ccc cgc aga ctg Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu 420 425 430	1296
ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct ctc ttt ctg gaa Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu 435 440 445	1344

ES 2 771 862 T3

ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc ctg ctg aag acc Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr 450 455 460	1392
cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc ggt gtg tgt gct His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala 465 470 475 480	1440
aga gaa aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa gag gag gac act Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr 485 490 495	1488
gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat tca tca cca tgg Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp 500 505 510	1536
cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga ctg gtc ccc ccc Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro 515 520 525	1584
gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt ctg agg aat aca Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr 530 535 540	1632
aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc agc ttg cag gag Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu 545 550 555 560	1680
ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg ctc agg cgg tca Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser 565 570 575	1728
cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu 580 585 590	1776
att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu 595 600 605	1824
ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act ttt cag aag aac Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Phe Gln Lys Asn 610 615 620	1872
aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile 625 630 635 640	1920
ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga gag ctg tcc gaa Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu 645 650 655	1968
gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc ctc ctg acc tct Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser 660 665 670	2016
cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga cct atc gtg aat Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn 675 680 685	2064
atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg gag aag cgc gcc Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala 2112	

ES 2 771 862 T3

690	695	700	
gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct gtg ctt aat tat Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr 705 710 715 720			2160
gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc gtg ctc ggc ctg Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu 725 730 735			2208
gat gat atc cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg ctt cgg gtg agg gca Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala 740 745 750			2256
cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt gat gtt act ggt Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly 755 760 765			2304
gct tac gat aca atc cct cag gac cgg ctc acc gag gtg atc gcc tct Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser 770 775 780			2352
att atc aaa ccc cag aac acc tac tgc gtg aga agg tac gcc gtc gtt Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val 785 790 795 800			2400
cag aaa gcc gca cac gga cac gtg cgc aaa gct ttc aaa tcc cac gtg Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val 805 810 815			2448
tct acc ttg aca gac ctc cag cct tat atg cgg cag ttt gtc gca cac Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His 820 825 830			2496
ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct gtg gtc atc gaa cag tcc Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser 835 840 845			2544
agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg ttt gat gtg ttc ctg cgc Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg 850 855 860			2592
ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg ggc aag tct tac gtg cag Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln 865 870 875 880			2640
tgc cag ggc atc cca cag ggt agc atc ctg agc aca ctg ctg tgt agc Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser 885 890 895			2688
ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc ggt atc aga aga Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg 900 905 910			2736
gac ggt ttg ctc ctg agg ctg ctg act cat gcc aaa aca ttt ttg cgg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg 915 920 925			2784
act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat ggc tgt gtt gtg aat ttg cgg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg 930 935 940			2832
aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag gac gaa gct ctc gga ggc aca			2880

ES 2 771 862 T3

Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr	
945 950 955 960	
gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca tgg tgc gga ctg	2928
Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu	
965 970 975	
ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat tat agt tcc tat	2976
Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr	
980 985 990	
gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac agg ggc ttc aag	3024
Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys	
995 1000 1005	
gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg ttg aga ctt	3069
Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu	
1010 1015 1020	
aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct ctc cag	3114
Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln	
1025 1030 1035	
aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag gct tac	3159
Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Gln Ala Tyr	
1040 1045 1050	
aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag gtg	3204
Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val	
1055 1060 1065	
tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc	3249
Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala	
1070 1075 1080	
agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc	3294
Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser	
1085 1090 1095	
ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc	3339
Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val	
1100 1105 1110	
cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac	3384
Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His	
1115 1120 1125	
cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag	3429
Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln	
1130 1135 1140	
acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc	3474
Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu	
1145 1150 1155	
gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc	3519
Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile	
1160 1165 1170	
ctg gac ggc aag cca att cct aat cca ttg ctg ggc ctg gac tca	3564
Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser	
1175 1180 1185	
act tga	3570
Thr	

5 <210> 16
 <211> 1189
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 771 862 T3

<400> 16

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
65 70 75 80

Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
85 90 95

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
100 105 110

Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
115 120 125

Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
130 135 140

Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
145 150 155 160

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

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

ES 2 771 862 T3

Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg
195 200 205

Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys
210 215 220

Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro
225 230 235 240

Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp
245 250 255

Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro
260 265 270

Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro
275 280 285

Lys Arg Pro Arg Arg Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val
290 295 300

Gly Gln Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
305 310 315 320

Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
325 330 335

Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val
340 345 350

Gly Arg Gln His His Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg
355 360 365

Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe
370 375 380

Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu
385 390 395 400

Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr
405 410 415

Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu
420 425 430

Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu
435 440 445

ES 2 771 862 T3

Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr
 450 455 460
 His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
 465 470 475 480
 Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
 485 490 495
 Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
 500 505 510
 Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
 515 520 525
 Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
 530 535 540
 Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
 545 550 555 560
 Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
 565 570 575
 Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
 580 585 590
 Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
 595 600 605
 Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
 610 615 620
 Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
 625 630 635 640
 Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
 645 650 655
 Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 660 665 670
 Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
 675 680 685
 Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
 690 695 700

ES 2 771 862 T3

Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
 705 710 715 720
 Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 725 730 735
 Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala
 740 745 750
 Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly
 755 760 765
 Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser
 770 775 780
 Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val
 785 790 795 800
 Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val
 805 810 815
 Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His
 820 825 830
 Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser
 835 840 845
 Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg
 850 855 860
 Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln
 865 870 875 880
 Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser
 885 890 895
 Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg
 900 905 910
 Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg
 915 920 925
 Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg
 930 935 940
 Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr

ES 2 771 862 T3

945	950	955	960
Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu	965	970	975
Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr	980	985	990
Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys	995	1000	1005
Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu	1010	1015	1020
Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln	1025	1030	1035
Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr	1040	1045	1050
Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val	1055	1060	1065
Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala	1070	1075	1080
Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser	1085	1090	1095
Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val	1100	1105	1110
Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His	1115	1120	1125
Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln	1130	1135	1140
Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu	1145	1150	1155
Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile	1160	1165	1170
Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser	1175	1180	1185
Thr			

5 <210> 17
 <211> 3531
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>

<223> secuencia del inserto pUTD23Tyn

<220>

<221> CDS

5 <222> (1)..(3528)

<400> 17

atg	cag	att	ttc	gtc	aaa	aca	ttg	aca	gga	aag	acc	atc	aca	ctg	gaa	48
Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu	
1				5					10					15		

gtg	gag	cca	agc	gac	act	att	gag	aac	gtc	aaa	gcc	aag	att	cag	gac	96
Val	Glu	Pro	Ser	Asp	Thr	Ile	Glu	Asn	Val	Lys	Ala	Lys	Ile	Gln	Asp	
			20					25					30			

aag	gag	ggc	atc	cca	cca	gac	cag	cag	agg	ctg	att	ttt	gcc	gga	aag	144
Lys	Glu	Gly	Ile	Pro	Pro	Asp	Gln	Gln	Arg	Leu	Ile	Phe	Ala	Gly	Lys	
		35					40					45				

cag	ctg	gag	gac	gga	cgc	aca	ctc	agt	gac	tac	aat	atc	cag	aag	gaa	192
Gln	Leu	Glu	Asp	Gly	Arg	Thr	Leu	Ser	Asp	Tyr	Asn	Ile	Gln	Lys	Glu	
	50					55					60					

agt	act	ctg	cat	ctg	gtc	ctt	cgc	ctg	cgc	ggc	gga	ctg	gcc	acc	ttc	240
Ser	Thr	Leu	His	Leu	Val	Leu	Arg	Leu	Arg	Gly	Gly	Leu	Ala	Thr	Phe	
65					70				75					80		

gtg	cgg	cgc	ctg	gga	ccc	cag	ggc	tgg	cgg	ctg	gtg	cag	cgc	ggg	gac	288
Val	Arg	Arg	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	
			85					90						95		

cct	gct	gct	ttc	aga	gct	ctc	gtc	gcc	cag	tgt	ctg	gtc	tgc	gtt	cct	336
Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	
			100					105					110			

tgg	gac	gca	cgg	ccc	cca	ccc	gcc	gcc	ccc	agt	ttc	cgg	cag	gtg	agt	384
Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	
		115					120					125				

tgt	ctc	aaa	gag	ttg	gtt	gct	cgg	gtg	ttg	cag	cgg	ctt	tgt	gaa	agg	432
Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	
	130					135					140					

gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	ggc	ttc	gct	ttg	ctc	gat	gga	gca	480
Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	
145				150					155					160		

cgc	gga	ggc	cct	cct	gag	gca	ttc	act	act	agc	gtc	cgg	tcc	tac	ctg	528
Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	Glu	Ala	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	
			165					170						175		

ccc	aac	aca	gtg	acc	gac	gct	ctg	aga	ggc	tca	ggc	tgg	ggc	ctg		576
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	--	-----

ES 2 771 862 T3

Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	
			180					185					190			
ctg	ctg	cgg	agg	gtg	ggg	gat	gat	gtt	ctg	gtt	cac	ctc	ctg	gcc	cgg	624
Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Val	His	Leu	Leu	Ala	Arg	
		195					200					205				
tgt	gcc	ctg	ttc	gtg	ctg	gtg	gct	ccc	tcc	tgc	gca	tac	cag	gtc	tgc	672
Cys	Ala	Leu	Phe	Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys	
	210					215					220					
gga	ccc	cca	ctt	tat	cag	ctc	ggc	gct	gct	act	cag	gcc	cgc	cca	cca	720
Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro	
225					230					235					240	
cca	cac	gcc	tca	ggg	cca	aga	cgc	cgg	ctg	ggc	tgc	gaa	cgg	gca	tgg	768
Pro	His	Ala	Ser		Pro	Arg	Arg	Arg	Leu	Gly	Cys	Glu	Arg	Ala	Trp	
			245						250					255		
aat	cat	agc	gtg	cgg	gag	gca	ggg	gtg	cct	ctc	ggc	ctg	cca	gcc	ccc	816
Asn	His	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	
			260					265					270			
gga	gca	agg	aga	cgc	ggg	gga	tcc	gcc	agt	cgc	tca	ctc	ccc	ttg	cct	864
Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro	
		275					280					285				
aag	agg	cca	aga	aga	gga	gcc	gcc	cct	gaa	ccc	gag	aga	aca	cct	gtc	912
Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val	
	290					295					300					
ggc	cag	ggc	tcc	tgg	gct	cac	ccc	gga	agg	acc	agg	ggc	cca	agc	gat	960
Gly	Gln	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	
305				310						315					320	
agg	ggc	ttc	tgt	gtt	gtg	tca	cca	gcc	agg	cct	gcc	gaa	gag	gct	acc	1008
Arg	Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	
			325						330					335		
tcc	ttg	gaa	gga	gcc	ctc	agt	ggc	acc	agg	cat	tct	cat	cca	tct	gtg	1056
Ser	Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val	
			340					345					350			
ggg	agg	cag	cat	cat	gcc	ggc	ccc	ccc	tct	aca	agc	aga	cct	ccc	aga	1104
Gly	Arg	Gln	His	His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg	
		355					360					365				
cct	tgg	gac	aca	ccc	tgc	cca	cca	gtg	tat	gcc	gag	acc	aag	cac	ttt	1152
Pro	Trp	Asp	Thr	Pro	Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe	
	370					375					380					
ttg	tat	tcc	agt	ggc	gat	aaa	gag	cag	ctc	cgg	ccc	tct	ttt	ctg	ctc	1200
Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	
	385				390					395					400	
tca	agc	ctc	cgc	ccc	tct	ctg	acc	gga	gct	cgc	agg	ctg	gtg	gag	acc	1248
Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr	
				405					410					415		
atc	ttt	ctg	ggc	tca	aga	cca	tgg	atg	cca	ggc	acc	ccc	cgc	aga	ctg	1296
Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu	
			420					425					430			

ES 2 771 862 T3

ccc agg ctc ccc cag cgg tac tgg cag atg cgc cct ctc ttt ctg gaa Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu 435 440 445	1344
ctt ctg ggt aac cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc ctg ctg aag acc Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr 450 455 460	1392
cac tgt cct ctg agg gcc gcc gtg acc cca gcc gcc ggt gtg tgt gct His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala 465 470 475 480	1440
aga gaa aaa ccc cag gcc tca gtg gct gca cct gaa gag gag gac act Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr 485 490 495	1488
gac cct cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat tca tca cca tgg Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp 500 505 510	1536
cag gtg tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga ctg gtc ccc ccc Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro 515 520 525	1584
gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt ctg agg aat aca Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr 530 535 540	1632
aag aag ttt atc tcc ctg gcc aag cat gca aag ctc agc ttg cag gag Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu 545 550 555 560	1680
ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg ctc agg cgg tca Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser 565 570 575	1728
cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu 580 585 590	1776
att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu 595 600 605	1824
ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act ttt cag aag aac Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn 610 615 620	1872
aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile 625 630 635 640	1920
ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga gag ctg tcc gaa Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu 645 650 655	1968
gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc ctc ctg acc tct Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser 660 665 670	2016
cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga cct atc gtg aat Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn 675 680 685	2064

ES 2 771 862 T3

atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg gag aag cgc gcc Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala 690 695 700	2112
gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct gtg ctt aat tat Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr 705 710 715 720	2160
gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc gtg ctc ggc ctg Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu 725 730 735	2208
gat gat atc cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg ctt cgg gtg agg gca Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala 740 745 750	2256
cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt gat gtt act ggt Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly 755 760 765	2304
gct tac gat aca atc cct cag gac cgg ctc acc gag gtg atc gcc tct Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser 770 775 780	2352
att atc aaa ccc cag aac acc tac tgc gtg aga agg tac gcc gtc gtt Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val 785 790 795 800	2400
cag aaa gcc gca cac gga cac gtg cgc aaa gct ttc aaa tcc cac gtg Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val 805 810 815	2448
tct acc ttg aca gac ctc cag cct tat atg cgg cag ttt gtc gca cac Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His 820 825 830	2496
ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct gtg gtc atc gaa cag tcc Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser 835 840 845	2544
agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg ttt gat gtg ttc ctg cgc Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg 850 855 860	2592
ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg ggc aag tct tac gtg cag Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln 865 870 875 880	2640
tgc cag ggc atc cca cag ggt agc atc ctg agc aca ctg ctg tgt agc Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser 885 890 895	2688
ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc ggt gcc aaa aca Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ala Lys Thr 900 905 910	2736
ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat ggc tgt gtt gtg Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val 915 920 925	2784
aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag gac gaa gct ctc Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu 930 935 940	2832

ES 2 771 862 T3

930	935	940	
gga ggc aca gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca tgg Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp 945 950 955 960			2880
tgc gga ctg ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat tat Cys Gly Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr 965 970 975			2928
agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg act ttc aac agg Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg 980 985 990			2976
ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga gtg ttg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu 995 1000 1005			3024
aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat tct Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser 1010 1015 1020			3069
ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln 1025 1030 1035			3114
gct tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln 1040 1045 1050			3159
cag gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp 1055 1060 1065			3204
acc gcc agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly 1070 1075 1080			3249
atg agc ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu 1085 1090 1095			3294
gca gtc cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr 1100 1105 1110			3339
cgc cac cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr 1115 1120 1125			3384
gct cag acc cag ctt tcc cgg aag ctt cca ggc act acc ctt acc Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr 1130 1135 1140			3429
gca ctc gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys 1145 1150 1155			3474
act atc ctg gac ggc aag cca att cct aat cca ttg ctg ggc ctg Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu 1160 1165 1170			3519
gac tca act tga			3531
Asp Ser Thr 1175			

5 <210> 18
<211> 1176
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

ES 2 771 862 T3

<400> 18

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe
65 70 75 80

Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp
85 90 95

Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro
100 105 110

Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser
115 120 125

Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg
130 135 140

Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala
145 150 155 160

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

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

Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg

ES 2 771 862 T3

195					200					205					
Cys	Ala	Leu	Phe	Val	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Cys
210					215					220					
Gly	Pro	Pro	Leu	Tyr	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Thr	Gln	Ala	Arg	Pro	Pro
225					230					235					240
Pro	His	Ala	Ser	Gly	Pro	Arg	Arg	Arg	Leu	Gly	Cys	Glu	Arg	Ala	Trp
				245					250					255	
Asn	His	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro
			260					265					270		
Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro
		275					280					285			
Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val
		290					295					300			
Gly	Gln	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp
305					310					315					320
Arg	Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr
				325					330					335	
Ser	Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val
			340					345					350		
Gly	Arg	Gln	His	His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg
		355					360					365			
Pro	Trp	Asp	Thr	Pro	Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe
		370					375					380			
Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu
385					390					395					400
Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr
				405					410					415	
Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu
			420					425					430		
Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu
		435					440					445			

ES 2 771 862 T3

Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr
 450 455 460
 His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala
 465 470 475 480
 Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr
 485 490 495
 Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp
 500 505 510
 Gln Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro
 515 520 525
 Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
 530 535 540
 Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
 545 550 555 560
 Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
 565 570 575
 Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
 580 585 590
 Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
 595 600 605
 Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
 610 615 620
 Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
 625 630 635 640
 Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
 645 650 655
 Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 660 665 670
 Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
 675 680 685
 Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
 690 695 700

ES 2 771 862 T3

Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
705 710 715 720

Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
725 730 735

Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala
740 745 750

Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly
755 760 765

Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser
770 775 780

Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val
785 790 795 800

Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val
805 810 815

Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His
820 825 830

Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser
835 840 845

Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg
850 855 860

Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln
865 870 875 880

Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser
885 890 895

Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ala Lys Thr
900 905 910

Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val
915 920 925

Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu
930 935 940

Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp
945 950 955 960

ES 2 771 862 T3

Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr
965 970 975

Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg
980 985 990

Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu
995 1000 1005

Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser
1010 1015 1020

Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
1025 1030 1035

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1040 1045 1050

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1055 1060 1065

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1070 1075 1080

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1085 1090 1095

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1100 1105 1110

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1115 1120 1125

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1130 1135 1140

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1145 1150 1155

Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu
1160 1165 1170

Asp Ser Thr
1175

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19
Asp Gly Leu Leu Arg Leu
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT

<213> Homo sapiens
 <400> 20
 Phe Leu Leu Val Thr Pro His
 1 5
 5
 <210> 21
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 21
 Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Val Asp Asp
 1 5 10
 15
 <210> 22
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 22
 Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His
 1 5 10
 20
 <210> 23
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 25
 <220>
 <223> sitio de restricción
 30
 <400> 23
 gtcgacaagc ttcccggtc tagaagatct 30
 <210> 24
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35
 <220>
 <223> cebador
 40
 <400> 24
 gcttttctgc caggtgctga 20
 45
 <210> 25
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 50
 <220>
 <223> cebador
 <400> 25
 gccagaagtc agatgctcaa 20
 55
 <210> 26
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 26

Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu
1 5 10 15

Val Thr Pro His Leu Thr His
20

5 <210> 27
<211> 20
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> cebador

<400> 27
cgggtggagg tctatataag 20

15 <210> 28
<211> 18
<212> ADN
<213> Artificial

20 <220>
<223> cebador

<400> 28
cagggtaag gaaggcac 18

25 <210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30 <400> 29
Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu
1 5 10

35 <210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 30
Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu
1 5

45 <210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31
Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
1 5

50 <210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 32
Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu
1 5

<210> 33

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

5      <400> 33
      Tyr Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val
      1               5

```

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

<400> 34
Tyr Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val
1             5             10

```

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35
Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30 <400> 36
 Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala
 1 5

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

<400> 37
Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
1          5          10          15

```

40 <210> 38
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 38
Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp
 1 5 10 15

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

<400> 39
Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser
1           5           10           15

```

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40
 Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val
 1 5

5
 <210> 41
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10
 <400> 41
 His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu
 1 5

15
 <210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20
 <400> 42
 Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu
 1 5 10

25
 <210> 43
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30
 <400> 43
 Gln Thr Val Cys Thr Ile Asn Ile Tyr Lys Ile
 1 5 10

35
 <210> 44
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

40
 <220>
 <223> cebador

45
 <400> 44
 ggcaagtcct acgtccagtg 20

50
 <210> 45
 <211> 3591
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

48
 <220>
 <223> secuencia optimizada de fusión Ubi-hTERT

96
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3591)

48
 <400> 45
 atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa
 Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
 1 5 10 15

96
 gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac
 Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp

ES 2 771 862 T3

20	25	30	
aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys 35 40 45			144
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu 50 55 60			192
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ctg gcc acc ttc Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Leu Ala Thr Phe 65 70 75 80			240
gtg cgg cgc ctg gga ccc cag ggc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac Val Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp 85 90 95			288
cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg gtc tgc gtt cct Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro 100 105 110			336
tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc cgg cag gtg agt Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser 115 120 125			384
tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg ctt tgt gaa agg Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg 130 135 140			432
gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg ctc gat gga gca Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala 145 150 155 160			480
cgc gga ggc cct cct gag gca ttc act act agc gtc cgg tcc tac ctg Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu 165 170 175			528
ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca ggt gcc tgg ggt ctg Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu 180 185 190			576
ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt cac ctc ctg gcc cgg Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg 195 200 205			624
tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc gca tac cag gtc tgc Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys 210 215 220			672
gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct act cag gcc cgc cca cca Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro 225 230 235 240			720
cca cac gcc tca ggt cca aga cgc cgg ctg ggc tgc gaa cgg gca tgg Pro His Ala Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp 245 250 255			768
aat cat agc gtg cgg gag gca ggt gtg cct ctc ggc ctg cca gcc ccc Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro 260 265 270			816
gga gca agg aga cgc ggt gga tcc gcc agt cgc tca ctc ccc ttg cct			864

ES 2 771 862 T3

Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro	
	275						280					285				
aag	agg	cca	aga	aga	gga	gcc	gcc	cct	gaa	ccc	gag	aga	aca	cct	gtc	912
Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val	
	290					295					300					
ggc	cag	ggc	tcc	tgg	gct	cac	ccc	gga	agg	acc	agg	ggc	cca	agc	gat	960
Gly	Gln	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	
305					310					315					320	
agg	ggc	ttc	tgt	gtt	gtg	tca	cca	gcc	agg	cct	gcc	gaa	gag	gct	acc	1008
Arg	Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	
			325						330					335		
tcc	ttg	gaa	gga	gcc	ctc	agt	ggc	acc	agg	cat	tct	cat	cca	tct	gtg	1056
Ser	Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val	
			340					345					350			
ggt	agg	cag	cat	cat	gcc	ggc	ccc	ccc	tct	aca	agc	aga	cct	ccc	aga	1104
Gly	Arg	Gln	His	His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg	
		355					360					365				
cct	tgg	gac	aca	ccc	tgc	cca	cca	gtg	tat	gcc	gag	acc	aag	cac	ttt	1152
Pro	Trp	Asp	Thr	Pro	Cys		Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe	
	370				375						380					
ttg	tat	tcc	agt	ggc	gat	aaa	gag	cag	ctc	cgg	ccc	tct	ttt	ctg	ctc	1200
Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	
385				390					395					400		
tca	agc	ctc	cgc	ccc	tct	ctg	acc	gga	gct	cgc	agg	ctg	gtg	gag	acc	1248
Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr	
			405					410						415		
atc	ttt	ctg	ggc	tca	aga	cca	tgg	atg	cca	ggc	acc	ccc	cgc	aga	ctg	1296
Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu	
		420						425					430			
ccc	agg	ctc	ccc	cag	cgg	tac	tgg	cag	atg	cgc	cct	ctc	ttt	ctg	gaa	1344
Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	
		435					440					445				
ctt	ctg	ggt	aac	cac	gcc	cag	tgc	cca	tat	ggc	gtc	ctg	ctg	aag	acc	1392
Leu	Leu	Gly	Asn	His	Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr	
	450					455					460					
cac	tgt	cct	ctg	agg	gcc	gcc	gtg	acc	cca	gcc	gcc	ggt	gtg	tgt	gct	1440
His	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	
	465				470					475					480	
aga	gaa	aaa	ccc	cag	ggc	tca	gtg	gct	gca	cct	gaa	gag	gag	gac	act	1488
Arg	Glu	Lys	Pro	Gln	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	
			485						490					495		
gac	cct	cgc	cgc	ctt	gtc	cag	ttg	ctc	agg	cag	cat	tca	tca	cca	tgg	1536
Asp	Pro	Arg	Arg	Leu	Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	
			500					505					510			
cag	gtg	tac	ggc	ttc	gtg	agg	gct	tgc	ctg	cgg	aga	ctg	gtc	ccc	ccc	1584
Gln	Val	Tyr	Gly	Phe	Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	
	515						520					525				

ES 2 771 862 T3

gga ttg tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt ctg agg aat aca Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr 530 535 540	1632
aag aag ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc agc ttg cag gag Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu 545 550 555 560	1680
ctg aca tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg ctc agg cgg tca Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser 565 570 575	1728
cct gga gtt gga tgc gtt cca gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu 580 585 590	1776
att ctc gca aag ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu 595 600 605	1824
ctg ctg cgg tct ttc ttc tac gtg aca gag acc act ttt cag aag aac Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn 610 615 620	1872
aga ctg ttc ttc tac agg aag tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile 625 630 635 640	1920
ggt att aga cag cac ctt aag aga gtt cag ctt aga gag ctg tcc gaa Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu 645 650 655	1968
gct gaa gtc cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc ctc ctg acc tct Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser 660 665 670	2016
cgg ctg cgg ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga cct atc gtg aat Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn 675 680 685	2064
atg gat tac gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg gag aag cgc gcc Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala 690 695 700	2112
gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct gtg ctt aat tat Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr 705 710 715 720	2160
gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc gtg ctc ggc ctg Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu 725 730 735	2208
gat gat atc cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg ctt cgg gtg agg gca Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala 740 745 750	2256
cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt gat gtt act ggt Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly 755 760 765	2304
gct tac gat aca atc cct cag gac cgg ctc acc gag gtg atc gcc tct Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser 770 775 780	2352

ES 2 771 862 T3

att atc aaa ccc cag aac acc tac tgc gtg aga agg tac gcc gtc gtt Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val 785 790 795 800	2400
cag aaa gcc gca cac gga cac gtg cgc aaa gct ttc aaa tcc cac gtg Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val 805 810 815	2448
tct acc ttg aca gac ctc cag cct tat atg cgg cag ttt gtc gca cac Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His 820 825 830	2496
ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct gtg gtc atc gaa cag tcc Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser 835 840 845	2544
agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg ttt gat gtg ttc ctg cgc Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg 850 855 860	2592
ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg ggc aag tct tac gtg cag Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln 865 870 875 880	2640
tgc cag ggc atc cca cag ggt agc atc ctg agc aca ctg ctg tgt agc Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser 885 890 895	2688
ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc ggt atc aga aga Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg 900 905 910	2736
gac ggt ttg ctc ctg agg ctg ttc ctg ctg gtt acc ccc cat ctg act Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr 915 920 925	2784
cat gcc aaa aca ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc gtg cca gag tat His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr 930 935 940	2832
ggc tgt gtt gtg aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat ttc cca gtg gag Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu 945 950 955 960	2880
gac gaa gct ctc gga ggc aca gct ttt gtt cag atg cct gcc cac ggc Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly 965 970 975	2928
ctg ttc cca tgg tgc gga ctg ctg ctc gat acc cgg acc ctc gag gtg Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val 980 985 990	2976
cag tcc gat tat agt tcc tat gca aga aca tca att cgg gct agc ctg Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu 995 1000 1005	3024
act ttc aac agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys 1010 1015 1020	3069
ctg ttc gga gtg ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp	3114

ES 2 771 862 T3

1025	1030	1035	
ttg cag gtc aat tct ctc cag	aca gtg tgt acc aac	att tat aaa	3159
Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln	Thr Val Cys Thr Asn	Ile Tyr Lys	
1040	1045	1050	
atc ctc ttg ctg cag gct tac	aga ttc cat gcc tgc	gtc ctg cag	3204
Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr	Arg Phe His Ala Cys	Val Leu Gln	
1055	1060	1065	
ctg cct ttc cac cag cag gtg	tgg aaa aac cct acc	ttc ttc ctg	3249
Leu Pro Phe His Gln Gln Val	Trp Lys Asn Pro Thr	Phe Phe Leu	
1070	1075	1080	
cgg gtg att agc gac acc gcc	agt ctt tgc tac tcc	atc ttg aaa	3294
Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala	Ser Leu Cys Tyr Ser	Ile Leu Lys	
1085	1090	1095	
gca aaa aac gct ggc atg agc	ttg gga gct aag ggc	gcc gct gga	3339
Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser	Leu Gly Ala Lys Gly	Ala Ala Gly	
1100	1105	1110	
cct ctg ccc agt gaa gca gtc	cag tgg ctg tgt cat	cag gct ttc	3384
Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val	Gln Trp Leu Cys His	Gln Ala Phe	
1115	1120	1125	
ctc ctt aaa ctg aca cgc cac	cgc gtg act tac gtc	cca ctc ctg	3429
Leu Leu Lys Leu Thr Arg His	Arg Val Thr Tyr Val	Pro Leu Leu	
1130	1135	1140	
ggc tcc ctg aga act gct cag	acc cag ctt tcc cgg	aag ctt cca	3474
Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln	Thr Gln Leu Ser Arg	Lys Leu Pro	
1145	1150	1155	
ggc act acc ctt acc gca ctc	gaa gca gcc gcc aac	cct gcc ctg	3519
Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu	Glu Ala Ala Ala Asn	Pro Ala Leu	
1160	1165	1170	
ccc tcc gac ttt aag act atc	ctg gac ggc aag cca	att cct aat	3564
Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile	Leu Asp Gly Lys Pro	Ile Pro Asn	
1175	1180	1185	
cca ttg ctg ggc ctg gac tca	act tga		3591
Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser	Thr		
1190	1195		

<210> 46
 <211> 1196
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 46
 Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
 1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
 20 25 30

ES 2 771 862 T3

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

ES 2 771 862 T3

275					280					285					
Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Glu	Pro	Glu	Arg	Thr	Pro	Val
290						295					300				
Gly	Gln	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp
305					310					315					320
Arg	Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr
				325					330					335	
Ser	Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val
			340					345					350		
Gly	Arg	Gln	His	His	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg
		355					360					365			
Pro	Trp	Asp	Thr	Pro	Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe
	370					375					380				
Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu
385					390					395					400
Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr
				405					410					415	
Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu
			420					425					430		
Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu
		435					440					445			
Leu	Leu	Gly	Asn	His	Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr
		450				455					460				
His	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala
465					470					475					480
Arg	Glu	Lys	Pro	Gln	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr
				485				490						495	
Asp	Pro	Arg	Arg	Leu	Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp
			500					505					510		
Gln	Val	Tyr	Gly	Phe	Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro
		515					520					525			

ES 2 771 862 T3

Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr
 530 535 540
 Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu
 545 550 555 560
 Leu Thr Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser
 565 570 575
 Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu
 580 585 590
 Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu
 595 600 605
 Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn
 610 615 620
 Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile
 625 630 635 640
 Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu
 645 650 655
 Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 660 665 670
 Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn
 675 680 685
 Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala
 690 695 700
 Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
 705 710 715 720
 Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 725 730 735
 Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala
 740 745 750
 Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly
 755 760 765
 Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser
 770 775 780

ES 2 771 862 T3

Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val
 785 790 795 800
 Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val
 805 810 815
 Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His
 820 825 830
 Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser
 835 840 845
 Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg
 850 855 860
 Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln
 865 870 875 880
 Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser
 885 890 895
 Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg
 900 905 910
 Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr
 915 920 925
 His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr
 930 935 940
 Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu
 945 950 955 960
 Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly
 965 970 975
 Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val
 980 985 990
 Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu
 995 1000 1005
 Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys
 1010 1015 1020
 Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp
 1025 1030 1035

ES 2 771 862 T3

Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln
1055 1060 1065

Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu
1070 1075 1080

Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys
1085 1090 1095

Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly
1100 1105 1110

Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe
1115 1120 1125

Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu
1130 1135 1140

Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro
1145 1150 1155

Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu
1160 1165 1170

Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp Gly Lys Pro Ile Pro Asn
1175 1180 1185

Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
1190 1195

<210> 47
<211> 3555
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> inserto pUTSCram

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3555)

<400> 47
atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

48

ES 2 771 862 T3

gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp 20 25 30	96
aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys 35 40 45	144
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu 50 55 60	192
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ggt gga ggt gga Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly 65 70 75 80	240
tgc gtt cca gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag att ctc gca aag Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys 85 90 95	288
ttc ctg cac tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser 100 105 110	336
ttc ttc tac gtg aca gag acc act ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe 115 120 125	384
tac agg aag tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att ggt att aga cag Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln 130 135 140	432
cac ctt aag aga gtt cag gga ggt ggt gga ggt gga ttc act act agc His Leu Lys Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr Thr Ser 145 150 155 160	480
gtc cgg tcc tac ctg ccc aac aca gtg acc gac gct ctg aga ggt tca Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser 165 170 175	528
ggt gcc tgg ggt ctg ctg ctg cgg agg gtg ggt gat gat gtt ctg gtt Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val 180 185 190	576
cac ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg gct ccc tcc tgc His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys 195 200 205	624
gca tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag ctc ggc gct gct ggt Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Gly 210 215 220	672
gga ggt ggt gga ggt gcc ggt gtg tgt gct aga gaa aaa ccc cag ggc Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly 225 230 235 240	720
tca gtg gct gca cct gaa gag gag gac act gac cct cgc cgc ctt gtc Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val 245 250 255	768
cag ttg ctc agg cag cat tca tca cca tgg cag gtg tac ggc ttc gtg Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val	816

ES 2 771 862 T3

260	265	270	
agg gct tgc ctg cgg aga ctg gtc ccc ccc gga ttg tgg gga tct cgg Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg 275 280 285			864
cac aac gaa cgg cgc ttt ctg agg aat aca aag aag ttt atc tcc ctg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Ser Pro Gly Ser Lys Phe Ile Ser Leu 290 295 300			912
ggc aag cat gca aag ctc agc ttg cag gag ctg aca tgg aag atg agc Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Thr Trp Lys Met Ser 305 310 315 320			960
gtt aga gga tgc gca tgg ctc agg cgg tca cct gga gtt gga ggt gga Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Gly Gly 325 330 335			1008
ggt gga gga tcc tgg gct cac ccc gga agg acc agg ggc cca agc gat Gly Gly Gly Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp 340 345 350			1056
agg ggc ttc tgt gtt gtg tca cca gcc agg cct gcc gaa gag gct acc Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr 355 360 365			1104
tcc ttg gaa gga gcc ctc agt ggc acc agg ggt ggt gga ggt gga gga Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg Gly Gly Gly Gly Gly 370 375 380			1152
aaa tcc cac gtg tct acc ttg aca gac ctc cag cct tat atg cgg cag Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln 385 390 395 400			1200
ttt gtc gca cac ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct gtg gtc Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val 405 410 415			1248
atc gaa cag tcc agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg ttt gat Ile Glu Gln Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp 420 425 430			1296
gtg ttc ctg cgc ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg ggc aag Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys 435 440 445			1344
tct tac gtg cag tgc cag ggc atc cca cag ggt agc atc ctg agc aca Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr 450 455 460			1392
ctg ctg tgt agc ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg ttc gcc Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala 465 470 475 480			1440
ggt atc aga aga gac ggt ttg ctc ctg agg ctg ttc ctg ctg gtt acc Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr 485 490 495			1488
ccc cat ctg act cat gcc aaa aca ttt ttg cgg act ctg gtt agg ggc Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly 500 505 510			1536
gtg cca gag tat ggc tgt gtt gtg aat ttg cgg aaa act gtg gtt aat			1584

ES 2 771 862 T3

Val	Pro	Glu	Tyr	Gly	Cys	Val	Val	Asn	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Val	Asn	
		515					520					525				
ttc	cca	gtg	gag	gac	gaa	gct	ctc	gga	ggc	aca	gct	ttt	gtt	cag	atg	1632
Phe	Pro	Val	Glu	Asp	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Phe	Val	Gln	Met	
	530					535				540						
cct	gcc	cac	ggc	ctg	ttc	cca	tgg	tgc	gga	ctg	ctg	ctc	gat	acc	cgg	1680
Pro	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Pro	Trp	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Asp	Thr	Arg	
545					550				555						560	
acc	ctc	gag	gtg	cag	tcc	gat	tat	agt	tcc	tat	gca	aga	aca	tca	att	1728
Thr	Leu	Glu	Val	Gln	Ser	Asp	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ala	Arg	Thr	Ser	Ile	
				565					570					575		
gga	gga	ggt	ggt	gga	ggt	tgg	aat	cat	agc	gtg	cgg	gag	gca	ggt	gtg	1776
Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Trp	Asn	His	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Val	
			580					585					590			
cct	ctc	ggc	ctg	cca	gcc	ccc	gga	gca	agg	aga	cgc	ggt	gga	tcc	gcc	1824
Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	
		595					600					605				
agt	cgc	tca	ctc	ccc	ttg	cct	aag	agg	cca	aga	aga	gga	gcc	ggt	gga	1872
Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu		Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Gly	Gly	
	610					615					620					
gga	ggt	ggt	gga	ctg	gcc	acc	ttc	gtg	cgg	cgc	ctg	gga	ccc	cag	ggc	1920
Gly	Gly	Gly	Gly	Leu	Ala	Thr	Phe	Val	Arg	Arg	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	
625					630				635						640	
tgg	cgg	ctg	gtg	cag	cgc	ggg	gac	cct	gct	gct	ttc	aga	gct	ctc	gtc	1968
Trp	Arg	Leu	Val	Gln	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Ala	Phe	Arg	Ala	Leu	Val	
				645					650					655		
gcc	cag	tgt	ctg	gtc	tgc	gtt	cct	tgg	gac	gca	cgg	ccc	cca	ccc	gcc	2016
Ala	Gln	Cys	Leu	Val	Cys	Val	Pro	Trp	Asp	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	
		660						665					670			
gcc	ccc	agt	ttc	cgg	cag	gtg	agt	tgt	ctc	aaa	gag	ttg	gtt	gct	cgg	2064
Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Gln	Val	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Ala	Arg	
		675					680					685				
gtg	ttg	cag	cgg	ctt	tgt	gaa	agg	gga	gca	aag	aac	gtc	ctt	gcc	ttt	2112
Val	Leu	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Arg	Gly	Ala	Lys	Asn	Val	Leu	Ala	Phe	
	690					695					700					
ggc	ttc	gct	ttg	ctc	gat	gga	gca	cgc	gga	gga	ggt	ggt	gga	ggt	gga	2160
Gly	Phe	Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	
705					710				715						720	
aga	gag	ctg	tcc	gaa	gct	gaa	gtc	cgc	cag	cac	cgc	gaa	gct	cgc	ccc	2208
Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Gln	His	Arg	Glu	Ala	Arg	Pro	
				725					730					735		
gcc	ctc	ctg	acc	tct	cgg	ctg	cgg	ttt	att	ccc	aaa	ccc	gat	ggc	ctt	2256
Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Lys	Pro	Asp	Gly	Leu	
			740					745					750			
aga	cct	atc	gtg	aat	atg	gat	tac	gtc	gtg	ggt	gcc	cgc	act	ttc	aga	2304
Arg	Pro	Ile	Val	Asn	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Phe	Arg	
		755					760					765				

ES 2 771 862 T3

agg gag aag cgc gcc gag aga ctg aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe 770 775 780	2352
tct gtg ctt aat tat gaa aga gcc cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala 785 790 795 800	2400
agc gtg ctc ggc ctg gat gat atc cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val 805 810 815	2448
ctt cgg gtg agg gca cag gat cct cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys 820 825 830	2496
gtt gat gtt act ggt gct tac gat aca atc cct cag gac cgg ctc acc Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr 835 840 845	2544
gag gtg atc gcc tct att atc aaa ccc cag aac acc tac tgc gtg aga Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg 850 855 860	2592
agg tac gcc gtc gtt cag aaa gcc gca cac gga cac gtg cgc aaa ggt Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Gly 865 870 875 880	2640
gga gga ggt ggt gga aac agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga Gly Gly Gly Gly Gly Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg 885 890 895	2688
agg aaa ctg ttc gga gtg ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu 900 905 910	2736
gac ttg cag gtc aat tct ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys 915 920 925	2784
atc ctc ttg ctg cag gct tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu 930 935 940	2832
cct ttc cac cag cag gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val 945 950 955 960	2880
att agc gac acc gcc agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn 965 970 975	2928
gct ggc atg agc ttg gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser 980 985 990	2976
gaa gca gtc cag tgg ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr 995 1000 1005	3024
cgc cac cgc gtg act tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr 1010 1015 1020	3069

gct cag acc cag ctt tcc cgg aaa ctt cca ggc act acc ctt acc	3114
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr	
1025 1030 1035	
gca ctc gaa gca gcc gcc aac cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag	3159
Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys	
1040 1045 1050	
act atc ctg gac gga ggt gga ggt gga ggt ccc tgc cca cca gtg	3204
Thr Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Cys Pro Pro Val	
1055 1060 1065	
tat gcc gag acc aag cac ttt ttg tat tcc agt ggc gat aaa gag	3249
Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu	
1070 1075 1080	
cag ctc cgg ccc tct ttt ctg ctc tca agc ctc cgc ccc tct ctg	3294
Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu	
1085 1090 1095	
acc gga gct cgc agg ctg gtg gag acc atc ttt ctg ggc tca aga	3339
Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg	
1100 1105 1110	
cca tgg atg cca ggc acc ccc cgc aga ctg ccc agg ctc ccc cag	3384
Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln	
1115 1120 1125	
cgg tac tgg cag atg cgc cct ctc ttt ctg gaa ctt ctg ggt aac	3429
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn	
1130 1135 1140	
cac gcc cag tgc cca tat ggc gtc ctg ctg aag acc cac tgt cct	3474
His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro	
1145 1150 1155	
ctg agg gcc gcc gtg acc gga ggt ggt gga gga ggt ggc aag cca	3519
Leu Arg Ala Ala Val Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Pro	
1160 1165 1170	
att cct aat cca ttg ctg ggc ctg gac tca act tga	3555
Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr	
1175 1180	

<210> 48

<211> 1184

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 48

Met	Gln	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Glu
1				5					10					15	

Val	Glu	Pro	Ser	Asp	Thr	Ile	Glu	Asn	Val	Lys	Ala	Lys	Ile	Gln	Asp
			20					25					30		

ES 2 771 862 T3

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu
50 55 60

Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys
85 90 95

Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser
100 105 110

Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe
115 120 125

Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln
130 135 140

His Leu Lys Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr Thr Ser
145 150 155 160

Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser
165 170 175

Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val
180 185 190

His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys
195 200 205

Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Gly
210 215 220

Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly
225 230 235 240

Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val
245 250 255

Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe Val
260 265 270

Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg
275 280 285

ES 2 771 862 T3

His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu
 290 295 300
 Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met Ser
 305 310 315 320
 Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Gly Gly
 325 330 335
 Gly Gly Gly Ser Trp Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp
 340 345 350
 Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr
 355 360 365
 Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 370 375 380
 Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln
 385 390 395 400
 Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala Val Val
 405 410 415
 Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp
 420 425 430
 Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys
 435 440 445
 Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr
 450 455 460
 Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
 465 470 475 480
 Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu Val Thr
 485 490 495
 Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly
 500 505 510
 Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn
 515 520 525
 Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met

ES 2 771 862 T3

530		535		540
Pro Ala His Gly Leu Phe	Pro Trp Cys Gly Leu	Leu Leu Asp Thr Arg		
545	550	555		560
Thr Leu Glu Val Gln Ser	Asp Tyr Ser Ser Tyr	Ala Arg Thr Ser Ile		
	565	570		575
Gly Gly Gly Gly Gly Gly	Trp Asn His Ser Val	Arg Glu Ala Gly Val		
	580	585	590	
Pro Leu Gly Leu Pro Ala	Pro Gly Ala Arg Arg	Arg Gly Gly Ser Ala		
	595	600	605	
Ser Arg Ser Leu Pro Leu	Pro Lys Arg Pro Arg	Arg Gly Ala Gly Gly		
610	615	620		
Gly Gly Gly Gly Leu Ala	Thr Phe Val Arg Arg	Leu Gly Pro Gln Gly		
625	630	635		640
Trp Arg Leu Val Gln Arg	Gly Asp Pro Ala Ala	Phe Arg Ala Leu Val		
	645	650	655	
Ala Gln Cys Leu Val Cys	Val Pro Trp Asp Ala	Arg Pro Pro Pro Ala		
	660	665	670	
Ala Pro Ser Phe Arg Gln	Val Ser Cys Leu Lys	Glu Leu Val Ala Arg		
	675	680	685	
Val Leu Gln Arg Leu Cys	Glu Arg Gly Ala Lys	Asn Val Leu Ala Phe		
690	695	700		
Gly Phe Ala Leu Leu Asp	Gly Ala Arg Gly Gly	Gly Gly Gly Gly Gly		
705	710	715		720
Arg Glu Leu Ser Glu Ala	Glu Val Arg Gln His	Arg Glu Ala Arg Pro		
	725	730	735	
Ala Leu Leu Thr Ser Arg	Leu Arg Phe Ile Pro	Lys Pro Asp Gly Leu		
	740	745	750	
Arg Pro Ile Val Asn Met	Asp Tyr Val Val Gly	Ala Arg Thr Phe Arg		
	755	760	765	
Arg Glu Lys Arg Ala Glu	Arg Leu Thr Ser Arg	Val Lys Ala Leu Phe		
770	775	780		

ES 2 771 862 T3

Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala
 785 790 795 800
 Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val
 805 810 815
 Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys
 820 825 830
 Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr
 835 840 845
 Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg
 850 855 860
 Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Gly
 865 870 875 880
 Gly Gly Gly Gly Gly Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg
 885 890 895
 Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu
 900 905 910
 Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys
 915 920 925
 Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu
 930 935 940
 Pro Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val
 945 950 955 960
 Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn
 965 970 975
 Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser
 980 985 990
 Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
 995 1000 1005
 Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
 1010 1015 1020
 Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
 1025 1030 1035

ES 2 771 862 T3

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1040 1045 1050

Thr Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Cys Pro Pro Val
1055 1060 1065

Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu
1070 1075 1080

Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu
1085 1090 1095

Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg
1100 1105 1110

Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
1115 1120 1125

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn
1130 1135 1140

His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro
1145 1150 1155

Leu Arg Ala Ala Val Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Pro
1160 1165 1170

Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
1175 1180

<210> 49
<211> 3555
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> inserto pUTInv

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(3555)

<400> 49
atg cag att ttc gtc aaa aca ttg aca gga aag acc atc aca ctg gaa 48
Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15
gtg gag cca agc gac act att gag aac gtc aaa gcc aag att cag gac 96
Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

ES 2 771 862 T3

aag gag ggc atc cca cca gac cag cag agg ctg att ttt gcc gga aag Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys 35 40 45	144
cag ctg gag gac gga cgc aca ctc agt gac tac aat atc cag aag gaa Gln Leu Glu Asp Gly Arg Thr Leu Ser Asp Tyr Asn Ile Gln Lys Glu 50 55 60	192
agt act ctg cat ctg gtc ctt cgc ctg cgc ggc gga ggt gga ggt gga Ser Thr Leu His Leu Val Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly 65 70 75 80	240
aac agg ggc ttc aag gcc ggc cgg aat atg aga agg aaa ctg ttc gga Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly 85 90 95	288
gtg ttg aga ctt aag tgt cat agt ctt ttt ttg gac ttg cag gtc aat Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn 100 105 110	336
tct ctc cag aca gtg tgt acc aac att tat aaa atc ctc ttg ctg cag Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln 115 120 125	384
gct tac aga ttc cat gcc tgc gtc ctg cag ctg cct ttc cac cag cag Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln 130 135 140	432
gtg tgg aaa aac cct acc ttc ttc ctg cgg gtg att agc gac acc gcc Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala 145 150 155 160	480
agt ctt tgc tac tcc atc ttg aaa gca aaa aac gct ggc atg agc ttg Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu 165 170 175	528
gga gct aag ggc gcc gct gga cct ctg ccc agt gaa gca gtc cag tgg Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp 180 185 190	576
ctg tgt cat cag gct ttc ctc ctt aaa ctg aca cgc cac cgc gtg act Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr 195 200 205	624
tac gtc cca ctc ctg ggc tcc ctg aga act gct cag acc cag ctt tcc Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser 210 215 220	672
cgg aaa ctt cca ggc act acc ctt acc gca ctc gaa gca gcc gcc aac Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn 225 230 235 240	720
cct gcc ctg ccc tcc gac ttt aag act atc ctg gac gga ggt ggt gga Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gly 245 250 255	768
ggt gga aaa tcc cac gtg tct acc ttg aca gac ctc cag cct tat atg Gly Gly Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met 260 265 270	816
cgg cag ttt gtc gca cac ctg cag gag act agc ccc ttg agg gac gct Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu Arg Asp Ala 275 280 285	864

ES 2 771 862 T3

gtg gtc atc gaa cag tcc agc tct ctc aat gag gca tcc tca ggc ctg Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu 290 295 300	912
ttt gat gtg ttc ctg cgc ttt atg tgc cac cac gcc gtg cgg att agg Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg 305 310 315 320	960
ggc aag tct tac gtg cag tgc cag ggc atc cca cag ggt agc atc ctg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu 325 330 335	1008
agc aca ctg ctg tgt agc ctg tgc tat ggc gat atg gag aat aaa ttg Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu 340 345 350	1056
ttc gcc ggt atc aga aga gac ggt ttg ctc ctg agg ctg ttc ctg ctg Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu 355 360 365	1104
gtt acc ccc cat ctg act cat gcc aaa aca ttt ttg cgg act ctg gtt Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val 370 375 380	1152
agg ggc gtg cca gag tat ggc tgt gtt gtg aat ttg cgg aaa act gtg Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val 385 390 395 400	1200
gtt aat ttc cca gtg gag gac gaa gct ctc gga ggc aca gct ttt gtt Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val 405 410 415	1248
cag atg cct gcc cac ggc ctg ttc cca tgg tgc gga ctg ctg ctc gat Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp 420 425 430	1296
acc cgg acc ctc gag gtg cag tcc gat tat agt tcc tat gca aga aca Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr 435 440 445	1344
tca att ggt gga ggt ggt gga ggt aga gag ctg tcc gaa gct gaa gtc Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val 450 455 460	1392
cgc cag cac cgc gaa gct cgc ccc gcc ctc ctg acc tct cgg ctg cgg Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg 465 470 475 480	1440
ttt att ccc aaa ccc gat ggc ctt aga cct atc gtg aat atg gat tac Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr 485 490 495	1488
gtc gtg ggt gcc cgc act ttc aga agg gag aag cgc gcc gag aga ctg Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu 500 505 510	1536
aca tct cgc gtg aag gca ctt ttt tct gtg ctt aat tat gaa aga gcc Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala 515 520 525	1584
cgc aga cct ggt ctt ctc gga gcc agc gtg ctc ggc ctg gat gat atc Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile 1632	

ES 2 771 862 T3

530	535	540	
cat cgg gct tgg cgc acc ttt gtg ctt cgg gtg agg gca cag gat cct His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro 545 550 555 560			1680
cct cct gag ctt tat ttt gtg aaa gtt gat gtt act ggt gct tac gat Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp 565 570 575			1728
aca atc cct cag gac cgg ctc acc gag gtg atc gcc tct att atc aaa Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys 580 585 590			1776
ccc cag aac acc tac tgc gtg aga agg tac gcc gtc gtt cag aaa gcc Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala 595 600 605			1824
gca cac gga cac gtg cgc aaa gga ggt gga ggt gga gga tgc gtt cca Ala His Gly His Val Arg Lys Gly Gly Gly Gly Gly Cys Val Pro 610 615 620			1872
gca gca gag cac agg ctg cgc gaa gag att ctc gca aag ttc ctg cac Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His 625 630 635 640			1920
tgg ctt atg agc gtc tac gtg gtc gaa ctg ctg cgg tct ttc ttc tac Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr 645 650 655			1968
gtg aca gag acc act ttt cag aag aac aga ctg ttc ttc tac agg aag Val Thr Glu Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys 660 665 670			2016
tcc gtc tgg agc aag ctc cag agt att ggt att aga cag cac ctt aag Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys 675 680 685			2064
aga gtt cag ggt ggt gga ggt gga gga gcc ggt gtg tgt gct aga gaa Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu 690 695 700			2112
aaa ccc cag ggc tca gtg gct gca cct gaa gag gag gac act gac cct Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro 705 710 715 720			2160
cgc cgc ctt gtc cag ttg ctc agg cag cat tca tca cca tgg cag gtg Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val 725 730 735			2208
tac ggc ttc gtg agg gct tgc ctg cgg aga ctg gtc ccc ccc gga ttg Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu 740 745 750			2256
tgg gga tct cgg cac aac gaa cgg cgc ttt ctg agg aat aca aag aag Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys 755 760 765			2304
ttt atc tcc ctg ggc aag cat gca aag ctc agc ttg cag gag ctg aca Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr 770 775 780			2352
tgg aag atg agc gtt aga gga tgc gca tgg ctc agg cgg tca cct gga			2400

ES 2 771 862 T3

Trp 785	Lys	Met	Ser	Val	Arg 790	Gly	Cys	Ala	Trp	Leu 795	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly 800	
ggt	gga	gga	ggt	ggt	gga	ggt	ccc	tgc	cca	cca	gtg	tat	gcc	gag	acc	2448
Val	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Pro	Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	
				805					810					815		
aag	cac	ttt	ttg	tat	tcc	agt	ggc	gat	aaa	gag	cag	ctc	cgg	ccc	tct	2496
Lys	His	Phe	Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly	Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	
			820					825					830			
ttt	ctg	ctc	tca	agc	ctc	cgc	ccc	tct	ctg	acc	gga	gct	cgc	agg	ctg	2544
Phe	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	
			835				840					845				
gtg	gag	acc	atc	ttt	ctg	ggc	tca	aga	cca	tgg	atg	cca	ggc	acc	ccc	2592
Val	Glu	Thr	Ile	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	
			850			855					860					
cgc	aga	ctg	ccc	agg	ctc	ccc	cag	cgg	tac	tgg	cag	atg	cgc	cct	ctc	2640
Arg	Arg	Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	
					870					875					880	
ttt	ctg	gaa	ctt	ctg	ggt	aac	cac	gcc	cag	tgc	cca	tat	ggc	gtc	ctg	2688
Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Asn	His	Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	
				885					890					895		
ctg	aag	acc	cac	tgt	cct	ctg	agg	gcc	gcc	gtg	acc	ggt	gga	gga	ggt	2736
Leu	Lys	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Val	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	
			900					905					910			
ggt	gga	tcc	tgg	gct	cac	ccc	gga	agg	acc	agg	ggc	cca	agc	gat	agg	2784
Gly	Gly	Ser	Trp	Ala	His	Pro	Gly	Arg	Thr	Arg	Gly	Pro	Ser	Asp	Arg	
		915					920					925				
ggc	ttc	tgt	gtt	gtg	tca	cca	gcc	agg	cct	gcc	gaa	gag	gct	acc	tcc	2832
Gly	Phe	Cys	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	
			930			935					940					
ttg	gaa	gga	gcc	ctc	agt	ggc	acc	agg	gga	ggt	ggt	gga	ggt	gga	tgg	2880
Leu	Glu	Gly	Ala	Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Trp	
				945		950				955					960	
aat	cat	agc	gtg	cgg	gag	gca	ggt	gtg	cct	ctc	ggc	ctg	cca	gcc	ccc	2928
Asn	His	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	
				965				970						975		
gga	gca	agg	aga	cgc	ggt	gga	tcc	gcc	agt	cgc	tca	ctc	ccc	ttg	cct	2976
Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Leu	Pro	Leu	Pro	
			980					985					990			
aag	agg	cca	aga	aga	gga	gcc	ggt	gga	gga	ggt	ggt	gga	ttc	act	act	3024
Lys	Arg	Pro	Arg	Arg	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Phe	Thr	Thr	
		995				1000						1005				
agc	gtc	cgg	tcc	tac	ctg	ccc	aac	aca	gtg	acc	gac	gct	ctg	aga		3069
Ser	Val	Arg	Ser	Tyr	Leu	Pro	Asn	Thr	Val	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg		
		1010				1015					1020					
ggt	tca	ggt	gcc	tgg	ggt	ctg	ctg	ctg	cgg	agg	gtg	ggt	gat	gat		3114
Gly	Ser	Gly	Ala	Trp	Gly	Leu	Leu	Leu	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Asp		
		1025				1030					1035					

ES 2 771 862 T3

gtt ctg gtt cac ctc ctg gcc cgg tgt gcc ctg ttc gtg ctg gtg	3159
Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val	
1040 1045 1050	
gct ccc tcc tgc gca tac cag gtc tgc gga ccc cca ctt tat cag	3204
Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln	
1055 1060 1065	
ctc gcc gct gct gga ggt gga ggt gga ggt ctg gcc acc ttc gtg	3249
Leu Gly Ala Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Leu Ala Thr Phe Val	
1070 1075 1080	
cgg cgc ctg gga ccc cag gcc tgg cgg ctg gtg cag cgc ggg gac	3294
Arg Arg Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp	
1085 1090 1095	
cct gct gct ttc aga gct ctc gtc gcc cag tgt ctg gtc tgc gtt	3339
Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val	
1100 1105 1110	
cct tgg gac gca cgg ccc cca ccc gcc gcc ccc agt ttc cgg cag	3384
Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln	
1115 1120 1125	
gtg agt tgt ctc aaa gag ttg gtt gct cgg gtg ttg cag cgg ctt	3429
Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu	
1130 1135 1140	
tgt gaa agg gga gca aag aac gtc ctt gcc ttt ggc ttc gct ttg	3474
Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu	
1145 1150 1155	
ctc gat gga gca cgc gga gga ggt ggt gga gga ggt ggc aag cca	3519
Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys Pro	
1160 1165 1170	
att cct aat cca ttg ctg gcc ctg gac tca act tga	3555
Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr	
1175 1180	

<210> 50

<211> 1184

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 50

Met Gln Ile Phe Val Lys Thr Leu Thr Gly Lys Thr Ile Thr Leu Glu
1 5 10 15

Val Glu Pro Ser Asp Thr Ile Glu Asn Val Lys Ala Lys Ile Gln Asp
20 25 30

Lys Glu Gly Ile Pro Pro Asp Gln Gln Arg Leu Ile Phe Ala Gly Lys
35 40 45

ES 2 771 862 T3

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

ES 2 771 862 T3

Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg
 305 310 315 320
 Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu
 325 330 335
 Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu
 340 345 350
 Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu Arg Leu Phe Leu Leu
 355 360 365
 Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val
 370 375 380
 Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val
 385 390 395 400
 Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val
 405 410 415
 Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp
 420 425 430
 Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr
 435 440 445
 Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val
 450 455 460
 Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 465 470 475 480
 Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr
 485 490 495
 Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu
 500 505 510
 Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala
 515 520 525
 Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile
 530 535 540
 His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro
 545 550 555 560

ES 2 771 862 T3

Pro Pro Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp
 565 570 575
 Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys
 580 585 590
 Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala
 595 600 605
 Ala His Gly His Val Arg Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Cys Val Pro
 610 615 620
 Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe Leu His
 625 630 635 640
 Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr
 645 650 655
 Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys
 660 665 670
 Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys
 675 680 685
 Arg Val Gln Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu
 690 695 700
 Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro
 705 710 715 720
 Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val
 725 730 735
 Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu
 740 745 750
 Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys
 755 760 765
 Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr
 770 775 780
 Trp Lys Met Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly
 785 790 795 800
 Val Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr

ES 2 771 862 T3

[illegible]

ES 2 771 862 T3

Ala Pro 1055	Ser Cys Ala Tyr Gln 1060	Val Cys Gly Pro Pro 1065	Leu Tyr Gln
Leu Gly 1070	Ala Ala Gly Gly Gly 1075	Gly Gly Gly Leu Ala 1080	Thr Phe Val
Arg Arg 1085	Leu Gly Pro Gln Gly 1090	Trp Arg Leu Val Gln 1095	Arg Gly Asp
Pro Ala 1100	Ala Phe Arg Ala Leu 1105	Val Ala Gln Cys Leu 1110	Val Cys Val
Pro Trp 1115	Asp Ala Arg Pro Pro 1120	Pro Ala Ala Pro Ser 1125	Phe Arg Gln
Val Ser 1130	Cys Leu Lys Glu Leu 1135	Val Ala Arg Val Leu 1140	Gln Arg Leu
Cys Glu 1145	Arg Gly Ala Lys Asn 1150	Val Leu Ala Phe Gly 1155	Phe Ala Leu
Leu Asp 1160	Gly Ala Arg Gly Gly 1165	Gly Gly Gly Gly Gly 1170	Gly Lys Pro
Ile Pro 1175	Asn Pro Leu Leu Gly 1180	Leu Asp Ser Thr	

REIVINDICACIONES

1. Una construcción de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una proteína transcriptasa inversa de telomerasa humana (hTERT) que carece de actividad catalítica de telomerasa y de una señal de localización nucleolar, en donde la proteína hTERT se fusiona en el extremo N con ubiquitina o calreticulina.
- 5 2. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde la secuencia que codifica la proteína hTERT contiene una mutación que proporciona la inactivación de la actividad catalítica de la proteína TERT.
3. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 2, en donde la proteína hTERT carece de actividad catalítica telomerasa por delección de al menos un aminoácido.
- 10 4. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 3, en donde la proteína hTERT carece de actividad catalítica telomerasa por delección de los aminoácidos 867-869 (VDD).
- 5 15 6. La construcción de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la proteína hTERT carece de una señal de localización nucleolar por delección de al menos los aminoácidos 1-23.
7. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 6, en donde la proteína hTERT carece de una señal de localización nucleolar por delección de los aminoácidos 1-47.
8. La construcción de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la proteína que potencia el direccionamiento de la proteína hTERT al proteasoma es ubiquitina.
- 20 9. La construcción de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la proteína que potencia el direccionamiento de la proteína hTERT al proteasoma es calreticulina.
10. La construcción de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que es un ADN, preferiblemente un plásmido de ADN.
- 25 11. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 10, que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
12. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 11, que comprende SEQ ID NO: 11 o los nucleótidos 3488 a 6961 de SEQ ID NO: 11.
13. La construcción de ácido nucleico de la reivindicación 10, que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, 16 o 18, y preferiblemente comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13, 15 o 17.
- 30 14. La construcción de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en la activación de una respuesta inmunitaria en un sujeto, contra células que expresan en exceso la telomerasa, preferiblemente células de displasia, células tumorales o células infectadas por un oncovirus.
15. La construcción de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso en la prevención o el tratamiento de un tumor en un paciente.

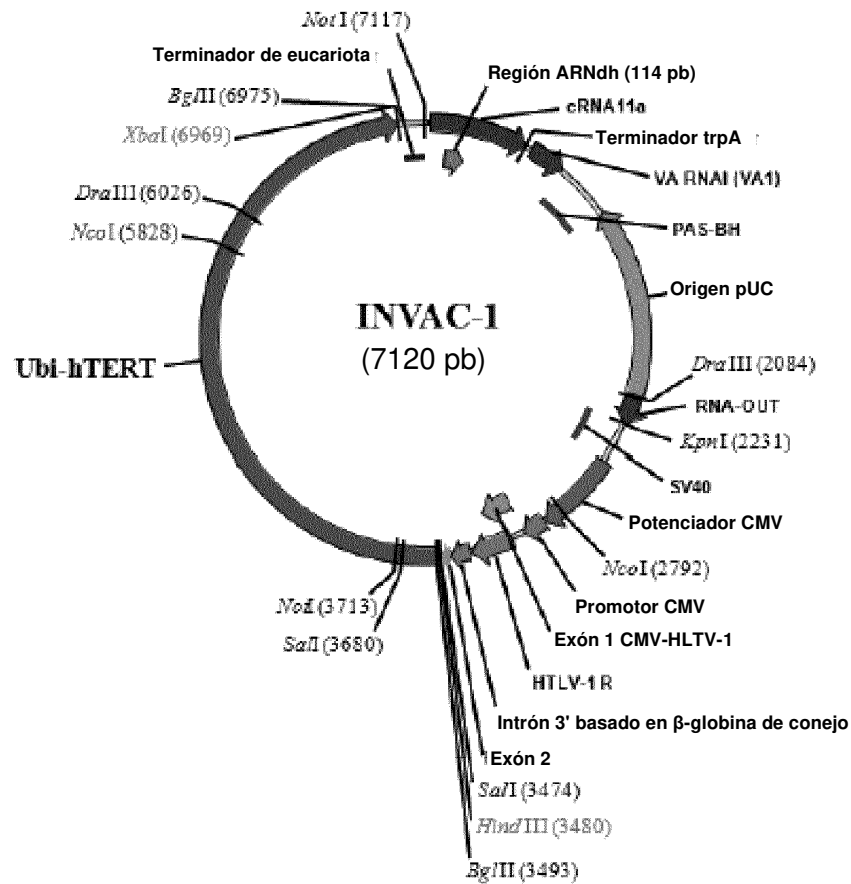


FIGURA 1A

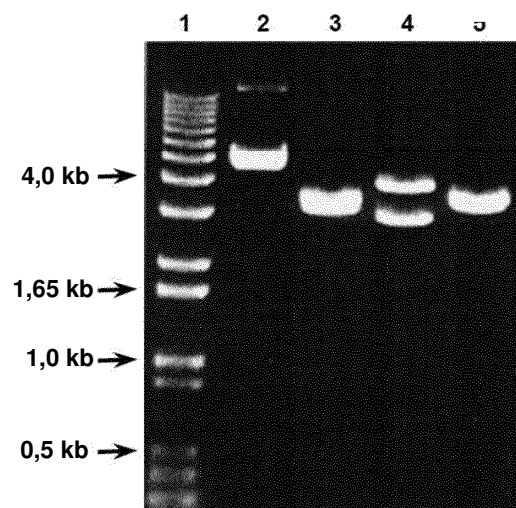


FIGURA 1B

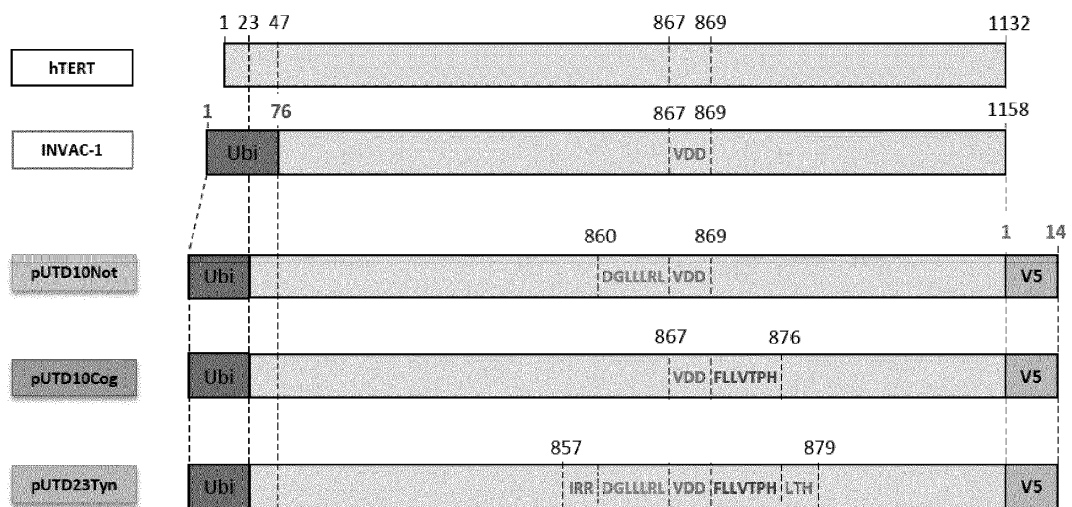


FIGURA 2A

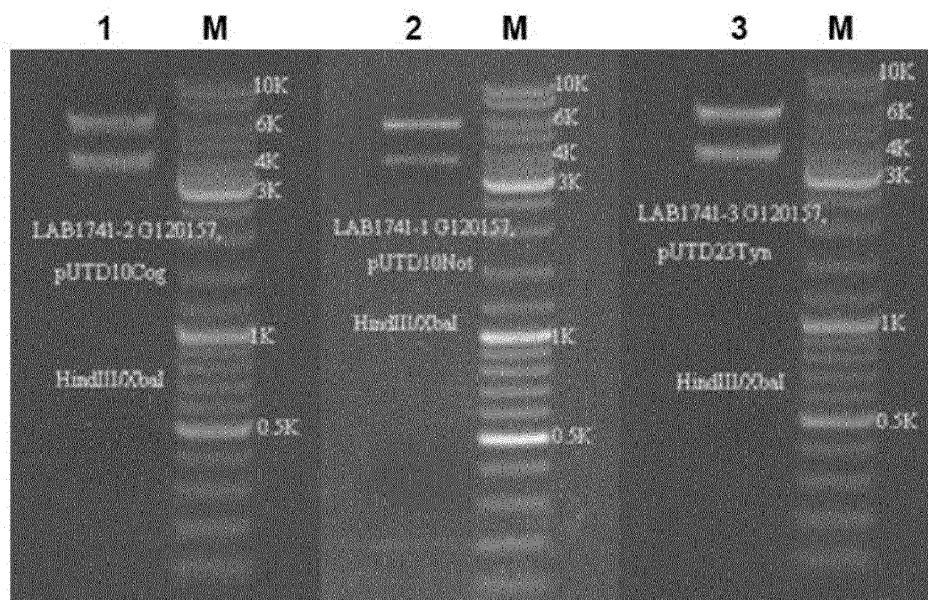


FIGURA 2B

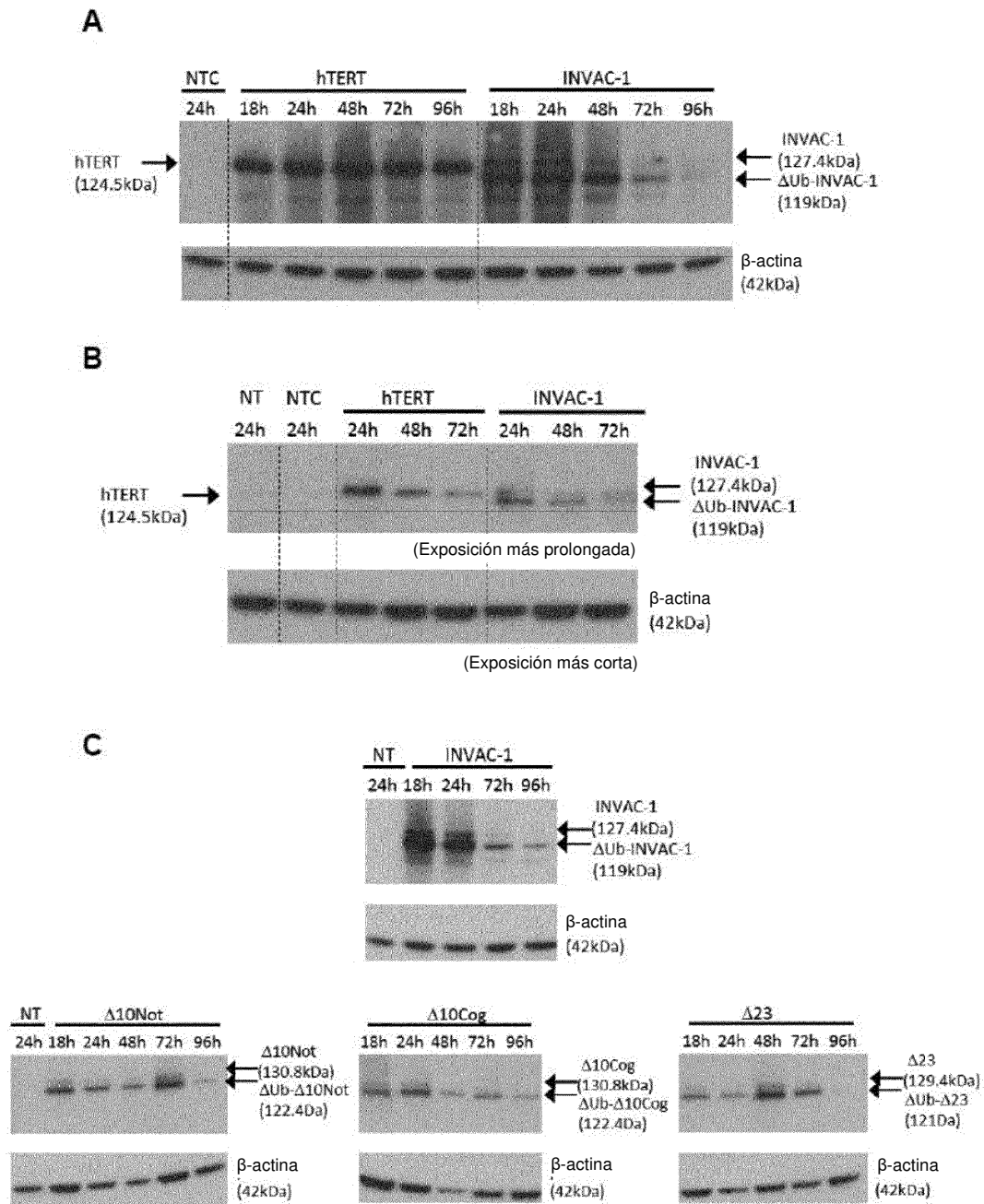


FIGURA 3

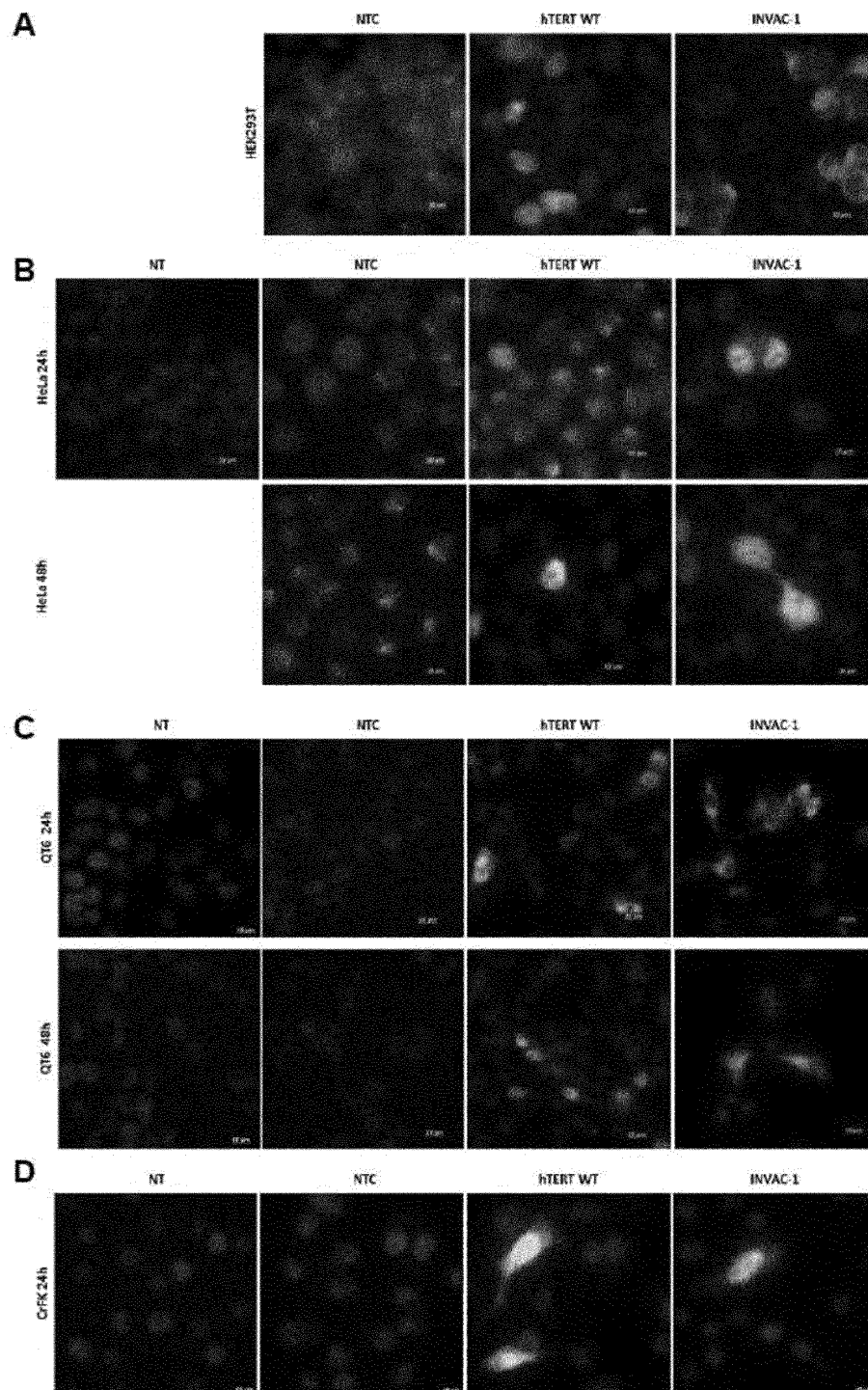


FIGURA 4

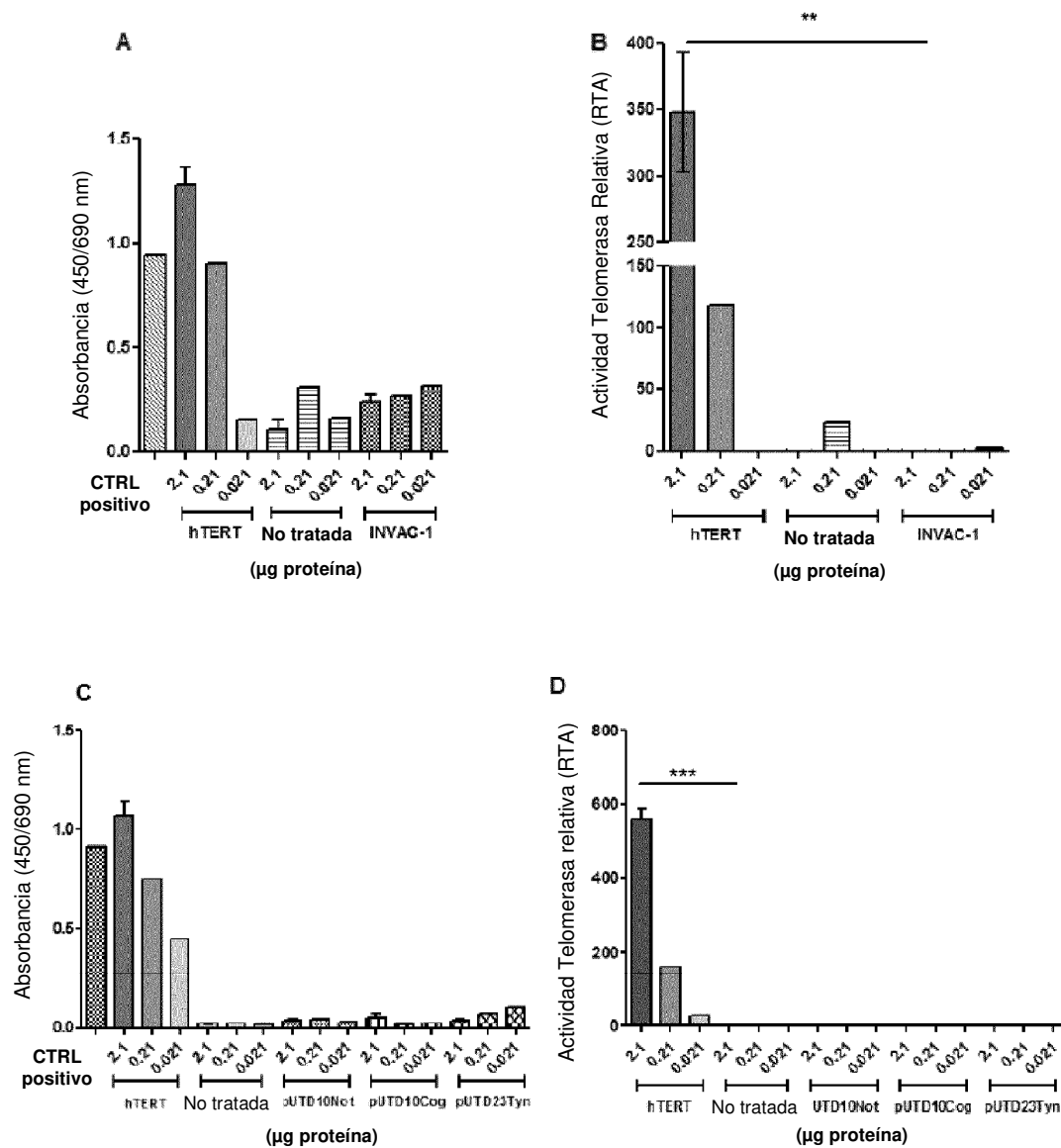


FIGURA 5

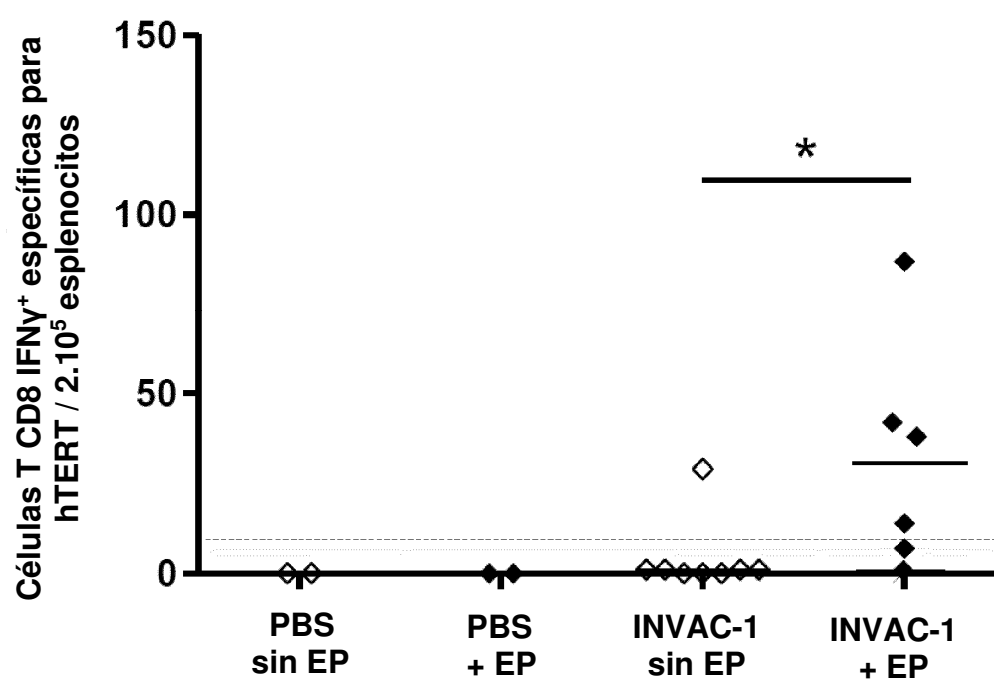
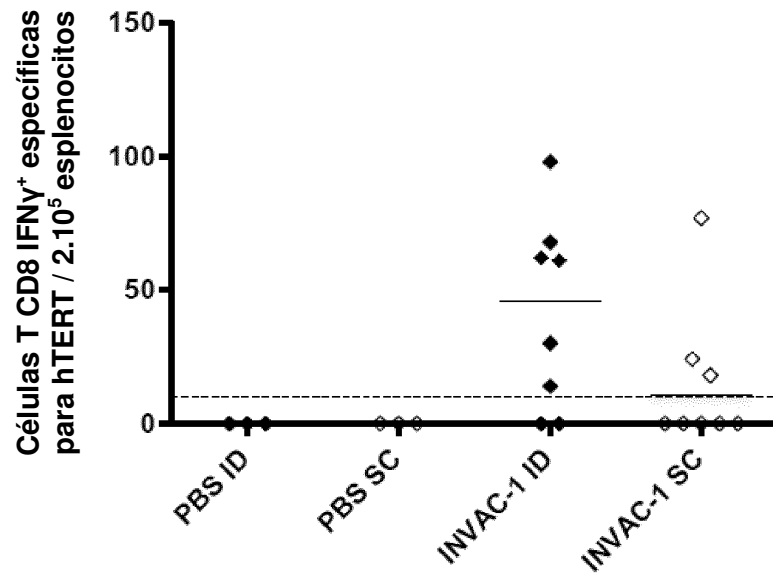
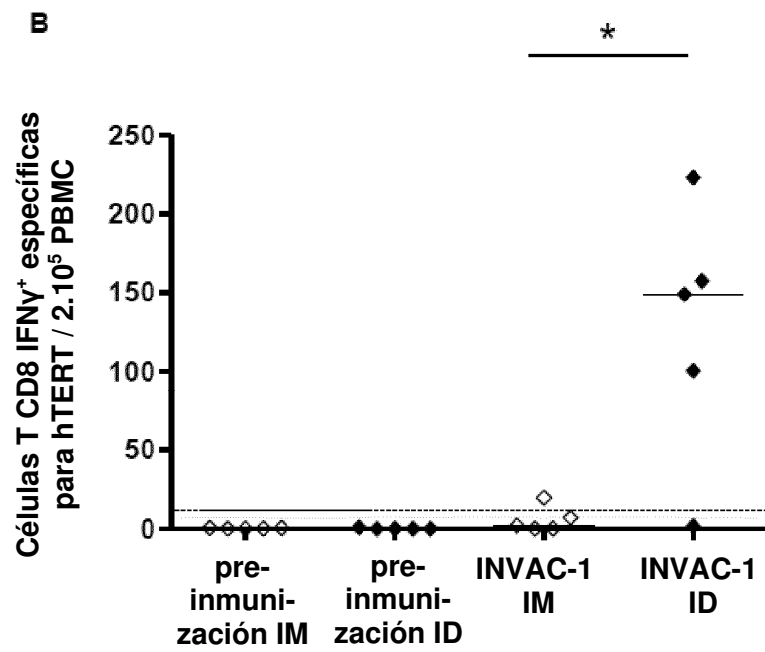


FIGURA 6

A



B

**FIGURA 7**

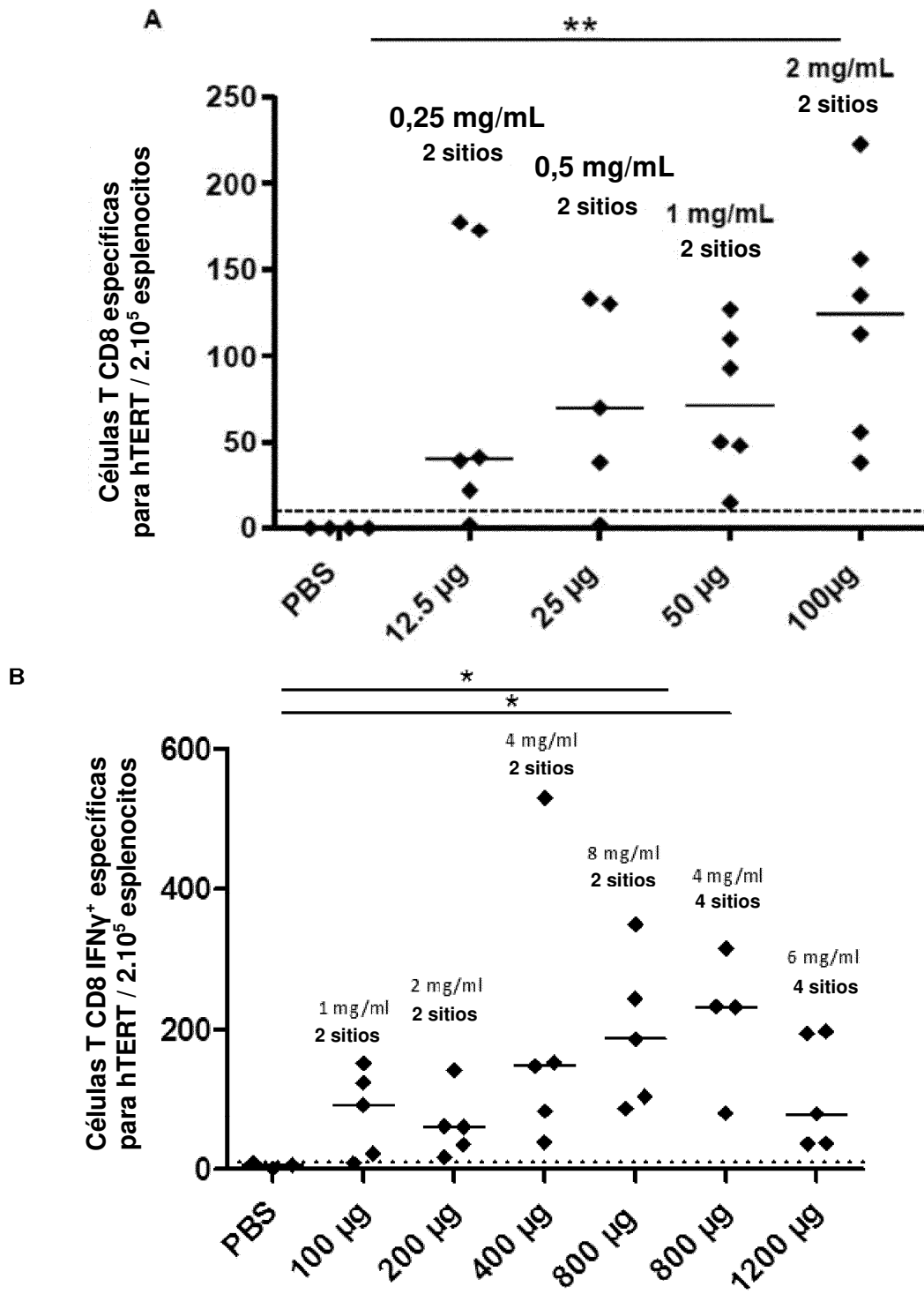


FIGURA 8

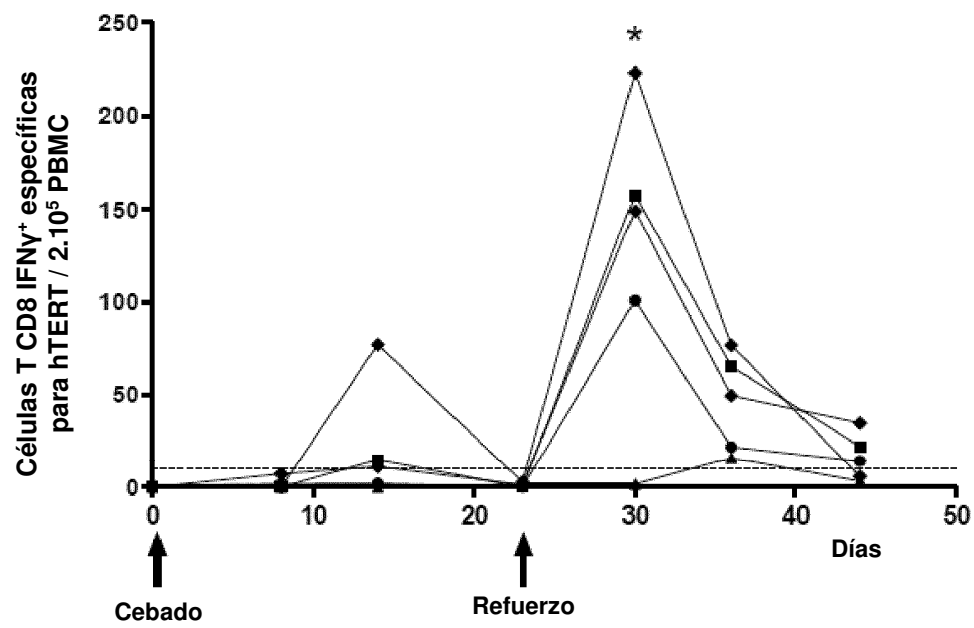


FIGURA 9

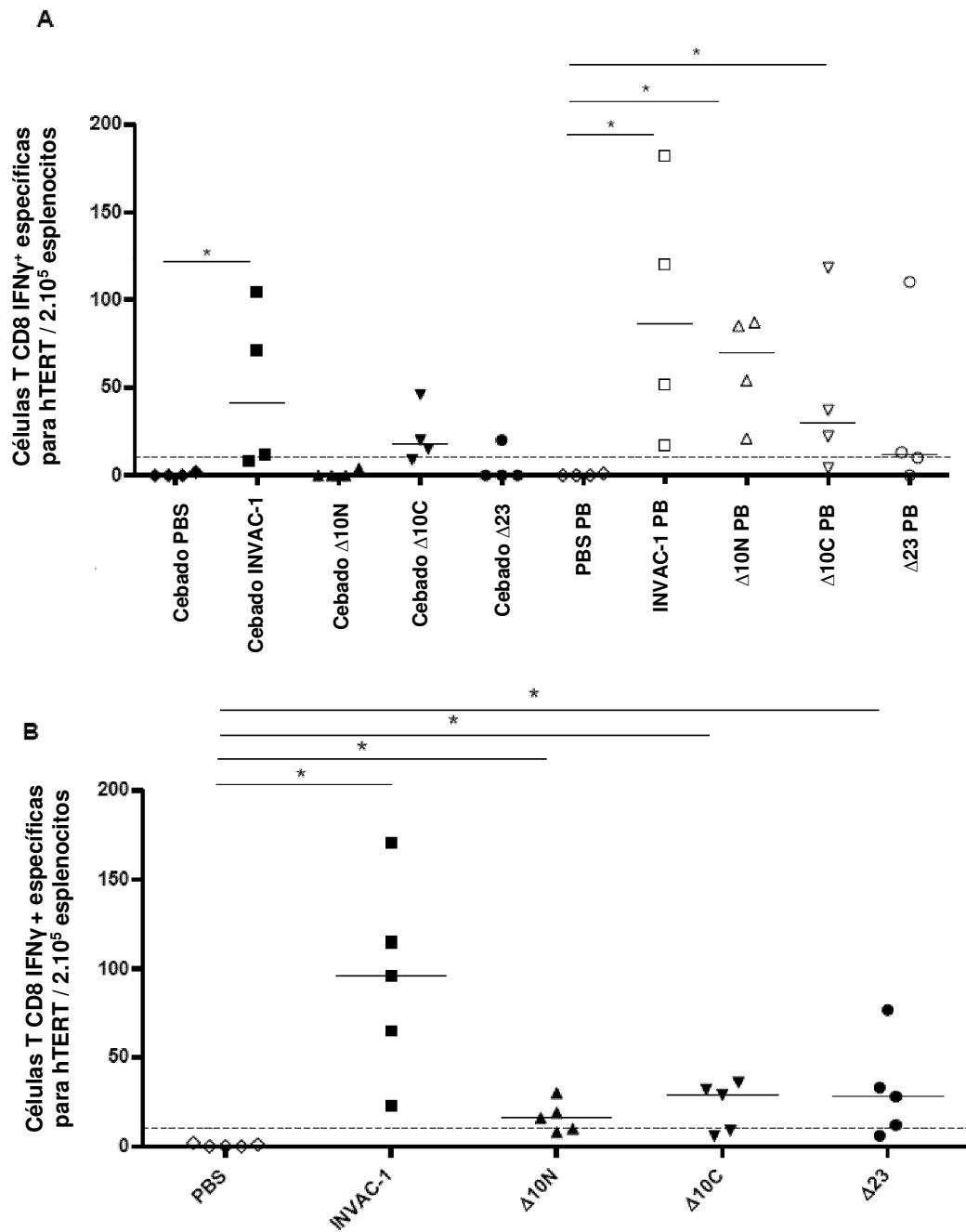


FIGURA 10

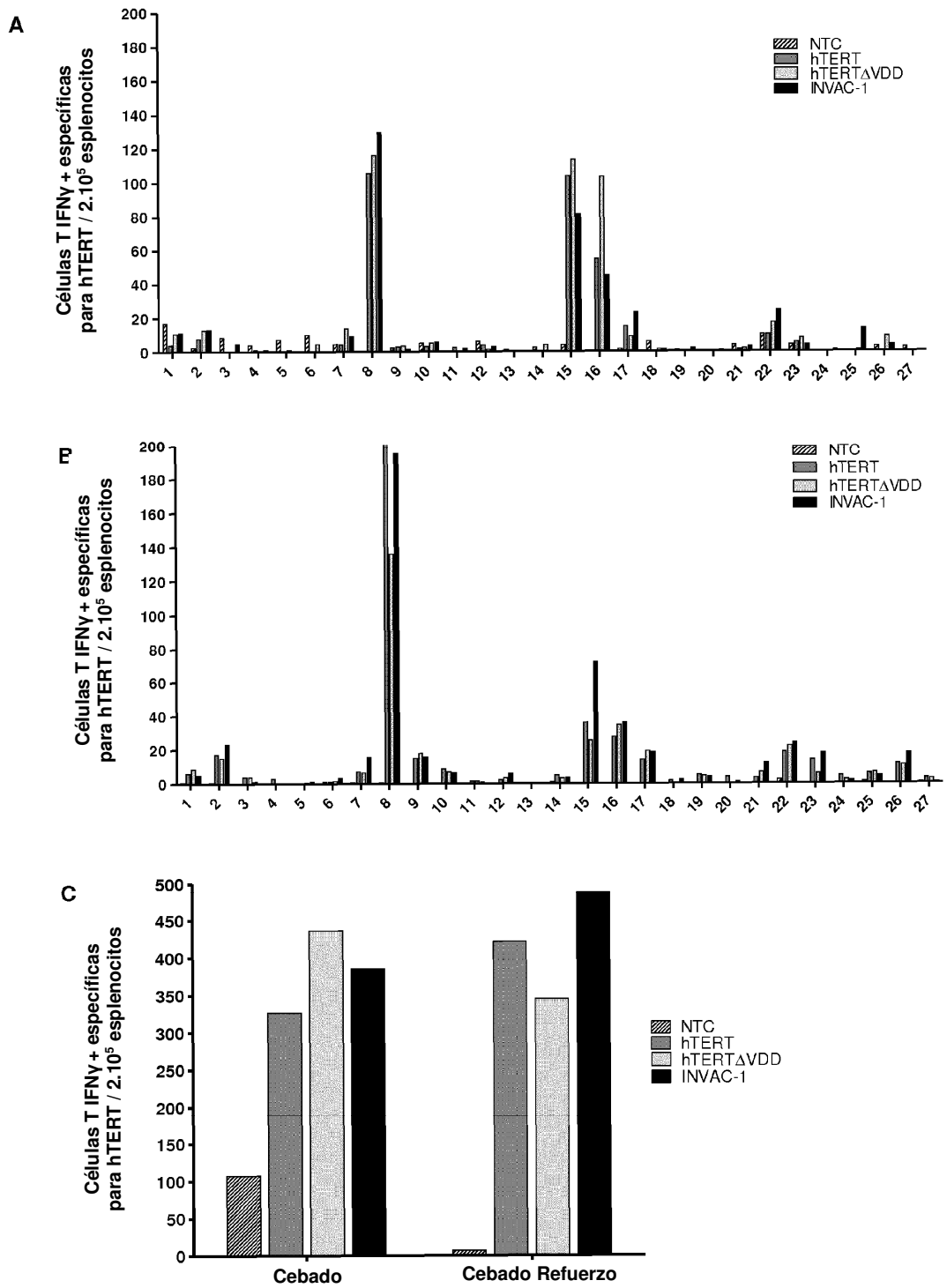


FIGURA 11

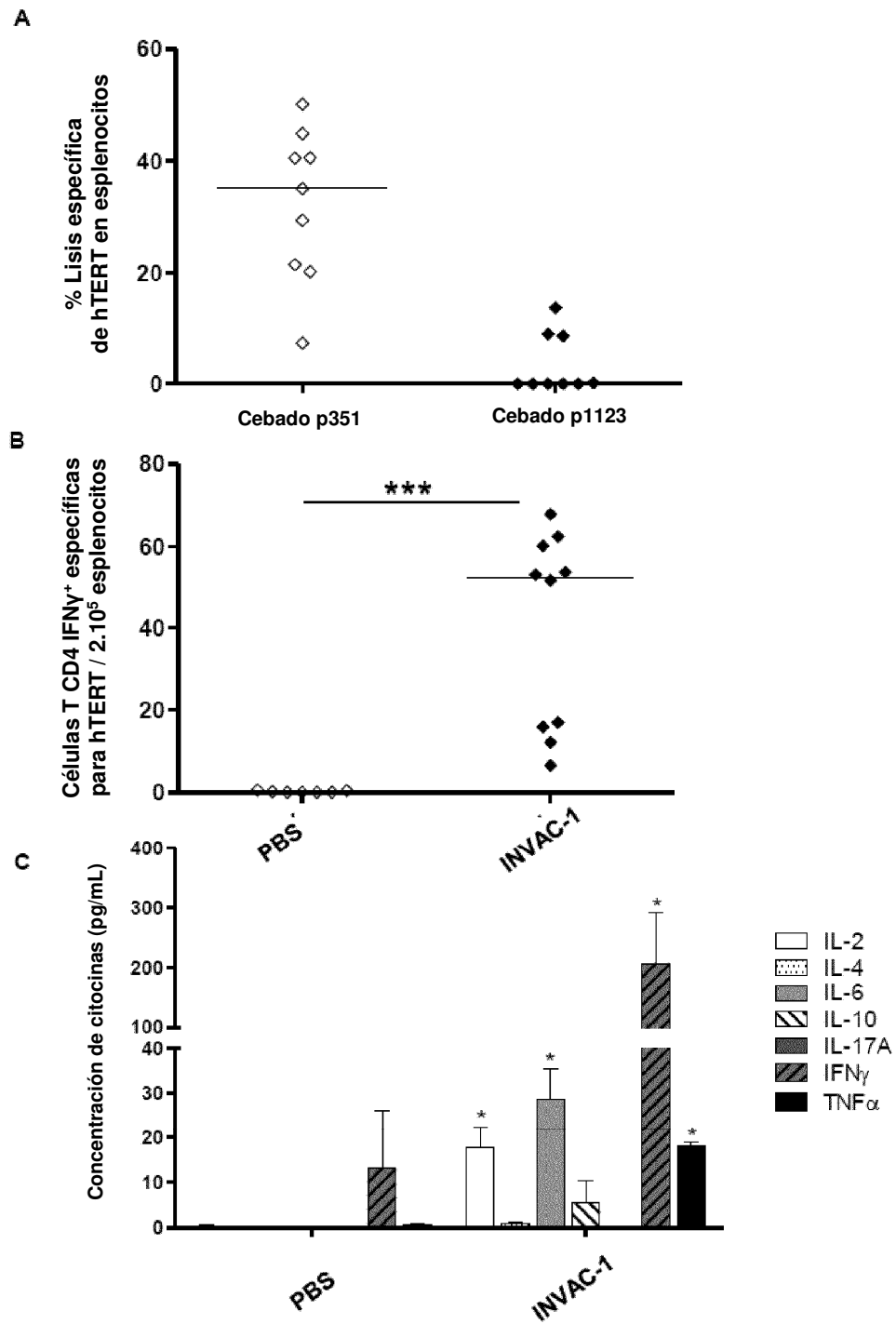
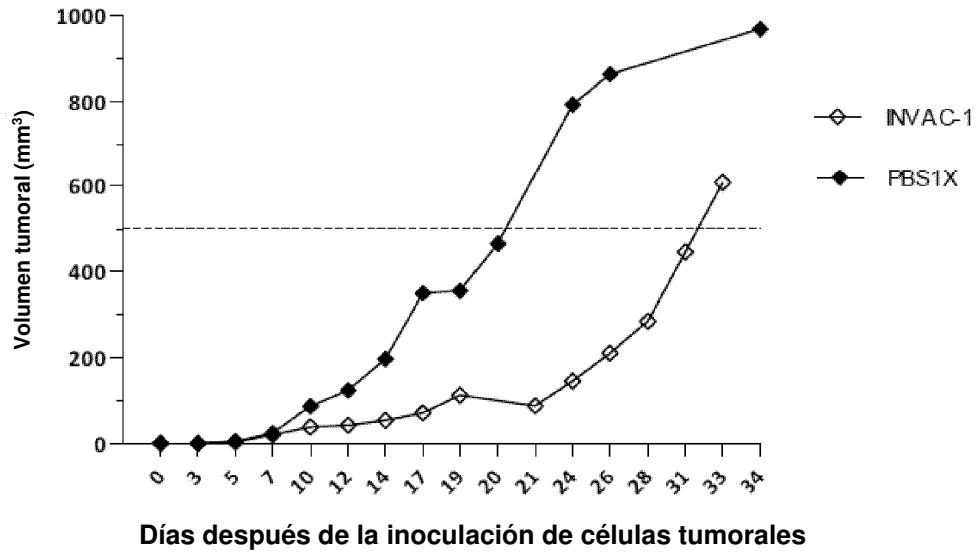


FIGURA 12

A



B

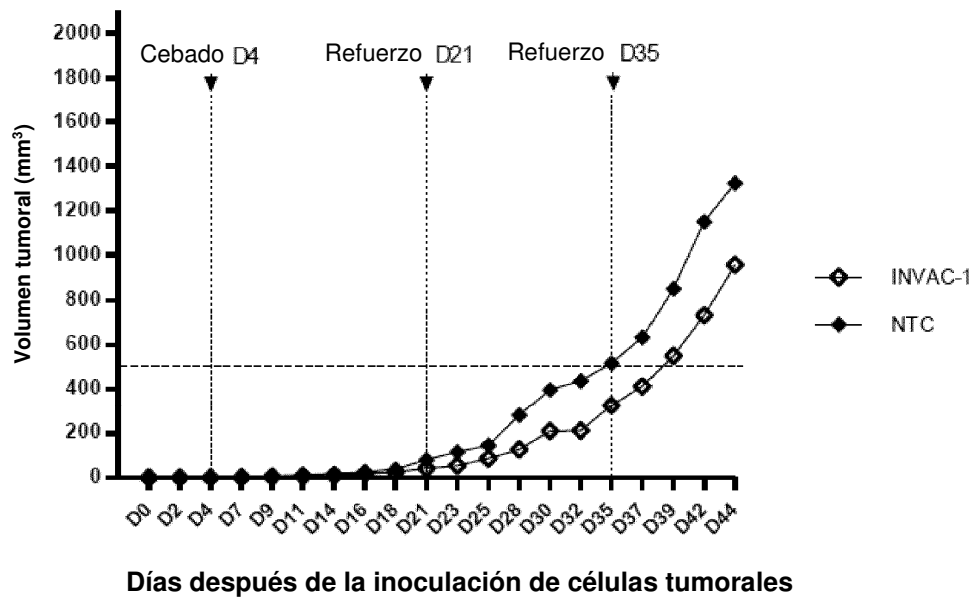


FIGURA 13

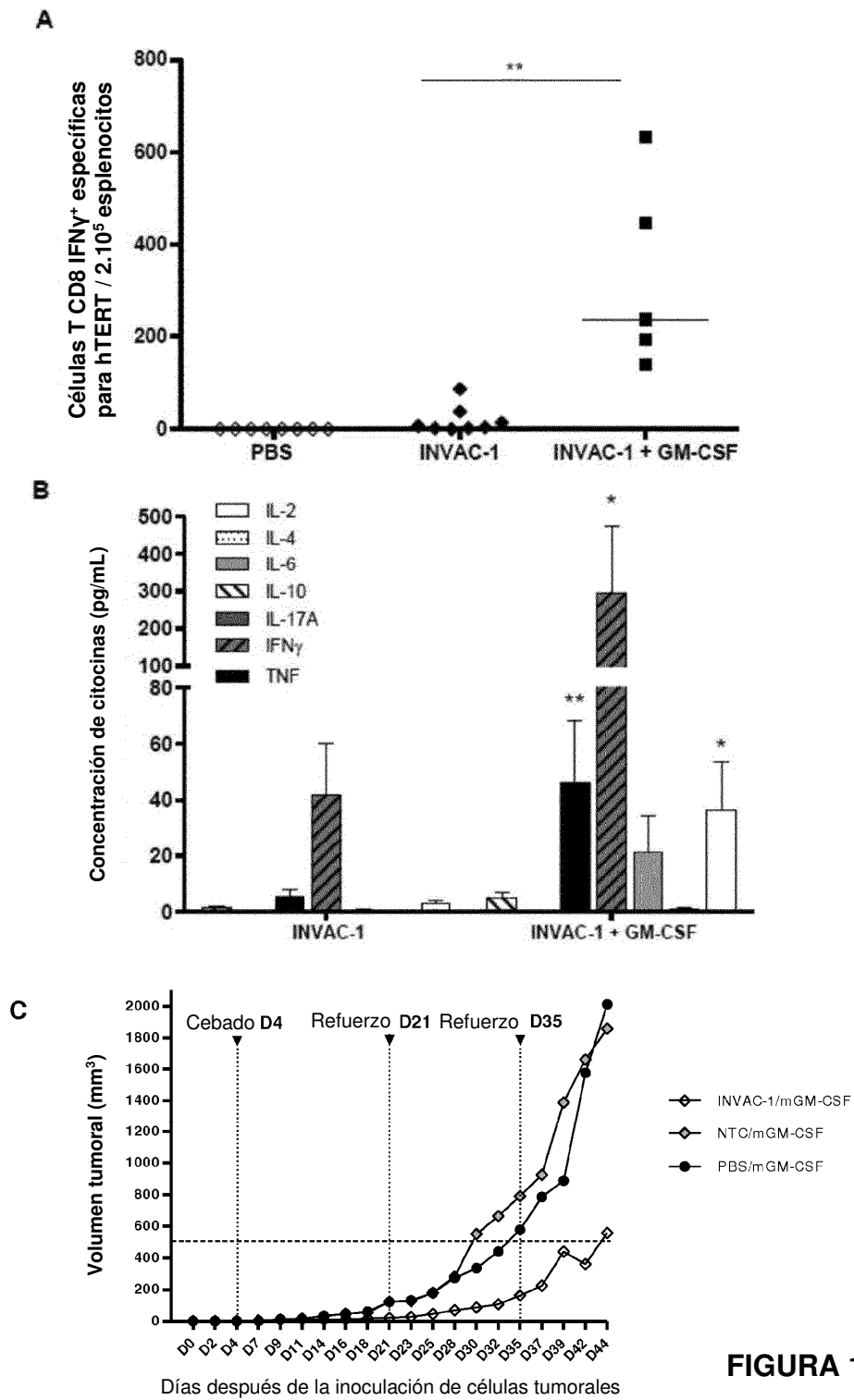


FIGURA 14

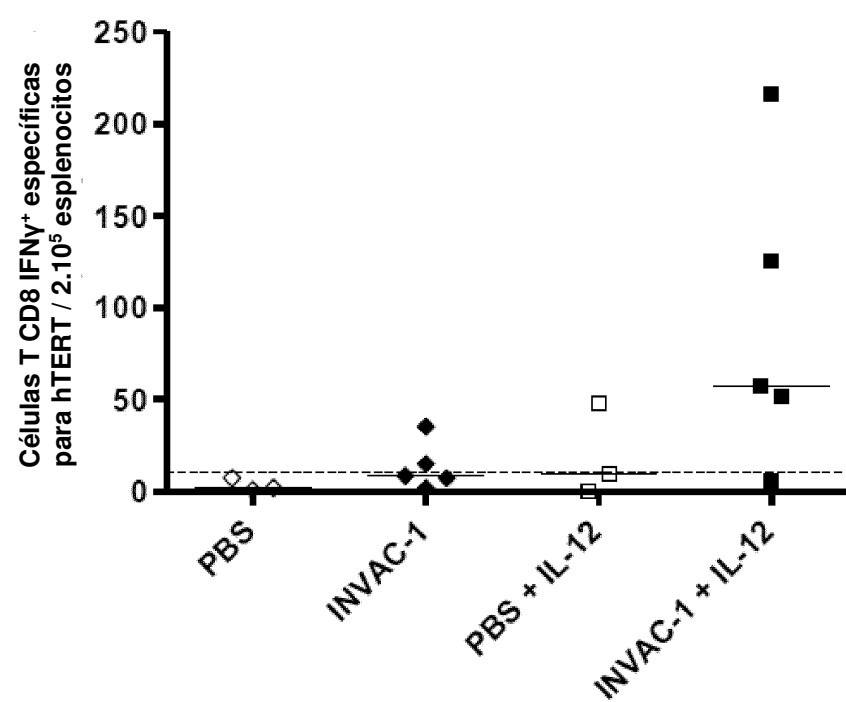


FIGURA 15

ES 2 771 862 T3

NotI < agonista eRNA11a RIGI
1 gctagcaccggttggtttccgtagtgttagtggttatcacgttcgctaacaacgcgaaaggt 60

< Región ARNdh
61 ccccggttcgaaccgggcactacaaaccaaacggttaaaaaacaggtcctcccatat 120

121 tctttcattgtacacaccgcaagctcgacaatcatcggttgaagcattgtcgacacat 180

Región ARNdh >
181 ctccacacaggtacgtacctgcttttcgcttttaaccaaggcttttctccaagggatat 240

241 ttatagttctcaaaacacacaattacttttacagttagggtagtcttctttgtgctgttt 300

301 ttttaataataatttagtatttgtatctcttatagaaatccaagcctatcatgtataat 360

361 gttagctagtattaaaaagaacagattatctgtcttttatcgacattaagcctctatagt 420

421 tactaggaatatattatgtcaaatcaacggggcaggggagtagcagagctttctccaca 480

agonista eRNA11a RIGI > < terminador
481 agtctgtgtagggggcgccgcccgttagagatggcgccgctcggtacggccagccgc 540

procariótico trpA > < VA RNAI Adenovirus 5
541 ctaatgagcgggctttttttcttaggggtgcaaaaggagagcctgttaagcgggcactctt 600

601 ccgtggtctggtggataaattcgcaaggtatcatggcggaacgacgggggttcgagcccc 660

661 gtatccggcgcgtccgctgatccatgcggttaccgcccgcgtgtcgaaccaggtgtgc 720

VA RNAI > < PAS-BH
721 gacgtcagacaacgggggagtgctctcttttggttccttcacctaccggtctgcctcgcg 780

Sitio de ensamblaje primosomal (PAS-BH) origen extendido
781 cgtttcgggtgatgacggtgaaaaacctctgacacatgcagctcccgagacgggtcacagct 840

841 tgtctgtgaagcggatgccgggagcagacaagcccgctcagggcgctcagcgggtgttggc 900

901 ggggtgtcggggcgacccatgacccagtcacgtagcgatagcggagtgatactggctta 960

961 actatgcggcacacagacagattgtactgagagtgaccatatgcggtgtgaaataccgc 1020

PAS-BH >< origen de replicación pUC
1021 acagatgcgtaaggagaaaaataccgcatcaggcgctcttcgcttctctgctcactgact 1080

1081 cgctgcgctcggtcggtcggtgctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaaggcgtaatac 1140

1141 ggttatccacagaatcaggggataacgcaggaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaa 1200

1201 agggcaggaaccgtaaaaaggccgcttctgctggtttttccataggtccgccccctg 1260

1261 acgagcatcacaaaaatcgacgtcaagtcagagtggtgcgaaacccgacaggactataaa 1320

1321 gataccaggcggtttccccctggaagctccctcgctgcgctctctgttccgacctgcgc 1380

1381 ttaccggataacctgtccgctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcac 1440

1441 gctgtaggtatctcagttcggttaggtcggttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaac 1500

1501 ccccggttcagccgacgctgcgccttatccggttaactatcgctcttgagttcaaccgg 1560

1561 taagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcaggt 1620

1621 atgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaagaa 1680

1681 cagtatttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagct 1740

1741 cttgatccggcaaaacaaacacgcgtggttagcgggtgtttttttgttgcaagcagcaga 1800

1801 ttacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggtctgacg 1860

FIGURA 16

ES 2 771 862 T3

```

1861 ctcagtggaacgaaaactcacgttaagggatTTTGGTcatgagattatcaaaaaggatct 1920
1921 tcacctagatcctTTTaaattaaaaatgaagTTTaaatcaatctaaagtatatatgagt 1980
1981 aaacttggctcgacaggttccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtc 2040
    origen de replicación pUC 1 >      DraIII < RNA-OUT
2041 tatttcggttcacatcatagttgcctgactcctgcaaaccacgttgggtagaattggtaaa 2100
2101 gagagtcgtgtaaaatatcgagttcgcacatcttgttgtctgattattgatttttggcga 2160
2161 aaccatttgatcatatgacaagatgtgtatctaccttaacttaatgattttgataaaaat 2220
    RNA-OUT >< bloqueo potenciador SV40
2221 cattaggttaccctgatacactgtggaatgtgtgtcagttagggtgtggaagtcctccagc 2280
    KpnI      BclI
2281 ctccccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaaccaggtgtgg 2340
2341 aaagtcctccaggtctccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagc 2400
    bloqueo promotor SV40 ><
2401 aaccatagtcctccgccctaactccgccatcccgccctaaactccgcccagttacggggt 2460
    bloqueo potenciador promotor CMV-IE humano:
2461 cattagttcatagcccatatatggagtcccggttacataaacttacggtaaatggccgc 2520
2521 ctggctgaccgcccaacgaccccgccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatag 2580
2581 taacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaatgcgcc 2640
2641 acttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaaagtaacgccccctattgacgtcaatgacg 2700
2701 gtaaatggcccgctggcatttatgccagttacatgaccttatgggactttcctacttggc 2760
    NcoI
2761 agtacatctacgtattagtcacgcctattacccatggtgatgcgggttttggcagttacatca 2820
2821 atgggcgtggatagcgggtttgactcacggggattttccaagtctccacccattgacgtca 2880
    ><      promotor CMV
2881 atgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccg 2940
2941 cccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacgggtggaggtctatataagcagagctc 3000
    ><      líder no traducido (exón 1)
3001 gtttagtgaaccgtcagatcgctggagacgccatccacgctgttttgacctccatagaa 3060
    <      región R HTLV-1 de LTR
3061 gacacggggaccgatccagcctccgcggctcgcacatctctccttcacgcgcgccgcgccct 3120
3121 acctgagggccgcatccacgcgggttgagtcgcgttctgcgcctcccgccctgtggtgcc 3180
    líder no traducido >
3181 tcctgaactgcgtccgcggtctaggtaagtttaaagctcaggtcgagacgggcctttgt 3240
3241 ccggcgctcccttggagcctacctagaactcagccggtctctccacgcttttgctgacctg 3300
    HTLV-1 R >      <      intrón basado en beta-globina de conejo 3'
3301 cttgctcaactctagtttctctcgtttaacttaatgagacagatagaaactggtctttaga 3360
3361 aacagagtagtcgcctgcttttctgccaggtgctgacttctctccctgggcttttttct 3420
    ><      Exón 2 (sitios de unión a proteína SR)      SalI>
3421 ttttctcaggttgaaaagaagaagacgaagaagacgaagaagacaaaaccgtcgtcgacaa 3480
    HindIII      BglII
3481 gcttaccatgcagatcttcgtgaagaccctgaccggcaagaccatcactctcgaggtgga 3540
    M Q I F V K T L T G K T I T L E V E

```

FIGURA 16 cont.

```

< Ubiquitina humana
3541 gccagtgacaccatcgaaatgtgaaggccaagatccaagataaagaaggcatcccacc 3600
    P S D T I E N V K A K I Q D K E G I P P
3601 cgaccagcagaggctcatcttttctggcaagcagctggaagatggccgcactctgtctga 3660
    D Q Q R L I F A G K Q L E D G R T L S D
                                SalI                                NotI
3661 ctacaacatccagaaagagtcgacccctgcacctggctcctgcgtotgagaggcggcgcgc 3720
    Y N I Q K E S T L H L V L R L R G G R A
                                Ubiquitina humana >< hTERT
3721 tctggtggcccagtgccctggtgtgcgtgccctgggacgcacggccacccctgcccacc 3780
    L V A O C L V C V P W D A R P P P A A P
    Secuencia codificante de transcriptasa inversa de telomeasa humana (hTERT)
3781 ctcatccgcccaagtgtcctgcctgaaggagctggtggcccgagtgctgcagaggctgtg 3840
    S F R Q V S C L K E L V A R V L Q R L C
3841 cgagcgcggcgcggaagaacgtgtcgtgccttcgcttcgcgctgctggacgggctcgcgg 3900
    E R G A K N V L A F G F A L L D G A R G
3901 aggccaccccgaggccttcaccaccagcgtgcgcagctacctgcccaacacggtgaccca 3960
    G P P E A F T T S V R S Y L P N T V T D
3961 cgcactgcgggggagcggggcgctggggcgctgtgttgccgcgctgggcgacgacgtgct 4020
    A L R G S G A W G L L L R R V G D D V L
4021 ggttcacctgctggcacgctgcgcgctctttgtgctgggtgctcccagctgcgcctacca 4080
    V H L L A R C A L F V L V A P S C A Y Q
4081 ggtgtgcggggcgccgctgtaccagctcggcgctgccactcaggcacggcctccacctca 4140
    V C G P P L Y Q L G A A T Q A R P P P H
4141 cgtagtggaccccgaggcgtctgggatgcgaacgggcctggaaccatagcgtcagggga 4200
    A S G P R R R L G C E R A W N H S V R E
4201 ggccgggggtcccctgggcctgccagccccgggtgcgaggagcgcgggggcagtgccag 4260
    A G V P L G L P A P G A R R R G G S A S
4261 ccgaagtctgcggttgcccaagaggcccaggcgtggcgctgccccctgagccggagcggac 4320
    R S L P L P K R P R R G A A P E P E R T
4321 gcccggttggcaggggtcctgggcccacccgggcaggacgcgtggaccgagtgacctgg 4380
    P V G Q G S W A H P G R T R G P S D R G
4381 tttctgtgtgtgtcacctgccagaccccgccgaagaagccacctctttggagggtgcgct 4440
    F C V V S P A R P A E E A T S L E G A L
4441 ctctggcacgcgcactcccacccatccgtgggcgcgcagcaccacgcgggccccccatc 4500
    S G T R H S H P S V G R Q H H A G P P S
4501 cacatgcgcggccaccacgtccctgggacacgccttgcctcccggtgtacgccgagaccaa 4560
    T S R P P R P W D T P C P P V Y A E T K
4561 gcacttcctctactcctcaggcgacaaggagcagctgcggccatccttctcgtcgtgctc 4620
    H F L Y S S G D K E Q L R P S F L L S S
4621 tctgaggcccagcctgactggcgctcggaggctcgtggagaccatctttctgggttcag 4680
    L R P S L T G A R R L V E T I F L G S R
4681 gccttgatgccagggactcccgcaggttgccccgcctgccccagcgtactggcgaat 4740
    P W M P G T P R R L P R L P Q R Y W Q M
4741 gcggccccctgtttctggagctgcttgggaaccacgcgcagtgccccctacggggtgctcct 4800
    R P L F L E L L G N H A Q C P Y G V L L

```

FIGURA 16 cont.

4801 caagacgcactgcccgtgctgagctgcggtcaccccagcagccggtgtctgtgcccggga 4860
K T H C P L R A A V T P A A G V C A R E

4861 gaagccccagggtctgtgctgcccggaggaggagacacagccccgctgctgtgt 4920
K P Q G S V A A P E E E D T D P R R L V

4921 gcagctgctccgccagcacagcagccctggcaggtgtacggcttcgtgcccgtgct 4980
Q L L R Q H S S P W Q V Y G F V R A C L

4981 gcgcccgtggtgccccaggcctctggggtccaggcacaacgaacgcccgttcctcag 5040
R R L V P P G L W G S R H N E R R F L R

5041 gaacaccaagaagtccatctccctgggaagcatgccaagctctcgtgcaggagctgac 5100
N T K K F I S L G K H A K L S L Q E L T

5101 gtggaagatgagcgtgcggggtgcgcttggtgcgcaggagcccagggttggtgtgt 5160
W K M S V R G C A W L R R S P G V G C V

5161 tccggccgcagagcacctctgctgaggagatccctggccaagttcctgcactggctgat 5220
P A A E H R L R E E I L A K F L H W L M

5221 gactgtgtacgtcgtgcagctgctcaggtcattcttttacgtgacggagaccacgtttca 5280
S V Y V V E L L R S F F Y V T E T T F Q

5281 aaagaacaggtgtttttctaccggaagagtgtctggagcaagttgcaagcattggaat 5340
K N R L F F Y R K S V W S K L Q S I G I

5341 cagacagcacttgaagaggtgcagctgcgggagctgtcggaagcagaggtcaggcagca 5400
R Q H L K R V Q L R E L S E A E V R Q H

5401 tccggaagccaggcccgcctctgctgacgtccagactccgcttcaccccaagcctgacgg 5460
R E A R P A L L T S R L R F I P K P D G

5461 gctgcggccgattgtgaacatggactacgtcgtgggagccagaacgttccgcagagaaaa 5520
L R P I V N M D Y V V G A R T F R R E K

5521 gagggccgagcgtctcacctcacgggtgaaggcactgttcagcgtgctcaactacgagcg 5580
R A E R L T S R V K A L F S V L N Y E R

5581 ggctcggcgccctggcctctggtggcgccctctgtgctgggcctggacgatccacagggc 5640
A R R P G L L G A S V L G L D D I H R A

5641 ctggcgccacttcgtgctgctgctgctgggcccaggacccgcgcctgagctgtactttgt 5700
W R T F V L R V R A Q D P P P E L Y F V

5701 caaggtggatgtgacggcgctgacacccatccccaggacaggtcacggaggtcat 5760
K V D V T G A Y D T I P Q D R L T E V I

5761 cgcagcatcatcaaacccagaaacagctactgcgtgcgtcggtatgccgtggtccagaa 5820
A S I I K P Q N T Y C V R R Y A V V Q K

NcoI

5821 ggccgcccacatgggcacgtccgcaaggccttcaagagccacgtctctaccttgacagacct 5880
A A H G H V R K A F K S H V S T L T D L

5881 ccagccgtacatgcacagttcgtggtcacctgcaggagaccagcccgtgagggtatgc 5940
Q P Y M R Q F V A H L Q E T S P L R D A

5941 cgtcgtcatcgagcagagctcctccctgaatgaggccagcagtgccctcttcgacgtctt 6000
V V I E Q S S S L N E A S S G L F D V F

DraIII

6001 cctacgcttcatgtgccacacagccgtgcgcatcaggggcaagtcctacgtccagtgcca 6060
L R F M C H H A V R I R G K S Y V Q C Q

6061 gggtatcccgagggtccatcctctccacgtgctctgcagcctgtgctacggcgacat 6120
G I P Q G S I L S T L L C S L C Y G D M

FIGURA 16 cont.

ES 2 771 862 T3

```

6121 ggagaacaagctgtttgcggggattcgcgggacgggctgctcctgcggtttgttcttgtt 6180
      E N K L F A G I R R D G L L L R L F L L
                                     *
6181 ggtgacacctcacctcaccacgcgaaaaccttcctcaggaccctggtccgaggtgtccc 6240
      V T P H L T H A K T F L R T L V R G V P

6241 tgagtatggctgctggtgaacttgcggaagacagtgggtgaacttcctgtagaagacga 6300
      E Y G C V V N L R K T V V N F P V E D E

6301 ggccctgggtggcacggcttttgttcagatgccggcccacggcctattccctggtgcgg 6360
      A L G G T A F V Q M P A H G L F P W C G

6361 cctgctgctggatacccgaccctggaggtgcagagcgactactccagctatgcccgac 6420
      L L L D T R T L E V Q S D Y S S Y A R T

6421 ctccatcagagccagttctcaccttcaaccggcggttcaaggctgggaggaacatgcgtcg 6480
      S I R A S L T F N R G F K A G R N M R R

6481 caaactctttgggtcttgcggctgaagtgtcacagcctgtttctggatttgcaggtgaa 6540
      K L F G V L R L K C H S L F L D L Q V N

6541 cagcctccagacgggtgtgcaccaacatctacaagatcctcctgctgcaggcgtagcaggtt 6600
      S L Q T V C T N I Y K I L L L Q A Y R F

6601 tcacgcatgtgtgctgcagctcccatctcatcagcaagtttgaagaacccacattttt 6660
      H A C V L Q L P F H Q Q V W K N P T F F

6661 cctgcgctcatctctgacacggcctccctctgctactccatcctgaaagccaagaacgc 6720
      L R V I S D T A S L C Y S I L K A K N A

6721 agggatgtcgtggtggggccaaggcgccgcccctctgcctccgaggccgtgcagtg 6780
      G M S L G A K G A A G P L P S E A V Q W

6781 gctgtgccaccaagcattcctgctcaagctgactcgacaccgtgtcacctacgtgccact 6840
      L C H Q A F L L K L T R H R V T Y V P L

6841 cctggggtcactcaggacagcccagacgcagctgagtcggaagctcccggggacgacgct 6900
      L G S L R T A Q T Q L S R K L P G T T L

6901 gactgccttgaggccgcagccaacccggcactgccctcagacttcaagaccatcctgga 6960
      T A L E A A A N P A L P S D F K T I L D
                                     extremo orf TERT humana

> >XbaI BglIII < Terminador eucariótico
6961 ctaataatctagaagatcttttccctctgcacaaaattatggggacatcatgaagcccc 7020
      □ □

        Secuencia señal poliA
7021 ttgagcatctgacttctggtaataaggaaattttttcattgcaatagtgtgttggga 7080

        Terminador eucariótico > NotI
7081 attttttgtgtctctcactcggaaggacataagggcggcc 7120

```

FIGURA 16 cont.

ES 2 771 862 T3

```

< Ubiquitina humana
-----|-----|-----|-----|-----|
1 atgcagattttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggtgatttttgcggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|-----|
151 gaggacggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67
Ubiquitina humana ><hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
201 gcattctggctccttcgcctgcgcggcggactggccaccttcgtgcgcgc 250
68 H L V L R L R G G L A T F V R R L 84

-----|-----|-----|-----|-----|
251 tgggacccagggctggcggctgtgcagcgcgggacccctgctgcttcc 300
85 G P Q G W R L V Q R G D P A A F 100

-----|-----|-----|-----|-----|
301 agagctctcgtcgcacagtgctcgttcgttccttgggacgcacggcc 350
101 R A L V A Q C L V C V P W D A R P 117

-----|-----|-----|-----|-----|
351 ccacccgcgcgcgcagtttccggcaggtgagttgtctcaaagagttgg 400
118 P P A A P S F R Q V S C L K E L V 134

-----|-----|-----|-----|-----|
401 ttgctcgggtgttgacgcggtttgtgaaagggagcaaagaacgtcctt 450
135 A R V L Q R L C E R G A K N V L 150

-----|-----|-----|-----|-----|
451 gcctttggcttcgctttgtcgtatggagcacgcggaggccctcctgaggc 500
151 A F G F A L L D G A R G G P P E A 167

-----|-----|-----|-----|-----|
501 attcactactagcgtcgggtcctacctgcccacacagtgaccgacgctc 550
168 F T T S V R S Y L P N T V T D A L 184

-----|-----|-----|-----|-----|
551 tgagaggttcagggtgcctggggtctgctgctgcggagggtgggtgatgat 600
185 R G S G A W G L L L R R V G D D 200

-----|-----|-----|-----|-----|
601 gttctggttcacctcctggcccggtgtgccctgttcgtgctggtgctcc 650
201 V L V H L L A R C A L F V L V A P 217

-----|-----|-----|-----|-----|
651 ctctcgcgcataccaggtctgcggacccccactttatcagctcggcgtg 700
218 S C A Y Q V C G P P L Y Q L G A A 234

-----|-----|-----|-----|-----|
701 ctactcaggcccgccaccacacacgcctcaggtccaagacgcggctg 750
235 T Q A R P P P H A S G P R R R L 250

-----|-----|-----|-----|-----|
751 ggctgcgaacgggcatggaatcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctct 800
251 G C E R A W N H S V R E A G V P L 267

```

FIGURA 17

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cggcctgccagccccggagcaaggagacgggtggatccgccagtgcgt 850
268 G L P A P G A R R R G G S A S R S 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 cactcccccttgccctaagaggccaagaaggaggccgccctgaaccgag 900
285 L P L P K R P R R G A A P E P E 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcgccagggtcctgggtcaccccggaaggaccagggg 950
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 cccaagcgataggggcttctgtgtgtgtcaccagccaggcctgccgaag 1000
318 P S D R G F C V V S P A R P A E E 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 aggtacctccttgggaaggagccctcagtggcaccaggcattctcatcca 1050
335 A T S L E G A L S G T R H S H P 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 tctgtgggtaggcagcatcatgccggccccccctctacaagcagacctcc 1100
351 S V G R Q H H A G P P S T S R P P 367

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 cagaccttgggacacaccctgccaccagtgtatgccgagaccaagcact 1150
368 R P W D T P C P P V Y A E T K H F 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttttgtattccagtggcgataaagagcagctccggccctcttttctgctc 1200
385 L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgccctctctgacccgagctcgcaggtggtggagaccat 1250
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 ctttctgggctcaagaccatggatgccaggcacccccgcagactgcca 1300
418 F L G S R P W M P G T P R R L P R 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggctccccagcgggtactggcagatgcgccctctctttctggaacttctg 1350
435 L P Q R Y W Q M R P L F L E L L 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 ggtaaccacgcccagtgcccatatggcgtcctgctgaagaccactgtcc 1400
451 G N H A Q C P Y G V L L K T H C P 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tctgagggccgctgacccagccggtgtgtgtgctagagaaaaac 1450
468 L R A A V T P A A G V C A R E K P 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 cccagggctcagtggctgcacctgaagaggaggacactgacctcgccgc 1500
485 Q G S V A A P E E E D T D P R R 500

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cttgtccagtgtctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggctt 1550
501 L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 cgtgagggcttgctgcggagactggtccccccggattgtgggatctc 1600
518 V R A C L R R L V P P G L W G S R 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 ggcacaacgaacggcgctttctgaggaatacaagaagtatatctccctg 1650
535 H N E R R F L R N T K K F I S L 550

```

FIGURA 17 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1651 ggcaagcatgcaaagctcagcttgccaggagctgacatggaagatgagcgt 1700
551 G K H A K L S L Q E L T W K M S V 567

-----|-----|-----|-----|-----|
1701 tagaggatgcgcctggctcaggcggtcacctggagttggatgcggtccag 1750
568 R G C A W L R R S P G V G C V P A 584

-----|-----|-----|-----|-----|
1751 cagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgcaaagttcctgcactgg 1800
585 A E H R L R E E I L A K F L H W 600

-----|-----|-----|-----|-----|
1801 cttatgagcgtctacgtggtcggaactgctgcggtctttcttctacgtgac 1850
601 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 617

-----|-----|-----|-----|-----|
1851 agagaccacttttcagaagaacagactgttcttctacaggaagtcggtct 1900
618 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 634

-----|-----|-----|-----|-----|
1901 ggagcaagctccagagtattggtattagacagcaccttaagagagttcag 1950
635 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 650

-----|-----|-----|-----|-----|
1951 cttagagagctgtccgaagctgaagtcgccagcacccgcaagctcgccc 2000
651 L R E L S E A E V R Q H R E A R P 667

-----|-----|-----|-----|-----|
2001 cgccctcctgacctctcggtgcggtttattcccaaacccgatggcctta 2050
668 A L L T S R L R F I P K P D G L R 684

-----|-----|-----|-----|-----|
2051 gacctatcgatgaatagattacgtcgtgggtgcccgccactttcagaagg 2100
685 P I V N M D Y V V G A R T F R R 700

-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgcgcgagagagactgacatctcggtgaaggcactttttctgt 2150
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V 717

-----|-----|-----|-----|-----|
2151 gcttaattatgaaagagcccgacacctggtcttctcgagccagcgtgc 2200
718 L N Y E R A R R P G L L G A S V L 734

-----|-----|-----|-----|-----|
2201 tcggcctggatgatatccatcggtggtggcgccactttgtgcttcgggtg 2250
735 G L D D I H R A W R T F V L R V 750

-----|-----|-----|-----|-----|
2251 agggcacaggatcctcctcctgagctttattttgtgaaagttgatgttac 2300
751 R A Q D P P P E L Y F V K V D V T 767

-----|-----|-----|-----|-----|
2301 tgggtgcttacgatacaatccctcaggacggctcaccgaggtgatcgct 2350
768 G A Y D T I P Q D R L T E V I A S 784

-----|-----|-----|-----|-----|
2351 ctattatcaaaccacagaacacctaactgcgtgagaaggtacgcgcgtgt 2400
785 I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

-----|-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacggacacgtgcgcaaagctttcaaataccacgtgtc 2450
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S 817

-----|-----|-----|-----|-----|
2451 taccttgacagacctccagccttatatgcggcagtttgcgcacacctgc 2500
818 T L T D L Q P Y M R Q F V A H L Q 834

```

FIGURA 17 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 aggagactagccccttgagggacgctgtggtcatcgaacagtccagctct 2550
835 E T S P L R D A V V I E Q S S S 850

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 ctcaatgaggcatcctcaggcctgtttgatgtgttctcgcgctttatgtg 2600
851 L N E A S S G L F D V F L R F M C 867

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 ccaccacgccgtgcggattaggggcaagtcttacgtgcagtgccaggga 2650
868 H H A V R I R G K S Y V Q C Q G I 884

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 tcccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggc 2700
885 P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccggtatcagaagattcctgctggttac 2750
901 D M E N K L F A G I R R F L L V T 917
                        *

-----|-----|-----|-----|-----|
2751 cccccatctgactcatgccaaaacatttttgcggactctggttagggcg 2800
918 P H L T H A K T F L R T L V R G V 934

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 tgccagagtatggctgtgtgtgaatttgcggaaaactgtggttaatttc 2850
935 P E Y G C V V N L R K T V V N F 950

-----|-----|-----|-----|-----|
2851 ccagtggaggacgaagctctcggaggcacagcttttgttcagatgcctgc 2900
951 P V E D E A L G G T A F V Q M P A 967

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 ccacggcctgttcccatggtgcggactgctgctcgatacccgaccctcg 2950
968 H G L F P W C G L L L D T R T L E 984

-----|-----|-----|-----|-----|
2951 aggtgcagtcgattatagttcctatgcaagaacatcaattcgggctagc 3000
985 V Q S D Y S S Y A R T S I R A S 1000

-----|-----|-----|-----|-----|
3001 ctgactttcaacaggggcttcaaggccggccggaatatgagaaggaaact 3050
1001 L T F N R G F K A G R N M R R K L 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 gttcggagtgttgagacttaagtgtcatagtcttttttggacttgcagg 3100
1018 F G V L R L K C H S L F L D L Q V 1034

-----|-----|-----|-----|-----|
3101 tcaattctctccagacagtgtgtaccaacattataaaatcctcttgctg 3150
1035 N S L Q T V C T N I Y K I L L L 1050

-----|-----|-----|-----|-----|
3151 caggcttacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagca 3200
1051 Q A Y R F H A C V L Q L P F H Q Q 1067

-----|-----|-----|-----|-----|
3201 ggtgtggaaaaaccctaccttcttctcgcgggtgattagcgacaccgcca 3250
1068 V W K N P T F F L R V I S D T A S 1084

-----|-----|-----|-----|-----|
3251 gtctttgctactccatcttgaaagcaaaaaacgctggcatgagcttggga 3300
1085 L C Y S I L K A K N A G M S L G 1100

-----|-----|-----|-----|-----|
3301 gctaagggcgccgctggacctctgccagtgaaagcagtcagtggtgtg 3350
1101 A K G A A G P L P S E A V Q W L C 1117

```

FIGURA 17 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3351 tcatcaggctttcctccttaaactgacacgccaccgcgtgacttacgtcc 3400
1118 H Q A F L L K L T R H R V T Y V P 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 cactcctgggctccctgagaactgctcagaccagctttcccgaagctt 3450
1135 L L G S L R T A Q T Q L S R K L 1150

-----|-----|-----|-----|-----|
3451 ccaggcactacccttaccgcactcgaagcagccccaaccctgccctgcc 3500
1151 P G T T L T A L E A A A N P A L P 1167
      hTERT>< Etiqueta V5
-----|-----|-----|-----|-----|
3501 ctccgactttaagactatcctggacggcaagccaattcctaattccattgc 3550
1168 S D F K T I L D G K P I P N P L L 1184
      >PARADA
-----|-----|
3551 tgggcctggactcaacttga 3570
1185 G L D S T □ 1189

```

FIGURA 17 cont.

ES 2 771 862 T3

Ubiquitina humana

```

<
-----|-----|-----|-----|
1 atgcagattttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggctgatttttgccgaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|
151 gaggacggacgcacactcagtgcactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67
Ubiquitina humana >< hTERT

-----|-----|-----|-----|
201 gcattctggtccttcgcctgcgcggcggactggccaccttcgtgcgcgcc 250
68 H L V L R L R G G L A T F V R R L 84

-----|-----|-----|-----|
251 tgggaccccagggctggcggctggtgcagcgcggggacacctgctgcttcc 300
85 G P Q G W R L V Q R G D P A A F 100

-----|-----|-----|-----|
301 agagctctcgtcgccagtgctgtgtctgcgttccttgggacgcacggcc 350
101 R A L V A Q C L V C V P W D A R P 117

-----|-----|-----|-----|
351 cccaccccgcccccagtttccggcaggtgagttgtctcaaagagttgg 400
118 P P A A P S F R Q V S C L K E L V 134

-----|-----|-----|-----|
401 ttgctcgggtgttgacagcggctttgtgaaaggggagcaaagaacgtcctt 450
135 A R V L Q R L C E R G A K N V L 150

-----|-----|-----|-----|
451 gccttttgcttcgctttgctcgatggagcacgcggaggccctcctgaggg 500
151 A F G F A L L D G A R G G P P E A 167

-----|-----|-----|-----|
501 attcactactagcgtccggtcctacctgcccacacagtgaccgacgctc 550
168 F T T S V R S Y L P N T V T D A L 184

-----|-----|-----|-----|
551 tgagagggttcaggtgcctggggtctgctgctgcggagggtgggtgatgat 600
185 R G S G A W G L L L R R V G D D 200

-----|-----|-----|-----|
601 gttctggttcacotcctggcccggtgtgccctgttcgtgctggtggtcc 650
201 V L V H L L A R C A L F V L V A P 217

-----|-----|-----|-----|
651 ctcttgccataccaggtctgcggacccccactttatcagctcggcgctg 700
218 S C A Y Q V C G P P L Y Q L G A A 234

-----|-----|-----|-----|
701 ctactcaggcccgccaccaccacacgcctcaggtccaagacgcggctg 750
235 T Q A R P P P H A S G P R R R L 250

-----|-----|-----|-----|
751 ggctgcgaacgggcatggaatcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctct 800
251 G C E R A W N H S V R E A G V P L 267

```

FIGURA 18

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cgccctgccagccccggagcaaggagacgggtggatccgccagtgcgt 850
268 G L P A P G A R R R G G S A S R S 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 cactcccttgccctaagaggccaagaaggaggccgccctgaaccggag 900
285 L P L P K R P R R G A A P E P E 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcgccagggtcctctgggtcaccccggaaggaccagggg 950
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 cccaagcgataggggttctgtgtgtgtcaccagccaggcctgccgaag 1000
318 P S D R G F C V V S P A R P A E E 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 aggtacctccttgaaggagccctcagtggcaccaggcattctcatcca 1050
335 A T S L E G A L S G T R H S H P 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 tctgtgggtaggcagcatcatgccggccccccctctacaagcagacctcc 1100
351 S V G R Q H H A G P P S T S R P P 367

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 cagaccttgggacacacctgccaccagtgatgccagaccaagcact 1150
368 R P W D T P C P P V Y A E T K H F 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttttgtattccagtggcgataaagagcagctccggccctcttttctgctc 1200
385 L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgccctctctgaccggagctcgcaggtggtggagaccat 1250
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 ctttctgggtcaagaccatggatgccaggcacccccgcagactgcca 1300
418 F L G S R P W M P G T P R R L P R 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggctccccagcggtaactggcagatgcgccctctctttctggaacttctg 1350
435 L P Q R Y W Q M R P L F L E L L 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 ggtaaccacgcccagtgcccatatggcgtcctgctgaagaccaactgtcc 1400
451 G N H A Q C P Y G V L L K T H C P 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tctgagggcgcgctgacccagccggtgtgtgtgctagagaaaaac 1450
468 L R A A V T P A A G V C A R E K P 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 cccagggtcagtggctgcacctgaagaggaggacactgacctcgccgc 1500
485 Q G S V A A P E E E D T D P R R 500

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggctt 1550
501 L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 cgtgagggttgctgcggagactggtccccccggattgtgggatctc 1600
518 V R A C L R R L V P P G L W G S R 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 ggcacaacgaacggcgcttcttgaggaatacaagaagtttatctccctg 1650
535 H N E R R F L R N T K K F I S L 550

```

FIGURA 18 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1651 ggcaagcatgcaaagctcagcttgaggagctgacatggaagatgagcgt 1700
551 G K H A K L S L Q E L T W K M S V 567

-----|-----|-----|-----|-----|
1701 tagaggatgcgcattggctcaggcggtcacctggagttggatgcggttcag 1750
568 R G C A W L R R S P G V G C V P A 584

-----|-----|-----|-----|-----|
1751 cagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgaaagtctcgcactgg 1800
585 A E H R L R E E I L A K F L H W 600

-----|-----|-----|-----|-----|
1801 cttatgagcgtctacgtggctcgaactgctgcggtctttctctacgtgac 1850
601 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 617

-----|-----|-----|-----|-----|
1851 agagaccacttttcagaagaacagactgttctctacaggaagtccgtct 1900
618 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 634

-----|-----|-----|-----|-----|
1901 ggagcaagctccagagtattggtattagacagcaccttaagagagttcag 1950
635 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 650

-----|-----|-----|-----|-----|
1951 cttagagagctgtccgaagctgaagtcgcgcagcacccggaagctcgccc 2000
651 L R E L S E A E V R Q H R E A R P 667

-----|-----|-----|-----|-----|
2001 cgccctcctgacctctcggctgcggtttattcccaaaccgatggcctta 2050
668 A L L T S R L R F I P K P D G L R 684

-----|-----|-----|-----|-----|
2051 gacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcccgcacttttcagaagg 2100
685 P I V N M D Y V V G A R T F R R 700

-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgcgcgcagagactgacatctcgcgtgaaggcactttttctgt 2150
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V 717

-----|-----|-----|-----|-----|
2151 gcttaattatgaaagagcccgcagacctggtcttctcggagccagcgtgc 2200
718 L N Y E R A R R P G L L G A S V L 734

-----|-----|-----|-----|-----|
2201 tcggcctggatgatattccatcggttggtgcacactttgtgcttcgggtg 2250
735 G L D D I H R A W R T F V L R V 750

-----|-----|-----|-----|-----|
2251 agggcacaggatcctcctcctgagctttattttgtgaaagttgatgttac 2300
751 R A Q D P P P E L Y F V K V D V T 767

-----|-----|-----|-----|-----|
2301 tgggtcttacgatacaatccctcaggacccggtccaccgaggtgatcgct 2350
768 G A Y D T I P Q D R L T E V I A S 784

-----|-----|-----|-----|-----|
2351 ctattatcaaaccacagaacacctactgcgtgagaaggtacgcgcgtgctt 2400
785 I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

-----|-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacggacacgtgcgcaaagctttcaaaccacgtgtc 2450
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S 817

-----|-----|-----|-----|-----|
2451 taccttgacagacctccagccttatatgcggcagtttgcgcacacctgc 2500
818 T L T D L Q P Y M R Q F V A H L Q 834

```

FIGURA 18 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 aggagactagcccttgaggacgtgtggtcatcgaacagtccagctct 2550
835 E T S P L R D A V V I E Q S S S 850

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 ctcaatgaggcatcctcaggcctgtttgatgtgttctcgctttatgtg 2600
851 L N E A S S G L F D V F L R F M C 867

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 ccaccacgcgtgcggttaggggcaagtcttacgtgcagtgcaggga 2650
868 H H A V R I R G K S Y V Q C Q G I 884

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 tcccacaggtagcatcctgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggc 2700
885 P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatyggagaaataattgttcgcgggtatcagaagagacgggttgctcct 2750
901 D M E N K L F A G I R R D G L L L 917

-----|-----|-----|-----|-----|
2751 gaggtgctgactcatgccaacatttttgcggaactctggttagggcg 2800
918 R L L T H A K T F L R T L V R G V 934
      *

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 tgccagagtatgctgtgttgtaatttgcggaactgtggttaatttc 2850
935 P E Y G C V V N L R K T V V N F 950

-----|-----|-----|-----|-----|
2851 ccagtggaggacgaagctctcggaggcacagcttttgttcagatgcctgc 2900
951 P V E D E A L G G T A F V Q M P A 967

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 ccacggcctgttcccatggtgcggaactgctgcatacccgaccctcg 2950
968 H G L F P W C G L L L D T R T L E 984

-----|-----|-----|-----|-----|
2951 aggtgcagtcgattatagttcctatgcaagaacatcaattcgggctagc 3000
985 V Q S D Y S S Y A R T S I R A S 1000

-----|-----|-----|-----|-----|
3001 ctgactttcaacaggggcttcaaggccggccgaatatgagaaggaaact 3050
1001 L T F N R G F K A G R N M R R K L 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 gttcggagtgttgagacttaagtgtcatagctcttttttggacttgcagg 3100
1018 F G V L R L K C H S L F L D L Q V 1034

-----|-----|-----|-----|-----|
3101 tcaattctctccagacagtgtgtaccaacattataaaaatcctcttgctg 3150
1035 N S L Q T V C T N I Y K I L L L 1050

-----|-----|-----|-----|-----|
3151 caggcttacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagca 3200
1051 Q A Y R F H A C V L Q L P F H Q Q 1067

-----|-----|-----|-----|-----|
3201 ggtgtggaaaaaccctaccttcttctcgcgggtgattagcgacaccgcca 3250
1068 V W K N P T F F L R V I S D T A S 1084

-----|-----|-----|-----|-----|
3251 gtctttgctactccatcttgaaagcaaaaacgctggcatgagcttggga 3300
1085 L C Y S I L K A K N A G M S L G 1100

-----|-----|-----|-----|-----|
3301 gctaaggcgccgctggacctctgccagtggaagcagtcagtggtgtg 3350
1101 A K G A A G P L P S E A V Q W L C 1117

```

FIGURA 18 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3351 tcatcaggctttcctccttaaactgacacgccaccgcgtgacttacgtcc 3400
1118 H Q A F L L K L T R H R V T Y V P 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 cactcctgggctcctgagaactgctcagaccagctttcccgaagctt 3450
1135 L L G S L R T A Q T Q L S R K L 1150

-----|-----|-----|-----|-----|
3451 ccaggcactacccttaccgcactcgaagcagccgccaaccctgccctgcc 3500
1151 P G T T L T A L E A A A N P A L P 1167
      hTERT>< etiqueta V5

-----|-----|-----|-----|-----|
3501 ctccgactttaagactatcctggacggcaagccaattcctaattcattgc 3550
1168 S D F K T I L D G K P I P N P L L 1184
      > PARADA

-----|-----|
3551 tgggcctggactcaacttga 3570
1185 G L D S T □ 1189

```

FIGURA 18 cont.

ES 2 771 862 T3

```

< Ubiquitina humana
-----|-----|-----|-----|
1 atgcagattttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagagggctgatttttgcggaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|
151 gaggacggacgcacactcagtgcactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67
Ubiquitina humana >< hTERT
-----|-----|-----|-----|
201 gcattctggctccttcgcctgcgcgcggactggccaccttcgtgcggcgcc 250
68 H L V L R L R G G L A T F V R R L 84

-----|-----|-----|-----|
251 tgggaccccgaggctggcgctggtgcagcgcggggaccctgctgcttcc 300
85 G P Q G W R L V Q R G D P A A F 100

-----|-----|-----|-----|
301 agagctctcgtcgcacagtgctcgtgctgcttccttgggacgcacggcc 350
101 R A L V A Q C L V C V P W D A R P 117

-----|-----|-----|-----|
351 cccacccgcccagtttccggcaggtgagttgtctcaaagagttgg 400
118 P P A A P S F R Q V S C L K E L V 134

-----|-----|-----|-----|
401 ttgctcgggtgttgacagcgctttgtgaaaggggagcaaagaacgtcctt 450
135 A R V L Q R L C E R G A K N V L 150

-----|-----|-----|-----|
451 gcctttggttcgctttgctcgatggagcacgcggaggccctcctgaggc 500
151 A F G F A L L D G A R G G P P E A 167

-----|-----|-----|-----|
501 attcactactagcgtccggtcctacctgcccacacagtgaccgacgctc 550
168 F T T S V R S Y L P N T V T D A L 184

-----|-----|-----|-----|
551 tgagaggttcagggtgcctggggtcgtgctgcggagggtgggtgatgat 600
185 R G S G A W G L L L R R V G D D 200

-----|-----|-----|-----|
601 gttctggttcacctcctggcccggtgtgccctgttcgtgctggtggctcc 650
201 V L V H L L A R C A L F V L V A P 217

-----|-----|-----|-----|
651 ctctcgcgcataccagggtcgtgcggacccccactttatcagctcggcgctg 700
218 S C A Y Q V C G P P L Y Q L G A A 234

-----|-----|-----|-----|
701 ctactcaggcccgcccaccaccacacgcctcagggtccaagacgcggctg 750
235 T Q A R P P P H A S G P R R R L 250

-----|-----|-----|-----|
751 ggctgcgaacgggcatggaatcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctct 800
251 G C E R A W N H S V R E A G V P L 267

```

FIGURA 19

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cgcctgccagcccccgagcaaggagacgcggtggatccgccagtgcgt 850
268 G L P A P G A R R R G G S A S R S 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 cactcccttgccctaagaggccaagaaggagcgccctgaaccgag 900
285 L P L P K R P R R G A A P E P E 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcgccagggtcctgggtcaccccggaaggaccagggg 950
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 cccaagcgataggggttctgtgtgtgtcaccagccaggcctgccgaag 1000
318 P S D R G F C V V S P A R P A E E 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 aggtacctccttgaaggagccctcagtggcaccaggcattctcatcca 1050
335 A T S L E G A L S G T R H S H P 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 tctgtgggtaggcagcatcatgccggccccccctctacaagcagacctcc 1100
351 S V G R Q H H A G P P S T S R P P 367

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 cagaccttgggacacacctgccaccagtgatatgccagaccaagcact 1150
368 R P W D T P C P P V Y A E T K H F 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttttgtattccagtggcgataaagagcagctccggccctcttttctgtctc 1200
385 L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgccctctctgaccggagctcgagcgtggtggagaccat 1250
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 ctttctgggtcaagaccatggatgccaggcaccgccgcagactgcccc 1300
418 F L G S R P W M P G T P R R L P R 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggctccccagcggtaactggcagatgcgccctctctttctggaacttctg 1350
435 L P Q R Y W Q M R P L F L E L L 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 ggtaaccacgcccagtgcccatatggcgtcctgctgaagaccaactgtcc 1400
451 G N H A Q C P Y G V L L K T H C P 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tctgagggcgcgcgtgacccagccgcggtgtgtgtgtctagagaaaaac 1450
468 L R A A V T P A A G V C A R E K P 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 ccagggtcagtggtgcacctgaagaggaggacactgacctcgccgc 1500
485 Q G S V A A P E E E D T D P R R 500

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggctt 1550
501 L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 cgtgagggttgctgcggagactggtcccccccgattgtgggatctc 1600
518 V R A C L R R L V P P G L W G S R 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 ggcacaacgaacggtcttctgaggaatacaagaagtttatctccctg 1650
535 H N E R R F L R N T K K F I S L 550

```

FIGURA 19 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1651 ggcaagcatgcaaagctcagcttgaggagctgacatggaagatgagcgt 1700
551 G K H A K L S L Q E L T W K M S V 567

-----|-----|-----|-----|-----|
1701 tagaggatgcgcattggctcaggcggtcacctggagttggatgcgttccag 1750
568 R G C A W L R R S P G V G C V P A 584

-----|-----|-----|-----|-----|
1751 cagcagagcacaggtgcgcgaagagattctcgaaagttcctgcactgg 1800
585 A E H R L R E E I L A K F L H W 600

-----|-----|-----|-----|-----|
1801 cttatgagcgtctacgtggtcgaactgctgcggtctttctctacgtgac 1850
601 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 617

-----|-----|-----|-----|-----|
1851 agagaccacttttcagaagaacagactgttctttacaggaagtcggtct 1900
618 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 634

-----|-----|-----|-----|-----|
1901 ggagcaagctccagagtattggtatttagacagcaccttaagagagttcag 1950
635 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 650

-----|-----|-----|-----|-----|
1951 cttagagagctgtccgaagctgaagtcgcgcagcaccgcgaagctcgccc 2000
651 L R E L S E A E V R Q H R E A R P 667

-----|-----|-----|-----|-----|
2001 cgccctcctgacctctcggtgcggtttattccaaaccgatggcctta 2050
668 A L L T S R L R F I P K P D G L R 684

-----|-----|-----|-----|-----|
2051 gacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcccgcacttttcagaagg 2100
685 P I V N M D Y V V G A R T F R R 700

-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgccgagagactgacatctcgcgtaaggcactttttctgt 2150
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V 717

-----|-----|-----|-----|-----|
2151 gcttaattatgaaagagccgcagacctggtcttctcgagccagcgtgc 2200
718 L N Y E R A R R P G L L G A S V L 734

-----|-----|-----|-----|-----|
2201 tcggcctggatgatatccatcggttggtgcacctttgtgcttcgggtg 2250
735 G L D D I H R A W R T F V L R V 750

-----|-----|-----|-----|-----|
2251 agggcacaggatcctcctcctgagctttatgttgaaagttgatgttac 2300
751 R A Q D P P P E L Y F V K V D V T 767

-----|-----|-----|-----|-----|
2301 tgggtgcttacgataacaatccctcaggacggctcaccgaggtgatcgct 2350
768 G A Y D T I P Q D R L T E V I A S 784

-----|-----|-----|-----|-----|
2351 ctattatcaaaccacagaacacctactgcgtgagaaggtacgcgctggt 2400
785 I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

-----|-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacgacacgtgcgcaaagctttcaaatcccacgtgc 2450
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S 817

-----|-----|-----|-----|-----|
2451 taccttgacagacctccagccttatatgcggcagtttgctgcacacctgc 2500
818 T L T D L Q P Y M R Q F V A H L Q 834

```

FIGURA 19 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2501 aggagactagccccttgaggacgtgtggtcatcgaacagtccagctct 2550
835 E T S P L R D A V V I E Q S S S 850

-----|-----|-----|-----|-----|
2551 ctcaatgagcatcctcaggcctgtttgatgtgttcctgcgctttatgtg 2600
851 L N E A S S G L F D V F L R F M C 867

-----|-----|-----|-----|-----|
2601 ccaccacgcctgcggattaggggcaagtcctacgtgcagtgccaggcca 2650
868 H H A V R I R G K S Y V Q C Q G I 884

-----|-----|-----|-----|-----|
2651 tcccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggc 2700
885 P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccggtgccaaaacatttttcgggactct 2750
901 D M E N K L F A G A K T F L R T L 917
      *

-----|-----|-----|-----|-----|
2751 ggttagggcgctgcagagtatggctgtgtgtgaatttcggaaaactg 2800
918 V R G V P E Y G C V V N L R K T V 934

-----|-----|-----|-----|-----|
2801 tggttaatttcccagtgaggacgaagctctcggaggcacagcttttgtt 2850
935 V N F P V E D E A L G G T A F V 950

-----|-----|-----|-----|-----|
2851 cagatgcctgccacggcctgttcccatgggtgcggactgctgctcgatc 2900
951 Q M P A H G L F P W C G L L L D T 967

-----|-----|-----|-----|-----|
2901 ccggaccctcgaggtgcagtcogattatagttcctatgcaagaacatcaa 2950
968 R T L E V Q S D Y S S Y A R T S I 984

-----|-----|-----|-----|-----|
2951 ttccggctagcctgactttcaacaggggcttcaaggccggccggaatatg 3000
985 R A S L T F N R G F K A G R N M 1000

-----|-----|-----|-----|-----|
3001 agaaggaaactgttcggagtggttgagacttaagtgtcatagtcctttttt 3050
1001 R R K L F G V L R L K C H S L F L 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
3051 ggacttgcaggtcaattctctccagacagtggtgtaccaacatttataaaa 3100
1018 D L Q V N S L Q T V C T N I Y K I 1034

-----|-----|-----|-----|-----|
3101 tcctcttgcctgcaggttacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcct 3150
1035 L L L Q A Y R F H A C V L Q L P 1050

-----|-----|-----|-----|-----|
3151 ttccaccagcaggtgtggaaaaaccctaccttcttctcgtgcgggtgattag 3200
1051 F H Q Q V W K N P T F F L R V I S 1067

-----|-----|-----|-----|-----|
3201 cgacaccgccagctctttgctactccatcttgaaagcaaaaaacgctggca 3250
1068 D T A S L C Y S I L K A K N A G M 1084

-----|-----|-----|-----|-----|
3251 tgagcttgggagctaaggcgccgctggacctctgcccagtgaaagcagtc 3300
1085 S L G A K G A A G P L P S E A V 1100

-----|-----|-----|-----|-----|
3301 cagtggctgtgtcatcaggctttcctccttaaaactgacacgccaccgcgt 3350
1101 Q W L C H Q A F L L K L T R H R V 1117

```

FIGURA 19 cont.

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
3351 gacttacgtccactcctgggctccctgagaactgctcagaccagcttt 3400
1118 T Y V P L L G S L R T A Q T Q L S 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
3401 cccggaagcttccaggcactacccttaccgcactcgaagcagccgccaac 3450
1135 R K L P G T T L T A L E A A A N 1150
                                hTERT> etiqueta V5
-----|-----|-----|-----|-----|
3451 cctgccctgccctccgactttaagactatcctggacggcaagccaattcc 3500
1151 P A L P S D F K T I L D G K P I P 1167

                                >PARADA
-----|-----|-----|-----|
3501 taatccattgctgggcctggactcaacttga 3531
1168 N P L L G L D S T □ 1176

```

FIGURA 19 cont.

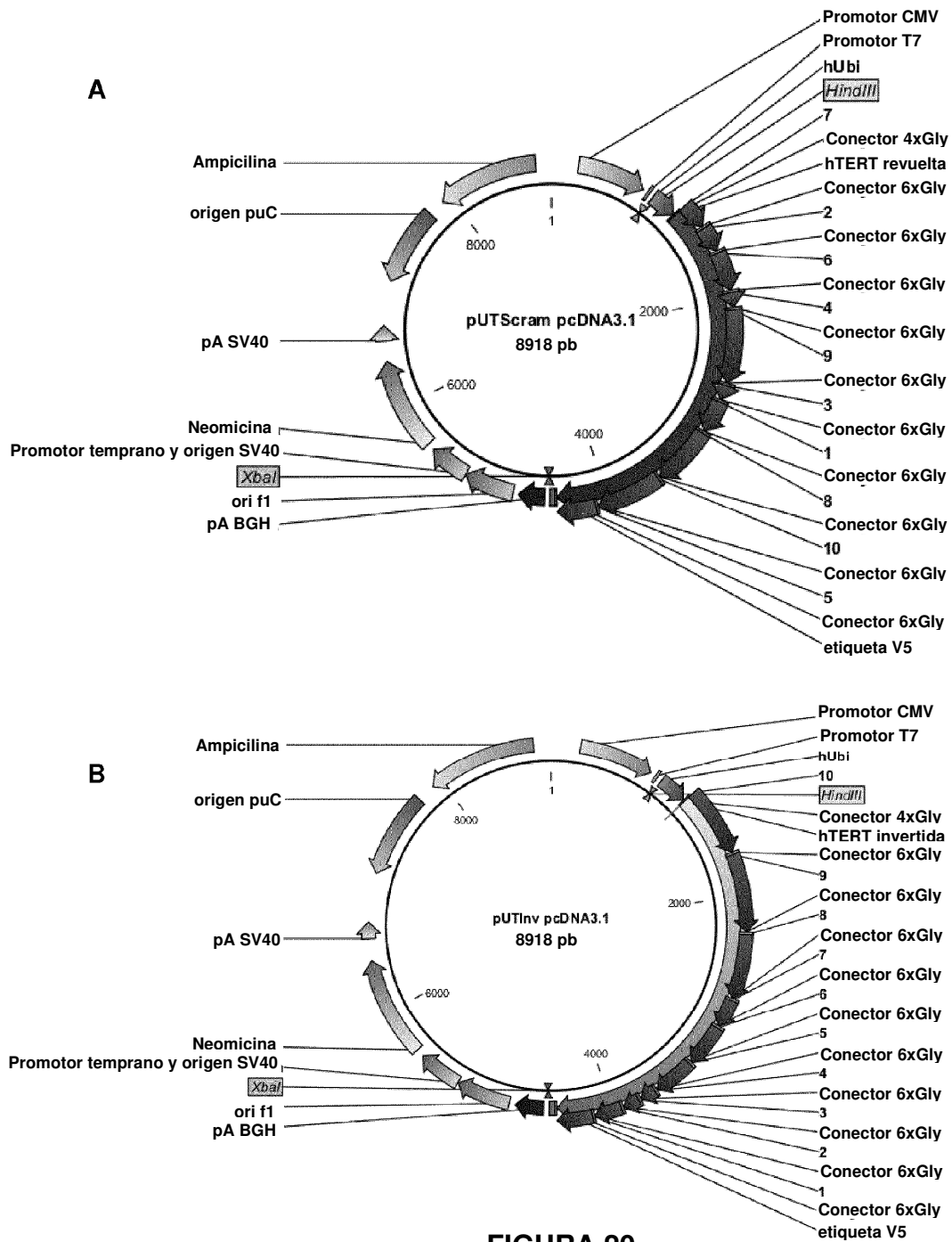
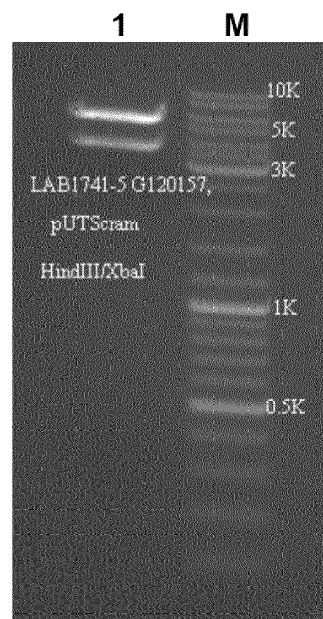


FIGURA 21

A



B

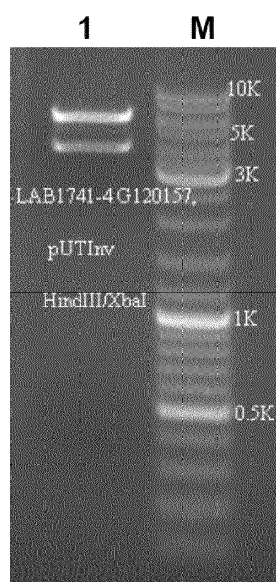
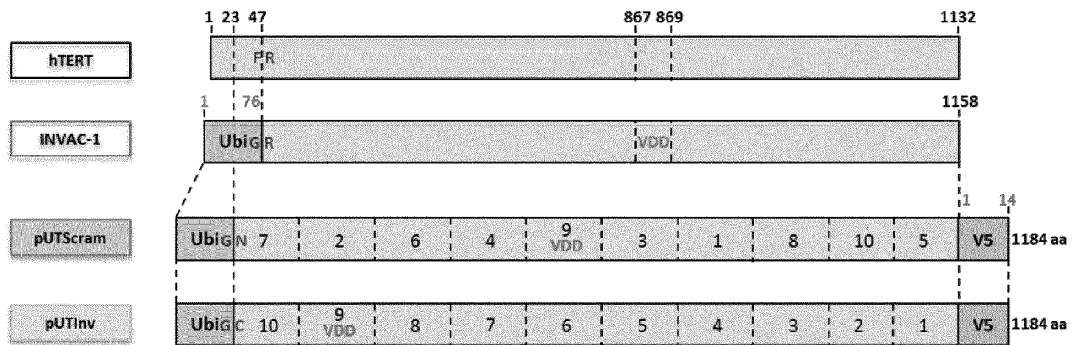


FIGURA 22



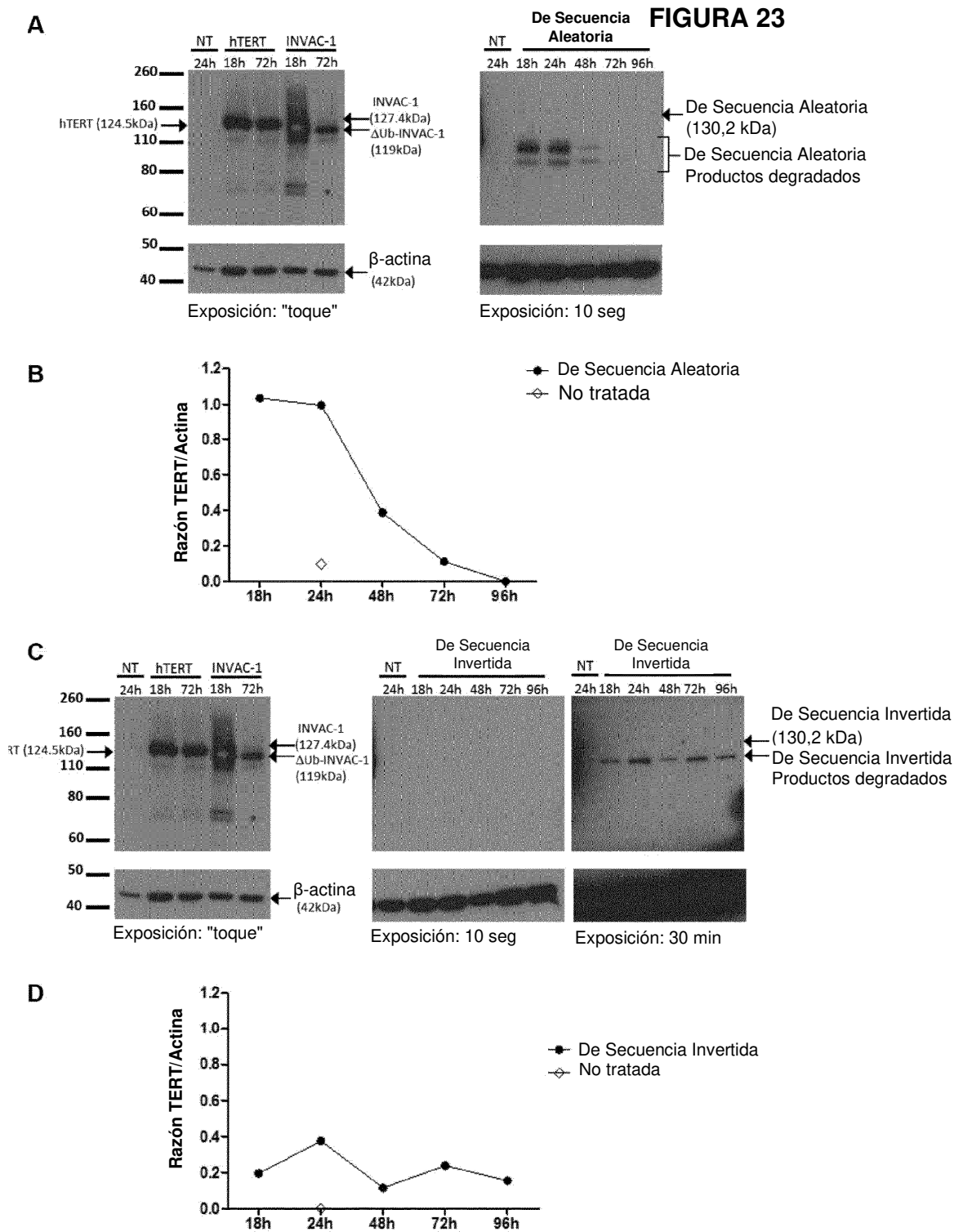


FIGURA 24

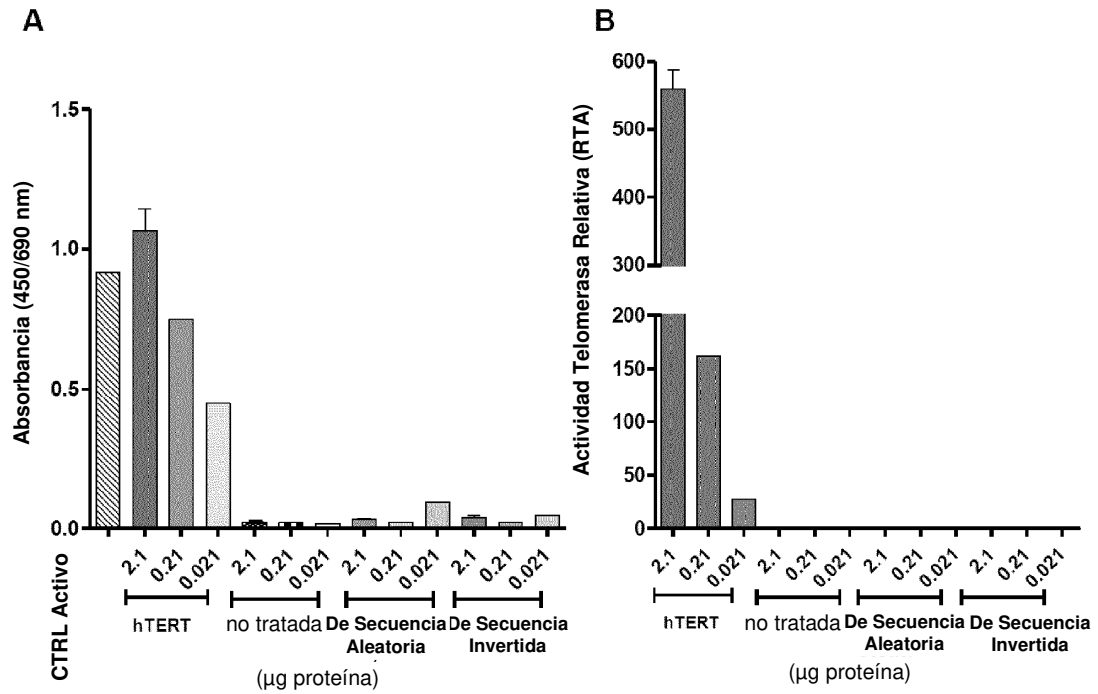
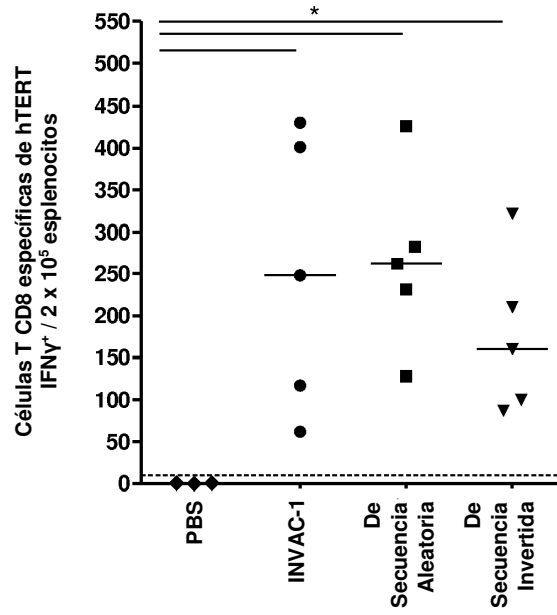
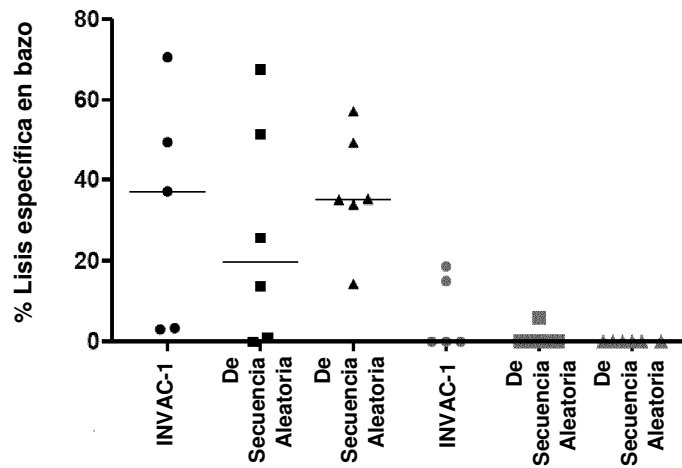


FIGURA 25



n=5
Prueba Mann-Whitney
* valor p < 0,05

FIGURA 26



n=4-6
Prueba Kruskal-Wallis
corrección de Dunn

Figura 27

< Ubiquitina humana		
1	atgcagatttttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagtggagccaagc	60
1	M Q I F V K T L T G K T I T L E V E P S	20
61	gacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaaggaggcatcccaccagaccag	120
21	D T I E N V K A K I Q D K E G I P P D Q	40
121	cagaggctgatttttgccggaagcagctggaggacggacgcacactcagtgactacaat	180
41	Q R L I F A G K Q L E D G R T L S D Y N	60
Ubiquitina humana >> Fragmento 1 hTERT		
181	atccagaaggaaagtactctgcatctggtccttcgcctgcgcggcggactggccaccttc	240
61	I Q K E S T L H L V L R L R G G L A T F	80
241	gtgcggcgccctgggacccagggctggcggtggtgcagcgcggggaccctgctgctttc	300
81	V R R L G P Q G W R L V Q R G D P A A F	100
301	agagctctcgtcgccagtgctctggctcgttccttgggacgcacggccccaccggcc	360
101	R A L V A Q C L V C V P W D A R P P P A	120
361	gccccagtttccggcaggtgagttgtctcaaagagttggttgctcgggtgttgacggc	420
121	A P S F R Q V S C L K E L V A R V L Q R	140
Fragmento 1		
421	ctttgtgaaaggggagcaaagaacgtccttgcctttggcttcgctttgctcgatggagca	480
141	L C E R G A K N V L A F G F A L L D G A	160
hTERT > < Fragmento 2 hTERT		
481	cgcgaggagccctcctgagggcattcactactagcgtccgggtcctacctgcccacacagtg	540
161	R G G P P E A F T T S V R S Y L P N T V	180
541	accgacgctctgagaggttcaggtgcctggggtctgctgctgcggagggtgggtgatgat	600
181	T D A L R G S G A W G L L L R R V G D D	200
601	gttctggttcacctcctggccgggtgtgccctgttcgtgctggtggctccctcctgcgca	660
201	V L V H L L A R C A L F V L V A P S C A	220

Fragmento 2 hTERT >

661 taccagggtctgcggacccccactttaacagctcggcgctgctactcaggcccgccacca 720
221 Y Q V C G P P L Y Q L G A A T Q A R P P 240

< Fragmento 3 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
721 ccacacgcctcaggtccaagacgcggctgggctgcgaacgggcatggaatcatagcgtg 780
241 P H A S G P R R R L G C E R A W N H S V 260

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
781 cgggaggcgaggtgtgcctctcggcctgccagccccggagcaaggagacgcggtggatcc 840
261 R E A G V P L G L P A P G A R R R G G S 280

Fragmento 3 hTERT >

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
841 gccagtcgctcactcccttgctaagaggccaagaagaggagccgcccctgaaccgag 900
281 A S R S L P L P K R P R R G A A P E P E 300

< Fragmento 4 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
901 agaacacctgtcggccagggtcctctgggctcaccccggaaggaccaggggcccaagcga 960
301 R T P V G Q G S W A H P G R T R G P S D 320

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
961 aggggctctctgttgtgtgcaccagccagggctgccgaagaggctacctccttggaaagga 1020
321 R G F C V V S P A R P A E E A T S L E G 340

Fragmento 4 hTERT >

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
1021 gccctcagtggcaccaggcattctcatccatctgtgggtaggcagcatcatgccggcccc 1080
341 A L S G T R H S H P S V G R Q H H A G P 360

< Fragmento 5 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
1081 ccctctacaagcagacctcccagaccttgggacacacctgtgccaccagtgtatgccgag 1140
361 P S T S R P P R P W D T P C F P V Y A E 380

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
1141 accaagcactttttgtattccagtggcgataaagagcagctccggccctcttttctgtct 1200
381 T K H F L Y S S G D K E Q L R P S F L L 400

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tcaagcctccgccctctctgaccggagctcgagcgctggtagaccatctttctgggc 1260
401 S S L R P S L T G A R R L V E T I F L G 420

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
1261 tcaagaccatgggatgccaggcaccctccgcagactgccaggtccccagcggtagtg 1320
421 S R P W M P G T P R R L P R L P Q R Y W 440

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
1321 **cagatgcgccctctcttctggaactctgggtaaccaagccagtgcccatatggcgtc** 1380
441 **Q M R P L F L E L L G N H A Q C P Y G V** 460

ES 2 771 862 T3

Fragmento 5 hTERT > < Fragmento 6 hTERT		
1381	ctgctgaagaccactgtcctctgagggccgcggtgaccacagccgcggtgtgtgtgct	1440
461	L L K T H C P L R A A V T P A A G V C A	480
1441	agagaaaaacccagggctcagtggtgcacctgaagaggaggacactgacctcgccgc	1500
481	R E K P Q G S V A A P E E E D T D P R R	500
1501	cttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccatggcaggtgtacggcttcgtcagggct	1560
501	L V Q L L R Q H S S P W Q V Y G F V R A	520
1561	tgcctgcggagactggtccccccggtattgtgggatctcggcacaacgaacggcgcttt	1620
521	C L R R L V P P G L W G S R H N E R R F	540
1621	ctgaggaatacaagaagtttatctccctgggcaagcatgcaaagctcagcttcaggag	1680
541	L R N T K K F I S L G K H A K L S L Q E	560
Fragmento 6 hTERT >		
1681	ctgacatggaagatgagcgttagaggatgcgcaggtcaggcggtcacctggagttgga	1740
561	L T W K M S V R G C A W L R R S P G V G	580
< Fragmento 7 hTERT		
1741	tgcgttccagcagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgcaaagttcctgcactgg	1800
581	C V P A A E H R L R E E I L A K F L H W	600
1801	cttatgagcgtctactgtggtcgaaactgctgcggctcttcttctacgtgacagagaccact	1860
601	L M S V Y V V E L L R S F F Y V T E T T	620
1861	tttcagaagaacagactgttcttctacaggaaagtcctctggagcaagctccagagtatt	1920
621	F Q K N R L F F Y R K S V W S K L Q S I	640
Fragmento 7 hTERT > < Fragmento 8 hTERT		
1921	ggtattagacagcaccttaagagagttcagcttagagagctgtccgaagctgaagtccgc	1980
641	G I R Q H L K R V Q L R E L S E A E V R	660
1981	cagcaccgcgaagctgcggccgctcctgacctctcggtgcgggtttattcccaaaccc	2040
661	Q H R E A R P A L L T S R L R F I P K P	680
2041	gatggccttagacctatcgatgaatatgattacgtcgtgggtgcccgacatttcagaagg	2100
681	D G L R P I V N M D Y V V G A R T F R R	700

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gagaagcgccgagagactgacatctcggtgaaggcactttttctgtgttaattat 2160
701 E K R A E R L T S R V K A L F S V L N Y 720

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2161 gaaagagcccgagacctggtcttctcgagccagcgtgctcggcctggatgatatacat 2220
721 E R A R R P G L L G A S V L G L D D I H 740

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2221 cgggcttggcgccacctttgtgcttcgggtgagggcacaggatcctcctcctgagctttat 2280
741 R A W R T F V L R V R A O D P P P E L Y 760

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2281 ttgtgaaagtgtgatgttactggtgcttacgatacaatccotcaggaccgggtcacccgag 2340
761 F V K V D V T G A Y D T I P O D R L T E 780

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2341 gtgatcgccctctattatcaaaccacagaacacactactgctgagaaggtagccgctggt 2400
781 V I A S I I K P Q N T Y C V R R Y A V V 800

Fragmento 8 hTERT > < Fragmento 9 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2401 cagaaagccgcacacggacacgtgcgcaaagctttcaaatcccacgtgtctaccttgaca 2460
801 Q K A A H G H V R K A F K S H V S T L T 820

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2461 gacctccagccttatatgcggcagtttgcgcacacactgcaggagactagcccttgagg 2520
821 D L Q P Y M R Q F V A H L Q E T S P L R 840

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2521 gacgctgtggtcatcgaaacagtcacgtctctcaatgaggcatcctcaggcctgtttgat 2580
841 D A V V I E Q S S S L N E A S S G L F D 860

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2581 gtgttccctgcgttttatgtgccaccacgcggtgcggattaggggcaagtcttacgtgcag 2640
861 V F L R F M C H H A V R I R G K S Y V Q 880

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2641 tgccagggcacccacagggtagcatcctgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggc 2700
881 C Q G I P Q G S I L S T L L C S L C Y G 900

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2701 gatatggagaataaattgttcgccggtatcagaagagacggtttgctcctgaggcgtgttc 2760
901 D M E N K L F A G I R R D G L L L R L F 920
*

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2761 ctgctggttaccctccatctgactcatgccaaaacattttgcggactctggttaggggc 2820
921 L L V T P H L T H A K T F L R T L V R G 940

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2821 gtgccagagtatgctgtgtgtgaatttcgggaaaactgtggttaatttcacagtgag 2880
941 V P E Y G C V V N L R K T V V N F P V E 960

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2881 gacgaagctctcgaggcacagctttgttcagatgcctgcccacggcctgttcccatgg 2940
961 D E A L G G T A F V Q M P A H G L F P W 980

```

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
2941 tgcggactgctgctcgatacccgaccctcgaggtgcagtcgattatagttcctatgca 3000
981 C G L L L D T R T L E V Q S D Y S S Y A 1000

```

Fragmento 9 hTERT >

< Fragmento 10 hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3001 agaacatcaattcgggctagcctgactttcaacaggggcttcaaggccggccggaatatg 3060
1001 R T S I R A S L T F N R G F K A G R N M 1020

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3061 agaaggaactgttcggagtggtgagacttaagtgtcatagtcttttttgacttgacag 3120
1021 R R K L F G V L R L K C H S L F L D L Q 1040

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3121 gtcaattctctccagacagtgtgtaccaacattataaaatcctcttgctgcaggccttac 3180
1041 V N S L Q T V C T N I Y K I L L L Q A Y 1060

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3181 agattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagcaggtgtggaaaaccctacc 3240
1061 R F H A C V L Q L P F H Q Q V W K N P T 1080

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3241 ttcttctgcgggtgattagcgacaccgcccagctctttgctactccatcttgaaagcaaaa 3300
1081 F F L R V I S D T A S L C Y S I L K A K 1100

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3301 aacgctggcatgagcttgggagctaagggcgccgctggacctctgcccagtgaagcagtc 3360
1101 N A G M S L G A K G A A G P L P S E A V 1120

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3361 cagtggctgtgtcatcaggctttcctccttaaaactgacacgccaccgcgtgacttacgtc 3420
1121 Q W L C H Q A F L L K L T R H R V T Y V 1140

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3421 ccactcctgggctccctgagaactgctcagaccagctttcccggaagcttccaggcact 3480
1141 P L L G S L R T A Q T Q L S R K L P G T 1160

```

Fragmento 10

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3481 acccttaccgcactcgaagcagccgccaaccctgcccctgcctccgactttaagactatc 3540
1161 T L T A L E A A A N P A L P S D F K T I 1180

```

hTERT

>< Etiqueta V5

Etiqueta V5 >

```

-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3541 ctggacggcaagccaattcctaattcattgctgggcctggactcaacttga 3591
1181 L D G K P I P N P L L G L D S T □ 1196

```

Figura 28

< Ubiquitina humana

```

-----|-----|-----|-----|
1 atgcagattttcgtcaaaacattgacaggaaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggctgatttttgccggaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|
151 gaggacggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67

```

Ubiquitina humana >> conector G >> Fragmento 7

```

-----|-----|-----|-----|
201 gcatctggctcttcgctgcgcggcggaGGTGGAGGTGGAtgcggtccag 250
68 H L V L R L R G G G G G G C V P A 84

```

hTERT

```

-----|-----|-----|-----|
251 cagcagagcacaggctgcgcgaagagattctcgcaaagttcctgcactgg 300
85 A E H R L R E E I L A K F L H W 100

-----|-----|-----|-----|
301 cttatgagcgtctacgtggctcgaactgctgcggctctttcttctacgtgac 350
101 L M S V Y V V E L L R S F F Y V T 117

-----|-----|-----|-----|
351 agagaccacttttcagaagaacagactgttcttctacaggaagtcggtct 400
118 E T T F Q K N R L F F Y R K S V W 134

```

Fragmento 7 hTERT >

```

-----|-----|-----|-----|
401 ggagcaagctccagagtattggtattagacagcaccttaagagagttcag 450
135 S K L Q S I G I R Q H L K R V Q 150

```

< conector G >> Fragmento 2 hTERT

```

-----|-----|-----|-----|
451 GGAGGTGGTGGAGGTGGAttccactactagcgtccggctcctacctgccaa 500
151 G G G G G G F T T S V R S Y L P N 167

-----|-----|-----|-----|
501 cacagtgaccgacgctctgagaggttcagggtgcctggggtctgctgctgc 550
168 T V T D A L R G S G A W G L L L R 184

-----|-----|-----|-----|
551 ggagggtgggtgatgatgttctggttcacctcctggcccggtgtgccctg 600
185 R V G D D V L V H L L A R C A L 200

```

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
601 ttctgtgctgggtggctccctcctgcgcataccaggtctgcggacccccact 650
201 F V L V A P S C A Y Q V C G P P L 217

```

Fragmento 2 hTERT <> conector G <> Fragmento 6

```

-----|-----|-----|-----|-----|
651 ttatcagctcggcgctgctGGTGGAGGTGGTGGAGGTgccgggtgtgtgtg 700
218 Y Q L G A A G G G G G G A G V C A 234

```

hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
701 ctagagaaaaacccagggctcagtggtgcacctaagaggaggacact 750
235 R E K P Q G S V A A P E E E D T 250

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
751 gaccctcgcgccttgtccagttgtcaggcagcattcatcaccatggca 800
251 D P R R L V Q L L R Q H S S P W Q 267

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
801 ggtgtacggcttcgtgagggcttgctgcggagactggtcccccccgat 850
268 V Y G F V R A C L R R L V P P G L 284

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
851 tgtggggatctcggcacaacgaacggcgctttctgaggaatacaaaagaag 900
285 W G S R H N E R R F L R N T K K 300

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
901 tttatctccctgggcaagcatgcaaagctcagcttgaggagctgacatg 950
301 F I S L G K H A K L S L Q E L T W 317

```

Fragmento 6 hTERT <>

```

-----|-----|-----|-----|-----|
951 gaagatgagcgcttagaggatgcgcagtggtcaggcggtcacctggagtG 1000
318 K M S V R G C A W L R R S P G V G 334

```

conector G <> Fragmento 4 hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 GAGGTGGAGGTGGAGGAtccctgggctcaccgccgaaggaccagggggcca 1050
335 G G G G G S W A H P G R T R G P 350

```

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 agcgataggggcttctgtgtgtgtcaccagccaggcctgccgaagaggc 1100
351 S D R G F C V V S P A R P A E E A 367

```

Fragmento 4 hTERT <> conector G

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 tacctccttggaaggagccctcagtggtcaccaggGGTGGTGGAGGTGGAG 1150
368 T S L E G A L S G T R G G G G G G 384

```

<> Fragmento 9 hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 GAaaatcccacgtgtctaccttgacagacctccagccttatatgcggcag 1200
385 K S H V S T L T D L Q P Y M R Q 400

```

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 tttgtcgcacacctgcaggagactagccccttgaggagcgtgtggtcat 1250
401 F V A H L Q E T S P L R D A V V I 417

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 cgaacagtccagctctctcaatgaggcatcctcaggcctgtttgatgtgt 1300
418 E Q S S S L N E A S S G L F D V F 434

-----|-----|-----|-----|-----|
1301 tcctgcgctttatgtgccaccacgcggtgcggattaggggcaagtcttac 1350
435 L R F M C H H A V R I R G K S Y 450

-----|-----|-----|-----|-----|
1351 gtgcagtgccaggcatccacagggtagcatcctgagcacactgctgtg 1400
451 V Q C Q G I P Q G S I L S T L L C 467

-----|-----|-----|-----|-----|
1401 tagcctgtgctatggcgatatggagaataaattgttcgccggtatcagaa 1450
468 S L C Y G D M E N K L F A G I R R 484

-----|-----|-----|-----|-----|
1451 gagacggtttgctcctgaggctgttcctgctggttaccatctgact 1500
485 D G L L L R L F L L V T P H L T 500
      *

-----|-----|-----|-----|-----|
1501 catgcaaaacatttttgcggactctggttaggggcgtgccagagtatgg 1550
501 H A K T F L R T L V R G V P E Y G 517

-----|-----|-----|-----|-----|
1551 ctgtgttgtaatttgcggaactgtggttaatttccagtgaggagc 1600
518 C V V N L R K T V V N F P V E D E 534

-----|-----|-----|-----|-----|
1601 aagctctcgaggacacagcttttgttcagatgcctgccacggcctgttc 1650
535 A L G G T A F V Q M P A H G L F 550

-----|-----|-----|-----|-----|
1651 ccatggtgcggactgctgctcgatacccggaacctcgaggtgcagtccga 1700
551 P W C G L L L D T R T L E V Q S D 567

      Fragmento 9 hTERT  <<  conector G  >>Fragmento 3
-----|-----|-----|-----|-----|
1701 ttatagttcctatgcaagaacatcaattGGAGGAGGTGGTGGAGGttgga 1750
568 Y S S Y A R T S I G G G G G G W N 584

      hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
1751 atcatagcgtgcgggaggcaggtgtgcctctcggcctgccagcccccgga 1800
585 H S V R E A G V P L G L P A P G 600

-----|-----|-----|-----|-----|
1801 gcaaggagacgcggtggatccgccagtcgctcactccccttgctaagag 1850
601 A R R R G G S A S R S L P L P K R 617

```

ES 2 771 862 T3

Fragmento 3 hTERT <> conector G <> Fragmento 1 hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1851 gccaagaagaggagccGGTGGAGGAGGTGGTGGActggccaccttcgtgc 1900
618 P R R G A G G G G G L A T F V R 634

-----|-----|-----|-----|-----|
1901 ggcgcctgggacccagggctggcggctggtgcagcgcggggaccctgct 1950
635 R L G P Q G W R L V Q R G D P A 650

-----|-----|-----|-----|-----|
1951 gctttcagagctctcgtcgccagtgctctggtctgcgttccttgggacgc 2000
651 A F R A L V A Q C L V C V P W D A 667

-----|-----|-----|-----|-----|
2001 acggccccacccgcgcggccagtttccggcaggtgagttgtctcaaag 2050
668 R P P P A A P S F R Q V S C L K E 684

-----|-----|-----|-----|-----|
2051 agttggttgctcgggtgttgagcggtttgtgaaagggagcaaagaac 2100
685 L V A R V L Q R L C E R G A K N 700

```

Fragmento 1 hTERT <> conector G

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2101 gtccttgcccttggcttcgcttgcgatggagcacgcggaGGAGGTGG 2150
701 V L A F G F A L L D G A R G G G G 717

```

<> Fragmento 8 hTERT

```

-----|-----|-----|-----|-----|
2151 TGGAGGTGGAagagagctgtccgaagctgaagtcgccagcaccgcgaag 2200
718 G G G R E L S E A E V R Q H R E A 734

-----|-----|-----|-----|-----|
2201 ctgcggccgcctcctgacctctcggtgcggtttattccaaacccgat 2250
735 R P A L L T S R L R F I P K P D 750

-----|-----|-----|-----|-----|
2251 ggccttagacctatcgatgaatatggattacgtcgtgggtgccgcacttt 2300
751 G L R P I V N M D Y V V G A R T F 767

-----|-----|-----|-----|-----|
2301 cagaaggagagaagcgcgccgagagactgacatctcgctgaaggcacttt 2350
768 R R E K R A E R L T S R V K A L F 784

-----|-----|-----|-----|-----|
2351 tttctgtgcttaattatgaaagagcccgagacctggtcttctcgagacc 2400
785 S V L N Y E R A R R P G L L G A 800

-----|-----|-----|-----|-----|
2401 agcgtgctcggcctggatgatccatcggttggcgcacctttgtgct 2450
801 S V L G L D D I H R A W R T F V L 817

```

ES 2 771 862 T3

-----|-----|-----|-----|-----|
 2451 tcgggtgagggcacaggatcctcctcctgagctttatgtgaaagtgtg 2500
 818 R V R A Q D P P P E L Y F V K V D 834

-----|-----|-----|-----|-----|
 2501 atgttactggtgcttacgatacaatccctcaggaccggctcaccgaggtg 2550
 835 V T G A Y D T I P Q D R L T E V 850

-----|-----|-----|-----|-----|
 2551 atcgcctctattatcaaaccacagaacacctactgcgtgagaaggtacgc 2600
 851 I A S I I K P Q N T Y C V R R Y A 867

Fragmento 8 hTERT >< conector G

-----|-----|-----|-----|-----|
 2601 cgtcgttcagaaagccgcacacggacacgtgcgc**aaa**GGTGGAGGAGGTG 2650
 868 V V Q K A A H G H V R K G G G G G 884

>< Fragmento 10 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 2651 GTGGA**aac**aggggcttcaaggccggccggaatatgagaaggaaactgttc 2700
 885 G N R G F K A G R N M R R K L F 900

-----|-----|-----|-----|-----|
 2701 ggagtgttgagacttaagtgtcatagtcttttttgacttgaggtcaa 2750
 901 G V L R L K C H S L F L D L Q V N 917

-----|-----|-----|-----|-----|
 2751 ttctctccagacagtgtgtaccaacatttataaaatcctcttgctgcagg 2800
 918 S L Q T V C T N I Y K I L L L Q A 934

-----|-----|-----|-----|-----|
 2801 ctacagattccatgcctgcgtcctgcagctgcctttccaccagcaggtg 2850
 935 Y R F H A C V L Q L P F H Q Q V 950

-----|-----|-----|-----|-----|
 2851 tggaaaaaccctaccttcttctcgtcggtgattagcgacaccgccagtct 2900
 951 W K N P T F F L R V I S D T A S L 967

-----|-----|-----|-----|-----|
 2901 ttgctactccatcttgaaagcaaaaaacgctggcatgagcttgggagcta 2950
 968 C Y S I L K A K N A G M S L G A K 984

-----|-----|-----|-----|-----|
 2951 agggcgccgctggacctctgcccagtgaaagcagtcagtggtgtgtcat 3000
 985 G A A G P L P S E A V Q W L C H 1000

-----|-----|-----|-----|-----|
 3001 caggctttcctccttaaaactgacacgccaccgcgtgacttacgtccact 3050
 1001 Q A F L L K L T R H R V T Y V P L 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
 3051 cctgggtccctgagaactgctcagaccagctttcccgaaacttccag 3100
 1018 L G S L R T A Q T Q L S R K L P G 1034

ES 2 771 862 T3

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3101 gcactacccttaccgcactcgaagcagccgccaaccctgccctgccctcc 3150
1035   T  T  L  T  A  L  E  A  A  A  N  P  A  L  P  S   1050
```

Fragmento 10 hTERT <> Conector G <> Fragmento 5

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3151 gactttaagactatcctggaacGGAGGTGGAGGTGGAGGTccctgccacc 3200
1051 D  F  K  T  I  L  D  G  G  G  G  G  G  P  C  P  P   1067
```

hTERT

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3201 agtgtatgccgagaccaagcactttttgtattccagtggcgataaagagc 3250
1068 V  Y  A  E  T  K  H  F  L  Y  S  S  G  D  K  E  Q   1084
```

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3251 agtccggccctcttttctgctctcaagcctccgccctctctgaccgga 3300
1085   L  R  P  S  F  L  L  S  S  L  R  P  S  L  T  G   1100
```

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3301 gctcgcaggctggtggagaccatctttctgggctcaagaccatggatgcc 3350
1101 A  R  R  L  V  E  T  I  F  L  G  S  R  P  W  M  P   1117
```

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3351 aggcacccccgcagactgccaggctccccagcggactggcagatgc 3400
1118 G  T  P  R  R  L  P  R  L  P  Q  R  Y  W  Q  M  R   1134
```

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3401 gccctctctttctggaacttctgggtaaccacgccagtgcccatatggc 3450
1135   P  L  F  L  E  L  L  G  N  H  A  Q  C  P  Y  G   1150
```

Fragmento 5 hTERT <> Conector G

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3451 gtctgtctgaagaccactgtcctctgagggccgcccgtgaccGGAGGTGG 3500
1151 V  L  L  K  T  H  C  P  L  R  A  A  V  T  G  G  G   1167
```

<> Etiqueta V5

```
-----|-----|-----|-----|-----|
3501 TGGAGGAGGTggcaagccaattcctaattcattgctgggcctggactcaa 3550
1168 G  G  G  G  K  P  I  P  N  P  L  L  G  L  D  S  T   1184
```

Etiqueta V5 <>

```
-----
3551 cttga 3555
```

□

Figura 29

```

< Ubiquitina humana
-----|-----|-----|-----|-----|
1 atgcagattttcgtcaaaacattgacaggaagaccatcacactggaagt 50
1 M Q I F V K T L T G K T I T L E V 17

-----|-----|-----|-----|-----|
51 ggagccaagcgacactattgagaacgtcaaagccaagattcaggacaagg 100
18 E P S D T I E N V K A K I Q D K E 34

-----|-----|-----|-----|-----|
101 agggcatcccaccagaccagcagaggctgatttttgcggaaaagcagctg 150
35 G I P P D Q Q R L I F A G K Q L 50

-----|-----|-----|-----|-----|
151 gaggacggacgcacactcagtgactacaatatccagaaggaaagtactct 200
51 E D G R T L S D Y N I Q K E S T L 67

Ubiquitina humana    >< Conector G >< Fragmento 10
-----|-----|-----|-----|-----|
201 gcatctggctccttcgcctgcgcggcggaGGTGGAGGTGGAaacaggggct 250
68 H L V L R L R G G G G G G N R G F 84

hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
251 tcaaggccgcccgaatatgagaaggaaactgttcggagtgttgagactt 300
85 K A G R N M R R K L F G V L R L 100

-----|-----|-----|-----|-----|
301 aagtgtcatagtcttttttggacttgcagggtcaattctctccagacagt 350
101 K C H S L F L D L Q V N S L Q T V 117

-----|-----|-----|-----|-----|
351 gtgtaccaacattttataaaatcctcttgctgcaggcttacagattccatg 400
118 C T N I Y K I L L L Q A Y R F H A 134

-----|-----|-----|-----|-----|
401 cctgcgtcctgcagctgcctttccaccagcaggtgtggaaaaaccctacc 450
135 C V L Q L P F H Q Q V W K N P T 150

-----|-----|-----|-----|-----|
451 ttcttcctgcgggtgattagcgacaccgccagtctttgctactccatctt 500
151 F F L R V I S D T A S L C Y S I L 167

-----|-----|-----|-----|-----|
501 gaaagcaaaaaacgctggcatgagcttgggagctaagggcgccgctggac 550
168 K A K N A G M S L G A K G A A G P 184

-----|-----|-----|-----|-----|
551 ctctgcccagtgaaagcagtcagtggtgtgtcatcaggcttttcctcctt 600
185 L P S E A V Q W L C H Q A F L L 200

```

ES 2 771 862 T3

-----|-----|-----|-----|-----|
601 aaactgacacgcccacgcgtgacttacgtcccactcctgggctccctgag 650
201 K L T R H R V T Y V P L L G S L R 217

-----|-----|-----|-----|-----|
651 aactgctcagacccagctttcccgaaacttccaggcactacccttaccg 700
218 T A Q T Q L S R K L P G T T L T A 234

Fragmento 10

-----|-----|-----|-----|-----|
701 cactcgaagcagccgccaaccctgcctgcctccgactttaagactatc 750
235 L E A A A N P A L P S D F K T I 250

hTERT <> Conector G <> Fragmento 9 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
751 ctggacGGAGGTGGTGGAGGTGGAaaatcccacgtgtctaccttgacaga 800
251 L D G G G G G G K S H V S T L T D 267

-----|-----|-----|-----|-----|
801 cctccagccttatatgcggcagtttgctgcacacctgcaggagactagcc 850
268 L Q P Y M R Q F V A H L Q E T S P 284

-----|-----|-----|-----|-----|
851 ccttgagggacgctgtggtcatcgaacagtccagctctctcaatgaggca 900
285 L R D A V V I E Q S S S L N E A 300

-----|-----|-----|-----|-----|
901 tcctcaggcctgtttgatgtgttcctgcgctttatgtgccaccacgcccgt 950
301 S S G L F D V F L R F M C H H A V 317

-----|-----|-----|-----|-----|
951 gcggattaggggcaagtcttacgtgcagtgccaggcatccacagggta 1000
318 R I R G K S Y V Q C Q G I P Q G S 334

-----|-----|-----|-----|-----|
1001 gcatactgagcacactgctgtgtagcctgtgctatggcgatatggagaat 1050
335 I L S T L L C S L C Y G D M E N 350

-----|-----|-----|-----|-----|
1051 aaattgttcgcccgtatcagaagagacggtttgctcctgaggctgttcct 1100
351 K L F A G I R R D G L L L R **L F** L 367

*

-----|-----|-----|-----|-----|
1101 gctgggttacccccatctgactcatgccaaaacatttttgcggactctgg 1150
368 L V T P H L T H A K T F L R T L V 384

-----|-----|-----|-----|-----|
1151 ttaggggctgcccagagtatggctgtgttgtaatttgcggaactgtg 1200
385 R G V P E Y G C V V N L R K T V 400

-----|-----|-----|-----|-----|
1201 gttaatttcccagtgaggacgaagctctcggaggcacagcttttgttca 1250
401 V N F P V E D E A L G G T A F V Q 417

ES 2 771 862 T3

```

-----|-----|-----|-----|-----|
1251 gatgcctgcccacggcctgttcccatgggtcggactgctgctcgataccc 1300
418 M P A H G L F P W C G L L L D T R 434
                                Fragmento 9 hTERT  >
-----|-----|-----|-----|-----|
1301 ggaccctcgaggtgcagtcgattatagttcctatgcaagaacatcaatt 1350
435 T L E V Q S D Y S S Y A R T S I 450
< Conector G      >< Fragmento 8 hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
1351 GGTGGAGGTGGTGGAGGTagagagctgtccgaagctgaagtccgccagca 1400
451 G G G G G G R E L S E A E V R Q H 467
-----|-----|-----|-----|-----|
1401 ccgcgaagctcgccccgccctcctgacctctcggtgcggtttattcca 1450
468 R E A R P A L L T S R L R F I P K 484
-----|-----|-----|-----|-----|
1451 aaccgatggccttagacctatcgtgaatatggattacgtcgtgggtgcc 1500
485 P D G L R P I V N M D Y V V G A 500
-----|-----|-----|-----|-----|
1501 cgcactttcagaagggagaagcgcgccgagagactgacatctcgcgtgaa 1550
501 R T F R R E K R A E R L T S R V K 517
-----|-----|-----|-----|-----|
1551 ggcactttttctgtgcttaattatgaaagagcccgagacctggtcttc 1600
518 A L F S V L N Y E R A R R P G L L 534
-----|-----|-----|-----|-----|
1601 tcggagccagcgtgctcggcctggatgatatccatcgggcttggcgcacc 1650
535 G A S V L G L D D I H R A W R T 550
-----|-----|-----|-----|-----|
1651 tttgtgcttcgggtgagggcacaggatcctcctcctgagctttattttgt 1700
551 F V L R V R A Q D P P P E L Y F V 567
-----|-----|-----|-----|-----|
1701 gaaagttgatgttactggtgcttacgatacaatccctcaggaccggtca 1750
568 K V D V T G A Y D T I P Q D R L T 584
-----|-----|-----|-----|-----|
1751 ccgaggtgatcgctctattatcaaaccacagaacacctactgcgtgaga 1800
585 E V I A S I I K P Q N T Y C V R 600

                                Fragmento 8 hTERT      >< Conector
-----|-----|-----|-----|-----|
1801 aggtacgcgctcgttcagaaagccgcacacgacacgtgcgcaaaGGAGG 1850
601 R Y A V V Q K A A H G H V R K G G 617

G                                >< Fragmento 7 hTERT
-----|-----|-----|-----|-----|
1851 TGGAGGTGGAGGAtgcggttccagcagcagagcacaggctgcgcgaagaga 1900
618 G G G G C V P A A E H R L R E E I 634

```

ES 2 771 862 T3

-----|-----|-----|-----|-----|
 1901 ttctcgcaaagtctctgactggccttatgagcgtctacgtggtcgaactg 1950
 635 L A K F L H W L M S V Y V V E L 650

-----|-----|-----|-----|-----|
 1951 ctgcgggtctttcttctacgtgacagagaccacttttcagaagaacagact 2000
 651 L R S F F Y V T E T T F Q K N R L 667

-----|-----|-----|-----|-----|
 2001 gttcttctacaggaagtcgtctggagcaagctccagagtattggtatta 2050
 668 F F Y R K S V W S K L Q S I G I R 684

Fragmento 7 hTERT <> Conector G <> Fragmento 6

-----|-----|-----|-----|-----|
 2051 gacagcaccttaagagagtt**cag**GGTGGTGGAGGTGGAGGA**gcc**ggtgtg 2100
 685 Q H L K R V Q G G G G G G A G V 700

hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 2101 tgtgctagagaaaaaccccagggctcagtggtgcacctgaagaggagga 2150
 701 C A R E K P Q G S V A A P E E E D 717

-----|-----|-----|-----|-----|
 2151 cactgaccctcgccgcttgtccagttgctcaggcagcattcatcaccat 2200
 718 T D P R R L V Q L L R Q H S S P W 734

-----|-----|-----|-----|-----|
 2201 ggcaggtgtacggcttcgtgagggcttgcctgaggagactggccccccc 2250
 735 Q V Y G F V R A C L R R L V P P 750

-----|-----|-----|-----|-----|
 2251 ggattgtgggatctcggcacaacgaacggcgctttctgaggaatacaaa 2300
 751 G L W G S R H N E R R F L R N T K 767

-----|-----|-----|-----|-----|
 2301 gaagtttatctccctgggcaagcatgcaaagctcagcttgaggagctga 2350
 768 K F I S L G K H A K L S L Q E L T 784

Fragmento 6

-----|-----|-----|-----|-----|
 2351 catggaagatgagcgttaga**gga**tgcgcacatggctcaggcggtcacctgga 2400
 785 W K M S V R G C A W L R R S P G 800

hTERT <> Conector G <> Fragmento 5 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 2401 **g**ttGGAGGAGGTGGTGGAGGT**ccc**tgccaccagtgatatgccgagaccaa 2450
 801 V G G G G G G P C P P V Y A E T K 817

-----|-----|-----|-----|-----|
 2451 gcactttttgtattccagtggcgataaagagcagctccggccctcttttc 2500
 818 H F L Y S S G D K E Q L R P S F L 834

ES 2 771 862 T3

-----|-----|-----|-----|-----|
 2501 tgctctcaagcctccgcccctctctgaccggagctcgcaggctggtggag 2550
 835 L S S L R P S L T G A R R L V E 850

-----|-----|-----|-----|-----|
 2551 accatctttctgggctcaagaccatggatgccaggcacccccgcagact 2600
 851 T I F L G S R P W M P G T P R R L 867

-----|-----|-----|-----|-----|
 2601 gccaggctccccagcggtactggcagatgcgccctctctttctggaac 2650
 868 P R L P Q R Y W Q M R P L F L E L 884

-----|-----|-----|-----|-----|
 2651 ttctgggtaaccacgccagtgcccatatggcgtcctgctgaagaccac 2700
 885 L G N H A Q C P Y G V L L K T H 900

Fragmento 5 hTERT <> Conector G <> Fragmento 4

-----|-----|-----|-----|-----|
 2701 tgctctctgagggccgcgctg**acc**GGTGGAGGAGGTGGTGG**tc**ctgggc 2750
 901 C P L R A A V T G G G G G G S W A 917

hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 2751 tcaccccggaaggaccaggggccaagcgataggggcttctgtgtgtgt 2800
 918 H P G R T R G P S D R G F C V V S 934

-----|-----|-----|-----|-----|
 2801 caccagccaggcctgccgaagaggctacctccttgaaggagccctcagt 2850
 935 P A R P A E E A T S L E G A L S 950

Fragmento 4 hTERT <> Conector G <> Fragmento 3 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 2851 ggcacc**agg**GGAGGTGGTGGAGGTGG**tg**gaatcatagcgtgcgggaggc 2900
 951 G T R G G G G G G W N H S V R E A 967

-----|-----|-----|-----|-----|
 2901 aggtgtgcctctcggcctgccagccccggagcaaggagacgcggtggat 2950
 968 G V P L G L P A P G A R R R G G S 984

Fragmento 3 hTERT <>

-----|-----|-----|-----|-----|
 2951 ccgccagtcgctcactccccttgccctaagaggccaagaagagg**agcc**GGT 3000
 985 A S R S L P L P K R P R R G A G 1000

Conector G <> Fragmento 2 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 3001 GGAGGAGGTGGTGG**Attc**actactagcgtccggtcctacctgcccacac 3050
 1001 G G G G G F T T S V R S Y L P N T 1017

-----|-----|-----|-----|-----|
 3051 agtgaccgacgctctgagaggttcaggtgcctgggtctgctgctgcgga 3100
 1018 V T D A L R G S G A W G L L L R R 1034

ES 2 771 862 T3

-----|-----|-----|-----|-----|
 3101 gggtgggtgatgatgttctggttcacctcctggcccggtgtgcctgttc 3150
 1035 V G D D V L V H L L A R C A L F 1050

-----|-----|-----|-----|-----|
 3151 gtgctgggtggctccctcctgcgcataccaggtctgcggacccccacttta 3200
 1051 V L V A P S C A Y Q V C G P P L Y 1067

Fragmento 2 hTERT >< Conector G >< Fragmento 1 hTERT

-----|-----|-----|-----|-----|
 3201 tcagctcggcgctgctGGAGGTGGAGGTGGAGGTctggccaccttcgtgc 3250
 1068 Q L G A A G G G G G G L A T F V R 1084

-----|-----|-----|-----|-----|
 3251 ggcgcctgggaccccgaggctggcggtggtgcagcgcggggacccctgct 3300
 1085 R L G P Q G W R L V Q R G D P A 1100

-----|-----|-----|-----|-----|
 3301 gctttcagagctctcgtcgcgccagtgtctggtctgcgttccttgggacgc 3350
 1101 A F R A L V A Q C L V C V P W D A 1117

-----|-----|-----|-----|-----|
 3351 acggccccaccgcgcgcgccccagtttccggcaggtgagttgtctcaaag 3400
 1118 R P P P A A P S F R Q V S C L K E 1134

-----|-----|-----|-----|-----|
 3401 agttggttgctcgggtgttgagcggtttgtgaaagggagcaaagaac 3450
 1135 L V A R V L Q R L C E R G A K N 1150

Fragmento 1 hTERT >< Conector

-----|-----|-----|-----|-----|
 3451 gtccttgcccttggttgccttcgctttgctcgtatggagcacgcggaGGAGGTGG 3500
 1151 V L A F G F A L L D G A R G G G G 1167

G >< Etiqueta V5

-----|-----|-----|-----|-----|
 3501 TGGAGGAGGTggcaagccaattcctaattccattgctgggcctggactcaa 3550
 1168 G G G G K P I P N P L L G L D S T 1184

Etiqueta V5 ><

 3551 cttga 3555

□