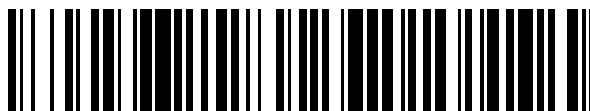


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 309**

51 Int. Cl.:

A61K 39/12 (2006.01)

C07K 14/005 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.07.2014** **PCT/US2014/048086**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.01.2015** **WO15013551**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2014** **E 14750115 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020** **EP 3024483**

54 Título: **Proteínas F de pre-fusión de VRS estabilizadas conformacionalmente**

30 Prioridad:

25.07.2013 US 201361858533 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.07.2020

73 Titular/es:

CALDER BIOSCIENCES INC. (50.0%)
140 58th Street, Building A, Unit 8J
Brooklyn, New York 11220, US y
THE UNITED STATES OF AMERICA, AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY,
DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN
SERVICES (50.0%)

72 Inventor/es:

MARSHALL, CHRISTOPHER PATRICK;
MCLELLAN, JASON SCOTT;
ALFF, PETER JOSEPH;
BERTUCCIOLI, CLAUDIO y
MARIANI, ROBERTO

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 773 309 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

Proteínas F de pre-fusión de VRS estabilizadas conformacionalmente

5 Antecedentes de la invención

Cada año, el virus respiratorio sincitial (VRS) infecta a 4-5 millones de niños en los Estados Unidos, y es la causa principal de hospitalizaciones infantiles (~150.000 hospitalizaciones). A nivel mundial, representa el 6,7% de las muertes en lactantes menores de 1 año, en segundo lugar solo después de la malaria. Además, representa una grave amenaza para otros grupos de alto riesgo, incluyendo ancianos y sujetos inmunodeprimidos, donde da como resultado aproximadamente 180.000 hospitalizaciones adicionales y 12.000 muertes en los Estados Unidos. No existen tratamientos de primera línea actuales para VRS, y el único tratamiento profiláctico aprobado actualmente para VRS es la administración pasiva del anticuerpo monoclonal autorizado Synagis (palivizumab), que reconoce la proteína de fusión (F) de VRS, y reduce la incidencia de enfermedad grave en solo ~50%. El alto coste de la profilaxis con Synagis limita su uso solo a lactantes prematuros y lactantes menores de 24 meses con cardiopatía congénita. Para una revisión, véase Costello *et al.*, "Targeting RSV with Vaccines and Small Molecule Drugs, Infectious Disorders", Drug Targets, 2012, vol. 12, núm. 2. El desarrollo de una vacuna contra VRS más eficaz e, idealmente, más rentable sería de enorme valor. La evidencia clínica de que los anticuerpos específicos de proteína F de VRS pueden proteger contra la enfermedad ha llevado a un esfuerzo concertado para identificar anticuerpos monoclonales adicionales y mejores, y para desarrollar una vacuna protectora para hacer frente a esta importante necesidad médica insatisfecha.

Breve resumen de la invención

A continuación se resumen algunos aspectos de la presente invención. Se describen aspectos adicionales en la descripción detallada de la invención, los ejemplos, las figuras y las reivindicaciones en el presente documento.

Se sabe que la proteína F de VRS induce potentes anticuerpos neutralizantes que se correlacionan con la protección contra VRS. Recientemente se ha demostrado que la conformación de pre-fusión del trímero de proteína F de VRS (que puede denominarse "pre-fusión F" o "pre-F" en el presente documento) es el principal determinante de actividad neutralizante en sueros humanos. Además, los anticuerpos neutralizantes más potentes (nAc) aislados hasta la fecha se unen específicamente solo a la conformación de pre-fusión. Sin embargo, pre-F soluble es altamente inestable y fácilmente pasa a la conformación de post-fusión, limitando su utilidad como inmunógeno de vacuna. Una proteína F de VRS estabilizada en su conformación de pre-fusión (pre-F) podría ser muy valiosa, proporcionando un inmunógeno de vacuna contra VRS candidato. De manera similar, una proteína pre-F de VRS estabilizada de este tipo también podría ser útil para la generación de anticuerpos, tales como anticuerpos de diagnóstico y terapéutico. Recientemente se describió la estructura cristalina de la proteína F de VRS (unida a un potente nAc, D25) en su conformación de pre-fusión. Véase McLellan *et al.*, 2013, Science, 340, págs. 1113-1117. A partir de este trabajo, los presentes inventores han realizado un extenso análisis de la estructura de la proteína F de VRS y han desarrollado una variedad de estrategias de diseño novedosas y constructos novedosos para estabilizar o "bloquear" la proteína F de VRS en su conformación de pre-F.

En algunas realizaciones la presente invención proporciona polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS, tales como aquellos que pueden estar o están estabilizados o "bloqueados" en una conformación de pre-fusión, por ejemplo, usando reticulaciones dirigidas, tales como reticulaciones de di-tirosina dirigidas. La presente descripción también proporciona métodos para preparar y usar tales polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona ubicaciones específicas dentro de la secuencia de aminoácidos de la proteína F de VRS en las que, o entre las cuales, pueden realizarse reticulaciones con el fin de estabilizar la proteína F de VRS en su conformación de pre-F. En algunas realizaciones, las reticulaciones son reticulaciones de di-tirosina dirigidas. Cuando se utilizan reticulaciones de di-tirosina, la presente invención proporciona residuos de aminoácidos específicos (o pares de residuos de aminoácidos) que o bien comprenden un residuo de tirosina preexistente o bien pueden estar o están mutados a un residuo de tirosina de manera que pueden realizarse reticulaciones de di-tirosina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS aislado que comprende al menos una reticulación de di-tirosina, donde al menos una tirosina de las al menos una reticulaciones de di-tirosina se origina a partir de una mutación puntual a tirosina.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS aislado que tiene al menos aproximadamente el 70% de identidad de secuencia con los residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID NO. 1 (VRS tipo A) o residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID NO: 3 (VRS tipo B), en el que el aminoácido comprende una mutación puntual a tirosina en una posición de aminoácidos equivalente a la posición 226 en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 3 y una tirosina en una posición de aminoácidos equivalente a la posición 198 en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO.3, y (b) un dominio de trimerización, en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico es capaz de plegarse en la conformación de pre-F.

En algunas realizaciones, la descripción proporciona un polipéptido F de VRS aislado que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 o 32, o residuos de aminoácidos 1-513 de las mismas (que comprende el ectodominio F de VRS). En algunas realizaciones, la descripción proporciona una proteína o polipéptido F de VRS aislado que tiene al menos aproximadamente el 75% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 o 32, o residuos de aminoácidos 1-513 de las mismas (que comprende el ectodominio F de VRS). En algunas de estas realizaciones los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS contienen al menos una reticulación de di-tirosina donde al menos un residuo de tirosina de la al menos una reticulación se origina a partir de una mutación puntual a tirosina.

En algunas realizaciones, donde están presentes reticulaciones de di-tirosina, la reticulación de di-tirosina comprende dos residuos de tirosina preexistentes. En algunas realizaciones, la reticulación de di-tirosina comprende una tirosina preexistente reticulada con una tirosina que se origina a partir de una mutación puntual a tirosina. En algunas realizaciones, la reticulación de di-tirosina comprende dos tirosinas que se originan a partir de mutaciones puntuales a tirosina. En algunas realizaciones, la reticulación de di-tirosina comprende un enlace intraprotómero, un enlace interprotómero, un enlace intramolecular, un enlace intermolecular, o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la reticulación de di-tirosina comprende un enlace dentro o entre un polipéptido F1 de proteína F de VRS y un polipéptido F2 de proteína F de VRS. En algunas realizaciones, la mutación puntual a tirosina se ubica en una o más posiciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en posiciones de aminoácidos: 77, 88, 97, 147, 150, 155, 159, 183, 185, 187, 220, 222, 223, 226, 255, 427 o 469 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 4, o cualquier posición de aminoácidos que corresponda a una de tales posiciones de aminoácidos en otro ectodominio o secuencia de aminoácidos F de VRS de las mismas.

En algunas realizaciones, la descripción proporciona un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS aislado que tiene al menos aproximadamente el 75% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en el que el polipéptido comprende al menos una reticulación de di-tirosina, en el que una o ambas tirosinas de la reticulación se origina a partir de una mutación puntual a tirosina, y en el que las reticulaciones se ubican entre uno o más residuos de aminoácidos de tirosina emparejados ubicados en posiciones de aminoácidos: 147 y 286; 198 y 220; 198 y 222; 198 y 223; 198 y 226; 33 y 469; 77 y 222; 88 y 255; 97 y 159; 183 y 427; 185 y 427; o 187 y 427. En algunas realizaciones, el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS comprende más de una reticulación de di-tirosina. En algunas realizaciones, el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS comprende dos, tres, cuatro, cinco o más reticulaciones de di-tirosina. En algunas realizaciones, el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS comprende reticulaciones de di-tirosina en residuos de aminoácidos de tirosina emparejados en posiciones de aminoácidos 77 y 222, y 33 y 469.

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención comprenden además una o más reticulaciones adicionales, tales como enlaces disulfuro. En tales realizaciones, al menos una cisteína del uno o más enlaces disulfuro se origina a partir de una mutación puntual a cisteína. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS comprenden además sustituciones de aminoácidos hidrófobos de relleno de cavidades. En tales realizaciones, el dominio de trimerización es un dominio de Foldon.

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención son capaces de provocar una respuesta inmunitaria protectora en un sujeto y/o provocar la producción de anticuerpos neutralizantes específicos de VRS en un sujeto. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención comprenden al menos un sitio antigénico capaz de unirse a un anticuerpo neutralizante, por ejemplo, el sitio antigénico ø.

En algunas realizaciones, la invención proporciona composiciones (tales como composiciones farmacéuticas y/o composiciones de vacunas) que comprenden uno o más polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención. En algunas realizaciones, tales composiciones comprenden un adyuvante, un portador, un agente inmunoestimulador o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la composición es, o forma parte de, una vacuna para el virus respiratorio sincicial. En algunas realizaciones, la invención proporciona un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS de la invención para su uso en la vacunación de un sujeto contra VRS. La descripción también proporciona un método que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición que comprende uno o más de los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención a un sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano de menos de 24 meses de edad o un ser humano de más de 50 años de edad. En algunas realizaciones, la administración comprende una única inmunización. En algunas realizaciones, un método de la descripción comprende además administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende uno o más polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención para tratar o prevenir una infección por VRS en el sujeto. En algunas realizaciones, la descripción proporciona un medicamento para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende uno o más de los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la invención. En algunas realizaciones, el medicamento es una vacuna.

En algunas realizaciones, la descripción proporciona un método para preparar un inmunógeno de vacuna contra VRS, que comprende (a) identificar u obtener un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS en una conformación

de pre-fusión; (b) seleccionar una o más regiones en el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS donde la introducción de una o más reticulaciones (tales como reticulaciones de di-tirosina) podría estabilizar la conformación de pre-fusión; (c) introducir en la proteína F de VRS una o más reticulaciones (tales como reticulaciones de di-tirosina) en una o más de las regiones seleccionadas en la etapa (b) para formar un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS modificado por ingeniería genética; y (d) determinar si el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS modificado por ingeniería genética tiene una o más propiedades seleccionadas del grupo que consiste en: (i) capacidad potenciada de unión a un anticuerpo neutralizante, (ii) capacidad potenciada de unión a un neutralizador amplio, (iii) capacidad potenciada de unión a y activación de receptores de células B, (iv) capacidad potenciada para provocar una respuesta de anticuerpos en un animal, (v) capacidad potenciada para provocar una respuesta de anticuerpos protectores en un animal, (vi) capacidad potenciada para provocar la producción de anticuerpos neutralizantes en un animal, (vii) capacidad potenciada para provocar la producción de anticuerpos ampliamente neutralizantes en un animal, (viii) capacidad potenciada para provocar una respuesta inmunitaria protectora en un animal, y (ix) capacidad potenciada de unión a y para provocar la producción de anticuerpos que reconocen epítopos neutralizantes cuaternarios en un animal, donde si el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS modificado por ingeniería genética tiene una o más propiedades i. a ix., el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS modificado por ingeniería genética es un candidato a inmunógeno de vacuna contra VRS. En algunas de tales realizaciones, la etapa (d) comprende realizar uno o más ensayos para evaluar la capacidad de la proteína F de VRS modificada por ingeniería genética para unirse a un anticuerpo neutralizante, unirse a un anticuerpo ampliamente neutralizante, unirse a y activar receptores de células B para provocar una respuesta de anticuerpos en un animal, provocar una respuesta de anticuerpos protectores en un animal, provocar la producción de anticuerpos neutralizantes en un animal, provocar la producción de anticuerpos ampliamente neutralizantes en un animal, provocar una respuesta inmunitaria protectora en un animal, y/o provocar la producción de anticuerpos que reconocen epítopos neutralizantes cuaternarios en un animal. En algunas realizaciones, en las que se usan reticulaciones de di-tirosina, al menos una tirosina de la una o más reticulaciones de di-tirosina introducidas en la etapa (c) se origina a partir de una mutación puntual a tirosina. En algunas realizaciones, el método además comprende, antes de la etapa (c), introducir en la proteína F de VRS una o más mutaciones puntuales a tirosina en una o más de las regiones seleccionadas en la etapa (b).

Estas y otras realizaciones de la presente invención se describen a lo largo de la presente memoria descriptiva de patente.

Breve descripción de los dibujos

Figuras 1A a 1B. Secuencias de aminoácidos de (A) proteína F de VRS soluble de subtipo A de VRS (WT) (SEQ ID NO: 1), y (B) proteína F de VRS de longitud completa de subtipo A de VRS (SEQ ID NO: 2) (n.º de adhesión AHJ60043.1). Los residuos de aminoácidos 1-513 de ambas secuencias son las secuencias centrales de la proteína F de VRS que son comunes a tanto las formas soluble como unida a la membrana (longitud completa). Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 1 comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 2 comprenden la secuencia de proteína F de VRS endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figuras 2A a 2B. Secuencias de aminoácidos de (A) proteína F de VRS soluble a partir de subtipo B de VRS (SEQ ID NO: 3), y (B) proteína F de VRS de longitud completa a partir de subtipo B de VRS (SEQ ID NO: 4) (n.º de adhesión AHL84194). Los residuos de aminoácidos 1-513 de ambas secuencias son las secuencias centrales de la proteína F de VRS que son comunes a tanto las formas soluble como unida a la membrana (longitud completa). Las secuencias C-terminales a partir de residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 3 comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 4 comprenden la secuencia de proteína F de VRS endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figuras 3A a 3B. Secuencias de aminoácidos de (A) proteína F de VRS modificada de DS-Cav1 soluble (SEQ ID NO: 5), y (B) proteína F de VRS modificada de DS-Cav1 de longitud completa (SEQ ID NO: 6) (McLellan *et al.* (2013) Science 342:592-598). Los residuos de aminoácidos 1-513 de ambas secuencias son las secuencias centrales de la proteína F de VRS que son comunes a tanto las formas soluble como unida a la membrana (longitud completa). Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 5 comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 6 comprenden la secuencia de proteína F de VRS endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figuras 4A a 4B. Secuencias de aminoácidos de (A) proteína F de VRS modificada de Cav1 soluble (SEQ ID NO: 7), y (B) secuencia de proteína F de VRS modificada de Cav1 de longitud completa (SEQ ID NO: 8) (McLellan *et al.* (2013) Science 342:592-598). Los residuos de aminoácidos 1-513 de ambas secuencias son las secuencias centrales de la

proteína F de VRS que son comunes a tanto las formas soluble como unida a la membrana (longitud completa). Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO 7 comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 8 comprenden la secuencia de proteína F de VRS endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figuras 5A - 5B. Secuencias de aminoácidos de (A) proteína F de VRS modificada de DS soluble (SEQ ID NO: 9), y (B) secuencia de proteína F de VRS modificada de DS de longitud completa (SEQ ID NO: 10) (McLellan *et al.* (2013) Science 342:592-598). Los residuos de aminoácidos 1-513 de ambas secuencias son las secuencias centrales de la proteína F de VRS que son comunes a tanto a las formas soluble como unida a la membrana (longitud completa). Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 9 comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 10 comprenden la secuencia de proteína F de VRS endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figura 6. Alineación de secuencias de proteínas F de VRS a partir de subtipo A de VRS (SEQ ID NO: 1, identificada como "VRS F_WT" en la figura) y subtipo B (SEQ ID NO: 4). Los residuos de aminoácidos que aparecen en negrita y subrayados en la secuencia de subtipo A indican sitios que pueden seleccionarse como diana para la reticulación de di-tirosina, ya sea como mutantes simples o dobles. Los sitios equivalentes en el subtipo B también se muestran en los recuadros. Las posiciones designadas seleccionadas como diana para la reticulación de di-tirosina se conservan al 100% entre los subtipos A y B de VRS. Los residuos de aminoácidos 1-513 de ambas secuencias son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 1 comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante en SEQ ID NO. 4 comprenden la secuencia de proteína F de VRS endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figura 7. Alineación de secuencias de proteína F de VRS de DS-Cav1 (SEQ ID NO: 5) y proteínas F de VRS a partir de subtipo A de VRS (SEQ ID NO: 1) y subtipo B (SEQ ID NO: 4). Las secuencias C-terminales mostradas en cursiva en las secuencias de subtipo A de VRS y DS-Cav1 (residuos 514 - 568) contienen el dominio de trimerización Foldon exógeno seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. La secuencia C-terminal mostrada en negrita y subrayada en la secuencia de subtipo B de VRS (residuos 514 - 574) es la secuencia de proteína F endógena que contiene la región transmembrana y la cola citoplasmática.

Figura 8. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende una mutación a tirosina en la posición 147 (A147Y) (SEQ ID NO: 11). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 9. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende una mutación a tirosina en la posición 220 (V220Y) (SEQ ID NO: 12). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 10. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende una mutación a tirosina en la posición 222 (E222Y) (SEQ ID NO: 13). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 11. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende una mutación a tirosina en la posición 223 (F223Y) (SEQ ID NO: 14). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 12. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende una mutación a tirosina en la posición 226 (K226Y) (SEQ ID NO: 15). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 13. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende una mutación a tirosina en la posición 469 (V469Y) (SEQ ID NO: 16). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 14. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 77 (K77Y) y 222 (E222Y) (SEQ ID NO: 17). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 15. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 88 (N88Y) y 255 (S255Y) (SEQ ID NO: 18). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 16. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 97 (M97Y) y 159 (H159Y) (SEQ ID NO: 19). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 17. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones con respecto a tirosina en las posiciones 185 (V185Y) y 427 (K427Y) (SEQ ID NO: 20). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir de residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46), y una etiqueta de estrep.

Figura 18. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 187 (V187Y) y 427 (K427Y) (SEQ ID NO: 21). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 19. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 183 (N183Y) y 427 (K427Y) (SEQ ID NO: 22). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figuras 20A - 20C. Alineación de secuencias de subtipo A de proteína F de VRS soluble (SEQ ID NO: 1) y ejemplos de proteínas F de VRS modificadas derivadas a partir del mismo (SEQ ID NOS: 11 - 21) que comprenden mutaciones simples o dobles a tirosina. Las tirosinas en los recuadros se introducen en la secuencia de subtipo A de WT. Cuando dos nuevas tirosinas se introducen en la misma secuencia, están normalmente destinadas a reticularse entre sí. Cuando sólo se introduce una sola tirosina, se espera que la tirosina se reticule normalmente con una tirosina endógena o preexistente en esa secuencia que se muestra en negrita y subrayada. Los residuos de aminoácidos 1-513 de cada secuencia son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 21. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende una mutación a tirosina en la posición 147 (A147Y) (SEQ ID NO: 23). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 22. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende una mutación a tirosina en la posición 220 (V220Y) (SEQ ID NO: 24). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

Figura 23. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende una mutación a tirosina en la posición 222 (E222Y) (SEQ ID NO: 25). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las

secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

5 Figura 24. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende una mutación a tirosina en la posición 223 (F223Y) (SEQ ID NO: 26). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir de residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

10 Figura 25. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende una mutación a tirosina en la posición 226 (K226Y) (SEQ ID NO: 27). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

15 Figura 26. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende una mutación a tirosina en la posición 469 (V469Y) (SEQ ID NO: 28). Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

20 Figura 27. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 222 (E222Y) y 469 (V469Y) (SEQ ID NO: 29) diseñada para facilitar la formación de múltiples reticulaciones de di-tirosina. Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

25 Figura 28. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (subtipo A) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 226 (K226Y) y 469 (V469Y) (SEQ ID NO: 30) diseñada para facilitar la formación de múltiples reticulaciones de di-tirosina. Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

30 Figura 29. Secuencia de aminoácidos de una proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 222 (E222Y) y 469 (V469Y) (SEQ ID NO: 31) diseñadas para facilitar la formación de múltiples reticulaciones de di-tirosina. Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

35 Figura 30. Secuencia de aminoácidos de proteína F de VRS soluble modificada (DS-Cav1) que comprende mutaciones a tirosina en las posiciones 226 (K226Y) y 469 (V469Y) (SEQ ID NO: 32) diseñadas para facilitar la formación de múltiples reticulaciones de di-tirosina. Los residuos de aminoácidos 1-513 son las secuencias centrales de la proteína F de VRS. Las secuencias C-terminales a partir del residuo de aminoácidos 514 en adelante comprenden un dominio de trimerización Foldon seguido de un sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep.

40 Figuras 31A - 31B. Diagramas de cinta que representan ejemplos de dos posiciones seleccionadas como diana en el trímero de proteína F de prefusión de VRS donde pueden introducirse reticulaciones de di-tirosina intraprotoméricas e interprotoméricas. (A) Vista lateral (y ampliación) de un enlace de di-tirosina interprotomérico F1-F1 modificado por ingeniería genética entre una tirosina introducida en la posición 185 (V185Y) y una tirosina introducida en la posición 427 (K427Y) (SEQ ID NO: 20). (B) Vista descendente (y ampliación) de un enlace de di-tirosina intraprotomérico F1-F1 modificado por ingeniería genética entre una tirosina endógena en la posición 198 (198Y) y una tirosina introducida en la posición 222 (E222Y) (SEQ ID NO: 13). Los residuos de tirosina seleccionados como diana se representan en recuadros cuadrados.

45 Figura 32. Alineación de la secuencia de proteína F de tipo A de VRS (SEQ ID NO: 47), y de las estructuras secundarias de prefusión y postfusión. Los cilindros y las flechas debajo de la secuencia representan α -hélices y hebras β , respectivamente. Una "X" debajo de la secuencia de aminoácidos indica dónde está desordenada o falta la estructura. El sombreado gris indica la posición de residuos que se mueven más de 5Å en la transición de la conformación de prefusión a la de postfusión. Los triángulos negros indican sitios de glicosilación ligada a N, el texto y las líneas por encima de la secuencia de aminoácidos indican los sitios antigénicos, y las flechas indican la posición de los sitios de escisión de furina. Figura de McLellan *et al.*, 2013, Science 340:1113-1117, materiales complementarios.

Figura 33. Constructo de ácido nucleico ilustrativo para la expresión de proteína F de VRS en células de mamíferos.

Figura 34. Reticulación de di-tirosina dirigida de la proteína F de VRS. Se transfectaron células HEK 293 con vectores que expresan variantes de VRS-F que permiten reticulaciones de DT intraprotómero F₁-F₁ (E222Y (SEQ ID NO: 13) y K226Y (SEQ ID NO: 15)), reticulaciones de DT intraprotómero F₁-F₂ (V469Y (SEQ ID NO: 16) y N88Y-S255Y (SEQ ID NO: 18)) o reticulaciones de DT intermoleculares F₁-F₁ (V185Y-K427Y (SEQ ID NO: 20))). Se muestran los valores de intensidad de fluorescencia con el fondo restado. (INT) intensidad, (DT) di-tirosina, (-) y (+) indican antes y después de la aplicación de la tecnología de reticulación de di-tirosina, respectivamente.

Figuras 35A - 35B. La reticulación de di-tirosina estabiliza el epítipo clave en la proteína F de prefusión de VRS. Se transfectaron células HEK 293 con constructos que expresan VRS-F silvestre (WT) o una variante que contiene la sustitución K226Y. (A) 72 h después de la transfección, los sobrenadantes se reticularon (DT) o se dejan sin reticular y la proteína total se midió mediante ELISA usando un anticuerpo humano anti-HRSV de alta afinidad (100 ng/ml en PBS) que reconoce formas de tanto pre- como post-fusión de VRS-F. (B) Tras el almacenamiento a 4 grados C durante 16 días, se midió la presentación del sitio σ mediante ELISA usando un anticuerpo monoclonal humano específico de preF (2 μ g/ml en PBS) que reconoce el sitio σ .

Figura 36. Alineación de secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS (SEQ ID NO: 33, identificado como "subtipo A-VRS_F_WT" en la figura) y subtipo B de VRS (SEQ ID NO: 34, identificado como "subtipo B_VRS_F_WT" en la figura). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana de F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 37. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células humanas (SEQ ID NO: 35). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 38. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de hámster (tales como células CHO) (SEQ ID NO: 36). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 39. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de insectos (tales como células de insectos SF9) (SEQ ID NO: 37). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 40. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de ratón (SEQ ID NO: 38). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 41. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo B de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células humanas (SEQ ID NO: 39). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 42. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo B de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de hámster (tales como células CHO) (SEQ ID NO: 40). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 43. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo B de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión

en células de insectos (tales como células de insectos SF9) (SEQ ID NO: 41). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 44. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo B de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de ratón (SEQ ID NO: 42). Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 45. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células humanas y también comprende mutaciones DS-CAV1 (SEQ ID NO: 43). Las mutaciones se muestran en negrita y con recuadros rodeando los codones mutados. Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 46. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células humanas y también comprende mutaciones DS (SEQ ID NO: 44). Las mutaciones se muestran en negrita y con recuadros rodeando los codones mutados. Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Figura 47. Secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de VRS (longitud completa, con dominios transmembrana y citoplasmático) a partir del subtipo A de VRS cuyos codones se han optimizado para su expresión en células humanas y también comprende mutaciones CAV1 (SEQ ID NO: 45). Las mutaciones se muestran en negrita y con recuadros rodeando los codones mutados. Los nucleótidos 1-1539 codifican para los residuos de aminoácidos 1-513, que son las secuencias de ectodominio centrales de la proteína F de VRS. Los nucleótidos 1540 en adelante comprenden secuencias que codifican para la región transmembrana F de VRS endógena y la cola citoplasmática.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona, en parte, polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS, tales como los que pueden estar o están estabilizados en una conformación de pre-fusión, proteínas y complejos proteicos, composiciones (tales como composiciones farmacéuticas y composiciones de vacunas) que comprenden tales polipéptidos, proteínas y complejos proteicos. La descripción da a conocer métodos de uso de tales polipéptidos, proteínas y complejos de proteínas, por ejemplo en métodos de vacunación, métodos terapéuticos y otros métodos. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos de VRS pueden ser útiles como inmunógenos conformacionalmente específicos, por ejemplo en vacunas contra VRS.

Definiciones y abreviaturas

Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, los términos “alrededor de” y “aproximadamente”, cuando se usan en relación con valores numéricos, significan dentro de + o - el 20% del valor indicado.

Tal como se usan en el presente documento, los términos “proteína” y “polipéptido” se utilizan indistintamente, a menos que se indique lo contrario. Tal como se usa en el presente documento, el término “complejo proteico” se refiere a un conjunto de dos o más proteínas o subunidades proteicas, tal como dos o más monómeros o protómeros. A menos que se indique lo contrario, toda descripción en el presente documento que se refiere a las proteínas se aplica igualmente a los complejos proteicos, y viceversa.

Tal como se usan en el presente documento, los términos “estabilizado” y “bloqueado” se utilizan indistintamente, por ejemplo en relación con el efecto de reticulación en la estabilización o bloqueo de la proteína F de VRS en su conformación de pre-fusión. Estos términos no requieren un 100% de estabilidad. En su lugar, estos términos indican un grado de estabilidad mejorada o aumentada. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cuando el término “estabilizado” se usa en relación con una proteína F de VRS reticulada en su conformación de pre-fusión, el término indica que la conformación de pre-fusión tiene mayor estabilidad de la que hubiera tenido antes o sin tal reticulación. La estabilidad, y la estabilidad relativa, pueden medirse de diversas maneras tal como se describe en otras secciones de esta solicitud, por ejemplo, basándose en la semivida de la conformación de pre-fusión de VRS. La mejora o el aumento de la estabilidad puede ser en cualquier grado útil o significativo para la aplicación prevista. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la estabilidad puede aumentarse alrededor del 10%, 25%, 50%, 100%, 200% (es decir, 2 veces), 300% (es decir, 3 veces), 400% (es decir, 4 veces), 500% (es decir, 5 veces), 1000% (es decir, 10 veces), o más.

Polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS

La proteína de fusión o "F" de VRS es la glicoproteína de la envuelta del virus sincitial respiratorio. La proteína F de VRS puede traducirse como un solo precursor de polipéptido en o bien una forma soluble (sin el dominio transmembrana) o bien unida a la membrana (con el dominio transmembrana). Este polipéptido forma un trímero, que puede, en algunas situaciones, escindirse proteolíticamente por una o más proteasas celulares en sitios de escisión de consenso de furina conservados para producir dos fragmentos unidos por disulfuro conocidos como fragmentos F1 (C-terminal) y F2 (N-terminal). El fragmento F2 incluye aproximadamente los primeros 83 aminoácidos del precursor F de VRS. O bien la proteína de precursor sin escindir, o bien un heterodímero de los fragmentos escindidos F2 y F1, puede formar un protómero F de VRS. Tres de tales protómeros se ensamblan para formar el complejo proteico F de VRS final, que es un homotrímero de tres protómeros.

El trímero de proteína F de VRS media la fusión de membranas virales y celulares. La conformación de pre-fusión del trímero de proteína F de VRS (que puede denominarse en el presente documento "pre-F") es altamente inestable (metaestable). Sin embargo, una vez que el virus VRS se acopla con la membrana celular, el trímero de proteína F de VRS experimenta una serie de cambios conformacionales y transiciones a una conformación de post-fusión altamente estable ("post-F"). Se sabe que la proteína F de VRS induce potentes anticuerpos neutralizantes (nAc) que se correlacionan con la protección frente a VRS. Por ejemplo, la inmunización con la proteína F de VRS induce nAc que son protectores en seres humanos (por ejemplo, Synagis). Varios epítomos neutralizantes (sitios I, II y IV) están presentes en la forma de post-fusión de la proteína F de VRS. Recientemente, sin embargo, Magro *et al.* mostraron que la incubación de sueros humanos con la proteína F de VRS en su conformación de post-fusión no pudo agotar la mayor parte de la actividad neutralizante frente a la proteína F, indicando la presencia de sitios antigénicos neutralizantes exclusivos de la conformación de pre-fusión (Magro *et al.* 2012, PNAS 109 (8): 3089). Por cristalografía de rayos X, se mapearon los epítomos reconocidos por palivizumab (Synagis), motavizumab (Numax) y el del anticuerpo monoclonal 101F descubierto más recientemente (McLellan *et al.*, 2010, J. Virol., 84 (23): 12236 a 441; y McLellan *et al.*, 2010, Nat. Struct. Mol. Biol., 17 de febrero (2): 248-50). Más recientemente, McLellan *et al.* (Science 340:1113-1117 (2013)) resolvieron la estructura de la proteína F en su conformación de pre-fusión, lo que reveló un epítomo neutralizante novedoso, sitio Ø, que sólo se muestra en la conformación de pre-fusión, y al que se unen una serie de anticuerpos, por ejemplo 5C4, que tienen hasta 50 veces más potencia neutralizante que Synagis y Numax. Por consiguiente, hay cada vez más evidencia de que un inmunógeno de vacuna contra VRS en esta conformación de pre-fusión y que muestra el sitio Ø podría provocar una protección efectiva. Sin embargo, hasta la fecha la naturaleza altamente inestable (metaestable) de la conformación de pre-fusión de la proteína F de VRS ha demostrado ser una barrera significativa para el desarrollo de dicha vacuna. Basándose en una comparación de las estructuras F de VRS de pre y post-fusión de McLellan *et al.* parece haber dos regiones de la proteína F que experimentan grandes cambios conformacionales (>5 Å). Estas regiones se encuentran en los extremos N- y C-terminales de la subunidad F1 (residuos 137-216 y 461-513, respectivamente) (véase la figura 32). En la estructura cristalina de la proteína F de VRS mantenida en su conformación de pre-fusión por el anticuerpo D25 unido al epítomo de sitio Ø, los residuos F1 C-terminales pueden estabilizarse en la conformación de pre-fusión añadiendo un dominio de trimerización Foldon. Para estabilizar la región de N-terminal de F1, McLellan *et al.* encontraron que la unión del anticuerpo D25 era suficiente para estudios cristalográficos. Sin embargo, para la producción de un inmunógeno de vacuna se necesitan estrategias de estabilización alternativas, tales como aquellas que no requieren que la proteína F de VRS esté unida a una molécula de anticuerpo grande. Un enfoque alternativo que se ha intentado implicaba la introducción de mutaciones de cisteína emparejadas (para formación de enlaces disulfuro) y mutaciones de relleno de cavidades cerca del extremo N-terminal de F1 (véase la variante de proteína F de VRS de DS-Cav1 descrita en McLellan *et al.* (2013) Science 342:592-598). Sin embargo, el análisis cristalográfico de tales variantes reveló que la estructura estaba sólo parcialmente en la conformación de pre-fusión. Por consiguiente, se necesita una modificación por ingeniería genética adicional de la proteína F de VRS para lograr un inmunógeno para el desarrollo de vacunas clínicas.

La presente invención proporciona determinados enfoques alternativos para estabilizar la proteína F de VRS en su conformación de pre-fusión, incluyendo proporcionar ubicaciones específicas dentro de la proteína F de VRS que pueden estar o deben estar reticuladas, y proporcionar formas mutantes de la proteína F de VRS que pueden facilitar la formación de tales reticulaciones. Tales reticulaciones y mutaciones pueden utilizarse solas (por ejemplo, en el contexto de una proteína F de VRS silvestre o en el contexto de una proteína F de VRS que no comprende mutaciones artificiales u otras modificaciones artificiales), o pueden utilizarse en combinación con una o más mutaciones, modificaciones, reticulaciones o estrategias de estabilización artificiales. Por tanto, por ejemplo, los enfoques descritos en el presente documento pueden utilizarse conjuntamente con el uso de dominios de trimerización Foldon añadidos, anticuerpos estabilizantes (tales como D25) y/u otras modificaciones o mutaciones parcial o potencialmente estabilizadoras, tales como aquellas en la variante de proteína F de VRS de DS-Cav1 descrita por McLellan *et al.*

Los presentes inventores han realizado un amplio análisis de la estructura de la proteína F de VRS y han desarrollado una variedad de estrategias de diseño novedosas y polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS novedosos modificados por ingeniería genética. La presente descripción también proporciona métodos para preparar y utilizar tales polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona ubicaciones específicas dentro de la secuencia de aminoácidos de la proteína F de VRS en las que, o entre las cuales, pueden realizarse reticulaciones dirigidas para "bloquear" la proteína F de VRS en su conformación

de pre-F. En algunas realizaciones, las reticulaciones dirigidas son reticulaciones de di-tirosina. Cuando se utilizan reticulaciones de di-tirosina, la presente invención proporciona residuos de aminoácidos específicos (o pares de residuos de aminoácidos) que o bien comprenden un residuo de tirosina preexistente o bien pueden estar o están mutados a un residuo de tirosina de manera que pueden realizarse reticulaciones de di-tirosina.

A lo largo de la presente memoria descriptiva de patente, cuando se hace referencia a residuos de aminoácidos específicos o regiones de aminoácidos específicas en la proteína F de VRS haciendo referencia a su número o números de residuo de aminoácidos (tal como los residuos de aminoácidos 77, 88, 97 o 222, por ejemplo), y a menos que se indique lo contrario, la numeración se basa en las secuencias de aminoácidos de VRS proporcionadas en el presente documento en la lista de secuencias y en las figuras (véase, por ejemplo, la figura 6 y SEQ ID NO: 1). Sin embargo, debe indicarse, y un experto en la técnica entenderá, que diferentes secuencias de VRS pueden tener diferentes sistemas de numeración, por ejemplo, si existen residuos de aminoácidos adicionales añadidos o retirados en comparación con SEQ ID NO: 1. Como tal, debe entenderse que cuando se hace referencia a residuos de aminoácidos específicos por su número, la descripción no se limita solo a los aminoácidos ubicados precisamente en esa posición numerada cuando se cuenta desde el comienzo de una secuencia de aminoácidos dada, sino que está previsto el residuo de aminoácidos equivalente/correspondiente en todas y cada una de las secuencias F de VRS, incluso si ese residuo no está en la misma posición numerada precisa, por ejemplo si la secuencia de VRS es más corta o más larga que SEQ ID NO: 1, o tiene inserciones o supresiones en comparación con SEQ ID NO: 1. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente cuál es la posición de aminoácidos correspondiente/equivalente a cualquiera de los residuos numerados específicos mencionados en el presente documento, por ejemplo, alineando una secuencia F de VRS dada con SEQ ID NO: 1 o con una cualquiera de las otras secuencias de aminoácidos F de VRS proporcionadas en el presente documento.

La presente invención proporciona secuencias de aminoácidos de polipéptido y proteína F de VRS, y composiciones que comprenden tales secuencias. Sin embargo, la invención no se limita a las secuencias F de VRS específicas dadas a conocer en el presente documento. En su lugar, la presente invención contempla variaciones, modificaciones y derivados de las secuencias específicas proporcionadas en el presente documento.

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la presente invención pueden derivarse de (o pueden comprender, consistir esencialmente en o consistir en) las secuencias de aminoácidos de cualquier secuencia de polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS adecuada conocida en la técnica, incluyendo, sin limitación: la secuencia de aminoácidos de subtipo A de VRS (por ejemplo, en forma soluble (SEQ ID NO: 1, o residuos de aminoácidos 1-513 de la misma) o en una forma de longitud completa (SEQ ID NO: 2)); la secuencia de aminoácidos de subtipo B de VRS (por ejemplo, en forma soluble (SEQ ID NO: 3, o residuos de aminoácidos 1-513 de la misma) o en forma de longitud completa (SEQ ID NO: 4)); la secuencia de aminoácidos de DS-Cav1 de variante de VRS (por ejemplo, en forma soluble (SEQ ID NO: 5, o residuos de aminoácidos 1-513 de la misma) o en forma de longitud completa (SEQ ID NO: 6)); la secuencia de aminoácidos de Cav1 de variante de VRS (por ejemplo, en forma soluble (SEQ ID NO: 7, o residuos de aminoácidos 1-513 de la misma) o en forma de longitud completa (SEQ ID NO: 8)); o la secuencia de aminoácidos de DS de variante de VRS (por ejemplo, en forma soluble (SEQ ID NO: 9, o residuos de aminoácidos 1-513 de la misma) o en forma de longitud completa (SEQ ID NO: 10)), o cualquier fragmento de las mismas. En algunas realizaciones, las polipéptidos y proteínas F de VRS de la presente invención pueden derivarse de (o pueden comprender, consistir esencialmente en o consistir en) secuencias de aminoácidos que tienen al menos alrededor del 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de secuencia con cualquier secuencia F de VRS conocida o secuencias de ectodominio F de VRS (incluyendo pero sin limitarse a residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID Nos:1 - 10, o SEQ ID Nos:1 - 10), o con secuencias F de VRS de cualquier grupo, subgrupo, familia, subfamilia, tipo, subtipo, género, especie, cepa y/o clado de VRS conocido o cualquier fragmento de las mismas. Debe indicarse que los residuos de aminoácidos 1-513 de las diversas secuencias F de VRS proporcionadas en el presente documento son secuencias de ectodominio F de VRS centrales. Residuos de aminoácidos 514 en adelante en todas las secuencias de este tipo comprenden dominios adicionales que pueden estar presentes en algunas realizaciones pero no en otras. En algunas realizaciones pueden estar presentes variantes de tales dominios adicionales. Por ejemplo, los residuos de aminoácidos 514 en adelante en todas las secuencias F de VRS solubles proporcionadas en el presente documento comprenden un dominio de trimerización Foldon opcional, sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6x His (SEQ ID NO: 46) y una etiqueta de estrep. En algunas realizaciones estas secuencias adicionales pueden estar ausentes, modificadas, redispuestas o reemplazadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones pueden utilizarse diferentes dominios de trimerización, o pueden utilizarse diferentes etiquetas de epítipo. De manera similar, residuos de aminoácidos 514 en adelante en todas las secuencias F de VRS de "longitud completa" o unidas a la membrana proporcionadas en el presente documento comprenden una región transmembrana de proteína F de VRS opcional y cola citoplasmática. En algunas realizaciones estas secuencias adicionales pueden estar ausentes, modificadas, redispuestas o reemplazadas, por ejemplo con diferentes dominios transmembrana o citoplasmáticos.

En algunas realizaciones la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que comprenden una o más reticulaciones introducidas artificialmente, donde al menos uno de los siguientes residuos de aminoácidos dentro de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS está reticulado artificialmente con otro residuo de aminoácidos en la proteína F de VRS: Y33, K77, N88, M97, A147, S150, S155, H159, N183, V185, V187, Y198, V220, E222, F223, K226, S255, Y286, K427 y V469. En algunas de tales realizaciones

la reticulación es una reticulación de di-tirosina.

En algunas realizaciones la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que comprenden una o más reticulaciones introducidas artificialmente, donde tales reticulaciones introducidas artificialmente conectan dos de los siguientes residuos de aminoácidos: Y33, K77, N88, M97, A147, S150, S155, H159, N183, V185, V187, Y198, V220, E222, F223, K226, S255, Y286, K427 y V469. En algunas de tales realizaciones la reticulación es una reticulación de di-tirosina.

En algunas realizaciones la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS en los que los residuos de aminoácidos en uno o más de los siguientes pares de aminoácidos se reticulan entre sí mediante una reticulación introducida artificialmente: 147/286, 198/220, 198/222, 198/223, 198/226, 33/496, 77/222, 88/255, 97/159, 183/427, 185/427 y 187/427. En algunas de tales realizaciones, la reticulación es una reticulación de di-tirosina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que comprenden una reticulación introducida artificialmente entre dos de las siguientes regiones: el extremo N-terminal móvil F1 (residuos 137-216), α 2 (residuos 148-160), α 3 (residuos 163-173), β 3 (residuos 176-182), β 4 (residuos 186-195), α 4 (residuos 197-211), el extremo C-terminal móvil F1 (residuos 461-513), β 22 (residuos 464-471), α 9 (residuos 474-479), β 23 (residuos 486-491) y α 10 (residuos 493-514). En algunas de tales realizaciones, la reticulación es una reticulación de di-tirosina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que comprenden una reticulación introducida artificialmente entre dos de las siguientes regiones: residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 67 hasta alrededor de la posición 87, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 78 hasta alrededor de la posición 98, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 87 hasta alrededor de la posición 107, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 137 hasta alrededor de la posición 157, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 140 hasta alrededor de la posición 160, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 145 hasta alrededor de la posición 165, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 149 hasta alrededor de la posición 169, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 173 hasta alrededor de la posición 193, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 175 hasta alrededor de la posición 195, desde alrededor de la posición 177 hasta alrededor de la posición 197, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 188 hasta alrededor de la posición 208, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 210 hasta alrededor de la posición 230, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 212 hasta alrededor de la posición 232, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 213 hasta alrededor de la posición 233, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 216 hasta alrededor de la posición 236, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 245 hasta alrededor de la posición 265, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 276 hasta alrededor de la posición 296, residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 417 hasta alrededor de la posición 437 y residuos de aminoácidos desde alrededor de la posición 459 hasta alrededor de la posición 479. En algunas de tales realizaciones la reticulación es una reticulación de di-tirosina.

En realizaciones en las que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la descripción comprenden una o más reticulaciones de di-tirosina, pueden introducirse reticulaciones de di-tirosina entre dos residuos de tirosina endógenos, entre dos residuos de tirosina que se originan a partir de mutaciones "a tirosina" o entre un residuo de tirosina que se origina a partir de una mutación "a tirosina" y un residuo de tirosina endógeno. En algunas realizaciones, se introduce más de una reticulación de di-tirosina en un polipéptido o proteína F de VRS.

En realizaciones en las que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención comprenden una o más reticulaciones de di-tirosina, los ejemplos no limitativos de posiciones de aminoácidos donde puede introducirse una mutación "a tirosina" incluyen K77, N88, M97, A147, S150, S155, H159, N183, V185, V187, V220, E222, F223, K226, S255, K427 y V469 (véase la figura 6), o cualquier combinación de las mismas.

En realizaciones en las que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención comprenden una o más reticulaciones de di-tirosina, los ejemplos no limitativos de residuos de tirosina endógenos o preexistentes que pueden utilizarse para formar una reticulación de di-tirosina incluyen Y33, Y198 y Y286 (véase la figura 6), o cualquier combinación de los mismos.

En realizaciones en las que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la descripción comprenden una o más reticulaciones de di-tirosina, los ejemplos no limitativos de pares de residuos entre los que puede introducirse una reticulación de di-tirosina incluyen 147/286, 198/220, 198/222, 198/223, 198/226, 33/496, 77/222, 88/255, 97/159, 183/427, 185/427 y 187/427, o cualquier combinación de los mismos.

En realizaciones en las que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la descripción comprenden una o más reticulaciones de di-tirosina, los ejemplos no limitativos de regiones o estructuras secundarias de la proteína F de VRS a partir de la que pueden seleccionarse aminoácidos para sustitución de tirosina y/o reticulación de di-tirosina incluyen el extremo N-terminal móvil F1 (residuos 137-216), α 2 (residuos 148-160), α 3 (residuos 163-173), β 3

(residuos 176-182), β 4 (residuos 186-195), α 4 (residuos 197-211), el extremo C-terminal móvil F1 (residuos 461-513), β 22 (residuos 464-471), α 9 (residuos 474 -479), β 23 (residuos 486-491) y α 10 (residuos 493-514). Los ejemplos no limitativos de otras regiones de proteína F de VRS a partir de las que pueden seleccionarse uno o más aminoácidos para la sustitución y/o reticulación de tirosina incluyen residuos desde alrededor de la posición 67 hasta alrededor de la posición 87, desde alrededor de la posición 78 hasta alrededor de la posición 98, desde alrededor de la posición 87 hasta alrededor de la posición 107, desde alrededor de la posición 137 hasta alrededor de la posición 157, desde alrededor de la posición 140 hasta alrededor de la posición 160, desde alrededor de la posición 145 hasta alrededor de la posición 165, desde alrededor de la posición 149 hasta alrededor de la posición 169, desde alrededor de la posición 173 hasta alrededor de la posición 193, desde alrededor de la posición 175 hasta alrededor de la posición 195, desde alrededor de la posición 177 hasta alrededor de la posición 197, desde alrededor de la posición 188 hasta alrededor de la posición 208, desde alrededor de la posición 210 hasta alrededor de la posición 230, desde alrededor de la posición 212 hasta alrededor de la posición 232, desde alrededor de la posición 213 hasta alrededor de la posición 233, desde alrededor de la posición 216 hasta alrededor de la posición 236, desde alrededor de la posición 245 hasta alrededor de la posición 265, desde alrededor de la posición 276 hasta alrededor de la posición 296, desde alrededor de la posición 417 hasta alrededor de la posición 437 y desde alrededor de la posición 459 hasta alrededor de la posición 479.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que se derivan de, comprenden, consisten esencialmente en o consisten en, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 o 32, o residuos de aminoácidos 1-513 de las mismas, (cada uno de los cuales son mutantes de la secuencia de aminoácidos F de VRS que comprenden una o más mutaciones "a tirosina" para facilitar la reticulación de di-tirosina y para facilitar el "bloqueo" de la proteína F de VRS en su conformación de pre-F), o cualquier fragmento de las mismas, tales como fragmentos que comprenden residuos de aminoácidos 1-513 de las mismas, y/o fragmentos que comprenden los fragmentos F1 o F2 de la proteína F de VRS, o cualquier otro fragmento de la proteína F de VRS que pueden generarse proteolíticamente y/o que pueden ensamblarse o formar parte de una proteína F de VRS funcional. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que se derivan de, comprenden, consisten esencialmente en o consisten en, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos alrededor del 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad secuencial con SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 o 32, o residuos de aminoácidos 1-513 de las mismas, o cualquier fragmento de las mismas.

Los ejemplos no limitativos de posiciones de aminoácidos en un polipéptido o proteína F de VRS a las que pueden dirigirse las reticulaciones de di-tirosina incluyen Y33 (residuo de Tyr preexistente) y V469Y (sustitución a Tyr), donde se formará una unión intraprotómero F2-F1, las posiciones Y198 (residuo de Tyr preexistente) y E222Y (sustitución a Tyr), donde se formará una unión intramolecular F1-F1, las posiciones K77Y (sustitución a Tyr) y E222Y (sustitución a Tyr), donde se formaría una unión interprotómero F2-F1, las posiciones N88Y (sustitución a Tyr) y S255Y (sustitución a Tyr), donde se formaría una unión interprotómero F2-F1, las posiciones M97Y (sustitución a Tyr) y H159Y (sustitución a Tyr), donde se formaría una unión interprotómero F2-F1, las posiciones V185Y (sustitución a Tyr) y K427Y (sustitución a Tyr), donde se formaría una unión interprotómero F1-F1, y las posiciones N183Y (sustitución a Tyr) y K427Y (sustitución a Tyr), donde se formaría una unión interprotómero F1-F1. Estas posiciones se identificaron inicialmente por el análisis de la estructura a nivel atómico de la proteína F de prefusión de VRS. Otros ejemplos no limitativos incluyen las posiciones A147Y (sustitución a Tyr) y Y286 (Tyr preexistente), Y198 (residuo de Tyr preexistente) y V220Y (sustitución a Tyr), Y198 (residuo de Tyr preexistente) y F223Y (sustitución a Tyr), Y198 (residuo de Tyr preexistente) y K226Y (sustitución a Tyr), V187Y (sustitución a Tyr) y K427Y (sustitución a Tyr) y N88Y (sustitución a Tyr) y S255Y (sustitución a Tyr). En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la invención comprenden una de las reticulaciones de di-tirosina mencionadas anteriormente. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la invención comprenden dos de las reticulaciones de di-tirosina mencionadas anteriormente. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la invención comprenden tres de las reticulaciones de di-tirosina mencionadas anteriormente. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la descripción comprenden cuatro de las reticulaciones de di-tirosina mencionadas anteriormente. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la descripción comprenden cinco o más de las reticulaciones de di-tirosina mencionadas anteriormente. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la descripción comprenden cualquier combinación o una o más de las reticulaciones de di-tirosina mencionadas anteriormente.

Los ejemplos no limitativos de proteínas F de VRS diseñadas para tener más de una reticulación de di-tirosina incluyen proteínas F de VRS con dos mutaciones "a tirosina" (E222Y/V469Y), por ejemplo, derivadas a partir del subtipo A (SEQ ID NO: 29) o DS-Cav1 (SEQ ID NO: 31) donde la tirosina sustituida en la posición 222 está diseñada para emparejarse con la tirosina endógena en la posición 198, y la tirosina sustituida en la posición 469 está diseñada para emparejarse con la tirosina endógena en la posición 33, estabilizando de ese modo la proteína F de VRS mediante la formación de dos reticulaciones de di-tirosina; y proteínas F de VRS con dos mutaciones a tirosina (K226Y/V469Y), por ejemplo, derivadas del subtipo A (SEQ ID NO: 30) o DS-Cav1 (SEQ ID NO: 32) donde la tirosina sustituida en la posición 226 está diseñada para emparejarse con la tirosina endógena en la posición 198, y la tirosina sustituida en la posición 469 está diseñado para emparejarse con la tirosina endógena en la posición 33, estabilizando de ese modo

la proteína F por la formación de dos reticulaciones de di-tirosina.

Tal como se describió anteriormente, cada protómero del trímero F de VRS maduro puede escindirse para dar dos cadenas polipeptídicas distintas denominadas F1 y F2 que se asocian de manera no covalente para formar un protómero. Una unión entre un polipéptido F1 y un polipéptido F2 dentro del mismo protómero es un ejemplo de unión intermolecular y unión intraprotómero. La descripción proporciona polipéptidos y proteínas F de VRS a modo de ejemplo que comprenden reticulaciones diseñadas para estabilizar esta interacción, incluyendo, sin limitación, SEQ ID NO:16 (V469Y, donde la tirosina introducida en la posición 469 está diseñada para emparejarse con la tirosina endógena 33), SEQ ID NO:17 (K77Y/E222Y, diseñada para formar un par de di-tirosina entre las tirosinas introducidas), SEQ ID NO:18 (N88Y/S255Y, diseñada para formar un par de di-tirosina entre las tirosinas introducidas), y SEQ ID NO:19 (M97Y/H159Y, diseñada para formar un par de di-tirosina entre las tirosinas introducidas) así como polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS derivados de tales secuencias y que incluyen las mutaciones "a tirosina" específicas presentes en tales secuencias. La descripción también proporciona polipéptidos y proteínas F de VRS a modo de ejemplo que comprenden reticulaciones diseñadas para contener dos protómeros del trímero juntos (unión intermolecular, interprotómero), incluyendo sin limitación, SEQ ID NO:20 (V185Y/K427Y), SEQ ID NO:21 (V187Y/K427Y) SEQ ID NO:22 (N183Y/K427Y), así como polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS derivados de tales secuencias y que incluyen las mutaciones "a tirosina" específicas presentes en tales secuencias. En cada una de estas proteínas, una tirosina introducida en un protómero está diseñada para emparejarse con la otra tirosina introducida en el protómero adyacente. Por ejemplo, en SEQ ID NO:20 (V185Y/K427Y), la tirosina en la posición 185 sobre el "protómero A" formaría una unión de di-tirosina con la tirosina en la posición 427 sobre el "protómero B" (véase la figura 31A).

En algunas realizaciones, el polipéptido F1 de una proteína F de VRS se reticula con el polipéptido F2 del mismo protómero (unión intermolecular/intraprotómero). En algunas realizaciones, el polipéptido F1 se reticula intramolecularmente (por ejemplo, ambas tirosinas de la reticulación se ubican dentro del mismo polipéptido F1). En algunas realizaciones, el polipéptido F2 se reticula intramolecularmente (por ejemplo, ambas tirosinas de la reticulación se ubican dentro del mismo polipéptido F1). En algunas realizaciones, el polipéptido F1 de la proteína F de prefusión de VRS se reticula con el polipéptido F1 de un protómero adyacente (unión interprotómero). En algunas realizaciones, el polipéptido F1 de la proteína F de prefusión de VRS se reticula con el polipéptido F2 de un protómero adyacente (unión interprotómero).

La transición de las estructuras pre-F a post-F implica una redistribución muy significativa de partes de la proteína de VRS, en particular los extremos C y N-terminales de F₁, mientras que el resto de proteína se mueve significativamente menos. Con el fin de estabilizar la conformación de pre-F mediante los métodos de esta invención, partes de la proteína que se mueven significativamente (por ejemplo, más de 5Å) pueden unirse a partes de la proteína que se mueven significativamente menos (por ejemplo, menos de 5Å), o bien entre dos residuos de la cadena F₁ de un solo protómero, entre dos residuos de la cadena F₂ de un solo protómero, entre un residuo de la cadena F₁ y un residuo de la cadena F₂ dentro del mismo protómero, o bien entre los residuos F₁ y/o F₂ de dos protómeros adyacentes. Alternativamente, partes de la proteína que se mueven significativamente (por ejemplo, más de 5Å) pueden unirse a otras partes de la proteína que también se mueven significativamente (por ejemplo, más de 5Å), también o bien entre dos residuos de la cadena F₁, entre dos residuos de la cadena F₂, entre un residuo de la cadena F₁ y un residuo de la cadena F₂ de dentro del mismo protómero, o bien entre los residuos F₁ y/o F₂ de dos protómeros adyacentes. La unión covalente de partes móviles a o bien partes móviles o bien no móviles impide la transición de la estructura de prefusión a o bien estructuras intermedias o bien a la estructura de postfusión.

Las posiciones en F₂ que se mueven más de 5Å en la transición de prefusión a postfusión incluyen las posiciones 62 a 76, mientras que las posiciones 26 a 61 y 77 a 97 se mueven menos de 5Å (y las posiciones 98-109 aún no se han determinado en la estructura de pre-fusión). Las posiciones en F₁ que se mueven más de 5Å en la transición de pre-F a post-F incluyen las posiciones 137 a 216 (extremo N-terminal móvil F₁) y 461 a 513 (extremo C-terminal móvil F₁). El extremo N-terminal móvil F₁ de la estructura de preF comprende además las estructuras secundarias α 2 (posiciones 148 a 160), α 3 (posiciones 163 a 173), α 3 (posiciones 176 a 182), α 4 (posiciones 186 a 195) y α 4 (posiciones 197 a 211) que pueden estar cada una o bien unidas entre sí, o bien a otras partes móviles o no móviles dentro del mismo protómero o entre protómeros del trímero de proteína F (complejo que consiste en tres protómeros). El extremo C-terminal móvil F₁ de la estructura de PreF comprende además las estructuras secundarias α 22 (posiciones 464 a 471), α 9 (posiciones 474 a 479), α 3 (posiciones 486 a 491) y α 10 (posiciones 493 a 514) que pueden estar cada una o bien unidas entre sí, o bien a otras partes móviles o no móviles dentro del mismo protómero o entre protómeros del trímero de proteína F. (Véase la figura 32).

En algunas realizaciones (incluyendo todas de las descritas anteriormente, y aquellas que implican polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que tienen cualquiera de las secuencias de aminoácidos específicas enumeradas en el presente documento, y aquellas que implican variantes o fragmentos de tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que tienen menos del 100% de identidad con la secuencia de aminoácidos específica proporcionada en el presente documento), los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención deben tener una o más propiedades deseadas como ser capaces de (1) formar la conformación de pre-F, (2) estar "bloqueado" en la conformación de pre-F mediante reticulación, (3) unirse a un anticuerpo específico de pre-F, (4) unirse a un anticuerpo que se une al sitio $\emptyset$, (5) unirse a un anticuerpo neutralizante, (6) unirse a un anticuerpo

ampliamente neutralizante, (7) unirse a un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en D25, AM22, 5C4, 101F (8) unirse a palivizumab (Synagis), (9) unirse a y/o activar un receptor de células B, (10) provocar una respuesta de anticuerpos en un animal, (11) provocar una respuesta de anticuerpos protectores en un animal, (12) provocar la producción de anticuerpos neutralizantes en un animal, (13) provocar la producción de anticuerpos ampliamente neutralizantes en un animal, (14) provocar la producción de anticuerpos que reconocen epítomos neutralizantes cuaternarios (QNE) en un animal y/o (15) provocar una respuesta inmunitaria protectora en un animal.

A menos que se indique lo contrario, toda descripción en el presente documento que se refiera a polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS específicos, se refiere igualmente a todos los homólogos, ortólogos, análogos, derivados, formas mutantes, fragmentos, quimeras, proteínas de fusión, etc. de los mismos, tales como aquellos que tienen determinadas propiedades o rasgos deseadas (por ejemplo, aquellos que están en la conformación de pre-F, o que son capaces de formar parte de un complejo que tiene la conformación de pre-F deseada, o que tienen propiedades funcionales deseadas, incluyendo, pero sin limitarse a, ser capaces de unirse a, o provocar la producción de, uno o más anticuerpos anti-VRS, tales como anticuerpos que son específicos para la conformación de pre-F de VRS y/o que se unen al sitio $\emptyset$).

De manera similar, toda descripción en el presente documento que se refiere a polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos específicos, polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos (por ejemplo, aquellos que tienen secuencias de aminoácidos específicos o aquellos de un tipo, subtipo o cepa de VRS específico) se refiere igualmente a otras formas relacionadas de tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos que pueden existir en la naturaleza (por ejemplo, en diferentes tipos, subtipos o cepas de VRS) o que están relacionadas con las secuencias específicas proporcionadas en el presente documento pero se han alterado artificialmente de alguna manera, tal como por medios recombinantes, medios químicos o cualquier otro medio. Los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos descritos en el presente documento pueden tener, o pueden derivarse de, las secuencias de aminoácidos y/o nucleótidos de cualquier polipéptido, proteína y/o complejo proteico de VRS adecuado conocido en la técnica. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden ser, o pueden derivarse de, derivados y/o análogos de polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS específicos descritos en el presente documento o conocidos en la técnica, incluyendo proteínas que son sustancialmente homólogas a cualquiera de tales proteínas, o fragmentos de las mismas (por ejemplo, en diversas realizaciones, aquellas que tienen al menos alrededor del 40% o 50% o 60% o 70% o 75% o 80% o 85% o 90% o 95% o 98% o 99% de identidad con una secuencia de aminoácidos o ácido nucleico de cualquier polipéptido, proteína y/o complejo proteico F de VRS específico descrito en el presente documento o conocido en la técnica, cuando se alinea utilizando cualquier método adecuado conocido por un experto habitual en la técnica, tal como, por ejemplo, utilizando un programa informático de homología conocido en la técnica) o cuyo ácido nucleico codificante es capaz de hibridarse con una secuencia de ácido nucleico codificante de una proteína de la invención, en condiciones de alta rigurosidad, moderada rigurosidad o baja rigurosidad.

En algunas realizaciones, la descripción proporciona fragmentos de los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS específicos descritos en el presente documento, tales como los que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en, al menos alrededor de 10 aminoácidos, 20 aminoácidos, 50 aminoácidos, 100 aminoácidos, 200 aminoácidos o 500 aminoácidos.

En algunas realizaciones, uno o más residuos de aminoácidos dentro de un polipéptido, proteína y/o complejo proteico F de VRS específico tal como se describe en el presente documento, o tal como se conoce en la técnica, pueden delecionarse, añadirse o sustituirse por otro aminoácido. En realizaciones en las que se introducen tales mutaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS pueden microsecuenciarse para determinar una secuencia de aminoácidos parcial. En otras realizaciones pueden secuenciarse las moléculas de ácido nucleico que codifican para los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS para identificar y/o confirmar la introducción de mutaciones.

En algunas realizaciones, uno o más residuos de aminoácidos pueden sustituirse por otro aminoácido que tiene una polaridad similar y que puede actuar como equivalente funcional, dando como resultado una alteración silenciosa. En algunas realizaciones, pueden seleccionarse sustituciones por un aminoácido dentro de la secuencia a partir de otros miembros de la clase a la que pertenece el aminoácido, por ejemplo, para crear una sustitución conservativa. Por ejemplo, los aminoácidos no polares (hidrofóbicos) incluyen alanina, leucina, isoleucina, valina, prolina, fenilalanina, triptófano y metionina. Los aminoácidos neutrales polares incluyen glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina y glutamina. Los aminoácidos cargados positivamente (básicos) incluyen arginina, lisina e histidina. Los aminoácidos cargados (ácidos) negativamente incluyen ácido aspártico y ácido glutámico. Tales sustituciones se entienden generalmente que son sustituciones conservativas.

En algunas realizaciones pueden utilizarse aminoácidos artificiales, sintéticos o no clásicos o análogos de aminoácidos químicos para preparar los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención. Los aminoácidos no clásicos incluyen, pero no se limitan a, los isómeros D de los aminoácidos comunes, fluoro-aminoácidos y aminoácidos de "diseño" tales como β -metilaminoácidos, Cy-metilaminoácidos, N γ -metilaminoácidos y análogos de aminoácidos en general. Los ejemplos no limitativos adicionales de aminoácidos no clásicos incluyen, pero no se limitan a: ácido α -aminocaprílico, Acpa; (S)-2-aminoetil-L-cisteína/HCl, Aecys; aminofenilacetato, Afa; ácido 6-aminoheptanoico, Ahx; ácido γ -aminoisobutírico y ácido α -aminoisobutírico, Aiba, aloisoleucina, Aile; L-alilglicina, Alg;

ácido 2-aminobutírico, ácido 4-aminobutírico y ácido α -aminobutírico, Aba; p-aminofenilalanina, Aphe; b-alanina, Bal; p-bromofenilalanina, Brphe; ciclohexilalanina, Cha; citrulina, Cit; β -cloroalanina, Clala; cicloleucina, Cle; p-clorofenilalanina, Clphe; ácido cisteico, Cya; ácido 2,4-diaminobutírico, Dab; ácido 3-aminopropiónico y ácido 2,3-diaminopropiónico, Dap; 3,4-deshidroprolina, Dhp; 3,4-dihidroxiifenilalanina, Dhphe; p-fluorofenilalanina, Fphe; ácido D-glucosaamínico, Gaa; homoarginina, Hag; δ -hidroxilisina/HCl, Hlys; DL- β -hidroxinorvalina, Hnvl; homoglutamina, Hog; homofenilalanina, Hoph; homoserina, Hos; hidroxiprolina, Hpr; p-yodofenilalanina, Iphe; isoserina, Ise; α -metileucina, Mle; cloruro de DL-metionina-S-metilsulfonio, Msmet; 3-(1-naftil)alanina, 1Nala; 3-(2-naftil)alanina, 2Nala; norleucina, Nle; N-metilalanina, Nmala; Norvalina, Nva; O-bencilserina, Obser; O-benciltirosina, Obtyr; O-etiltirosina, Oetyr; O-metilserina, Omser; O-metiltreonina, Omthr; O-metiltirosina, Omtyr; ornitina, Orn; fenilglicina; penicilamina, Pen; ácido piroglutámico, Pga; ácido pipercolico, Pip; sarcosina, Sar; t-butilglicina; t-butilalanina; 3,3,3-trifluoralanina, Tfa; 6-hidroxidopa, Thphe; L-vinilglicina, Vig; dihidroxocloruro de ácido (-)-(2R)-2-amino-3-(2-aminoetilsulfonil)propanoico, Aaspa; ácido (2S)-2-amino-9-hidroxi-4,7-dioxananoico, Ahdna; ácido (2S)-2-amino-6-hidroxi-4-oxahexanoico, Ahoha; ácido (-)-(2R)-2-amino-3-(2-hidroxietilsulfonil)propanoico, Ahsopa; ácido (-)-(2R)-2-amino-3-(2-hidroxietilsulfonil)propanoico, Ahspa; ácido (2S)-2-amino-12-hidroxi-4,7,10-trioxadodecanoico, Ahtda; ácido (2S)-2,9-diamino-4,7-dioxananoico, Dadna; ácido (2S)-2,12-diamino-4,7,10-trioxadodecanoico, Datda; (S)-5,5-difluoronorleucina, Dfni; (S)-4,4-difluoronorvalina, Dfnv; ácido (3R)-1-1-dioxo-[1,4]tiazian-3-carboxílico, Dtca; (S)-4,4,5,5,6,6,6-heptafluoronorleucina, Hfni; (S)-5,5,6,6,6-pentafluoronorleucina, Pfnl; (S)-4,4,5,5,5-pentafluoronorvalina, Pfnv; y ácido (3R)-1,4-tiazinano-3-carboxílico, Tca. Además, el aminoácido puede ser D (dextrógiro) o L (levógiro). Para una revisión de aminoácidos clásicos y no clásicos, véase Sandberg *et al.*, 1998 (Sandberg *et al.*, 1998. New chemical descriptors relevant for the design of biologically active peptides. A multivariate characterization of 87 amino acids. J Med Chem 41(14): págs. 2481-91).

Ácidos nucleicos

Además de proporcionar determinados polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS, tal como se describe en el presente documento, la presente invención también proporciona ácidos nucleicos que codifican para tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS, y composiciones y vectores que comprenden tales ácidos nucleicos. Tales ácidos nucleicos pueden obtenerse o prepararse utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, pueden obtenerse moléculas de ácido nucleico que codifican para polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS a partir de ADN clonado o prepararse por síntesis química. En algunas realizaciones los ácidos nucleicos pueden obtenerse mediante transcripción inversa de ARN preparado por cualquiera de los métodos conocidos por un experto habitual en la técnica, tal como transcripción inversa con cebado de poli A o aleatorio. Cualquiera que sea la fuente, una molécula de ácido nucleico que codifica para un polipéptido, proteína y/o complejo proteico F de VRS de la presente invención puede clonarse en cualquier vector adecuado, tal como los que se utilizan para la propagación de la molécula de ácido nucleico o los que se utilizan para la expresión de la molécula de ácido nucleico. El ácido nucleico puede escindirse en sitios específicos utilizando diversas enzimas de restricción, si es necesario. En realizaciones que requieren expresión, el ácido nucleico puede unirse operativamente a un promotor adecuado para dirigir la expresión en el tipo de célula deseado, tal como una célula de mamífero o una célula de insecto, y puede incorporarse en cualquier vector de expresión adecuado, tal como un vector de expresión de mamífero o insecto.

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la presente invención pueden derivarse de secuencias nucleicas que codifican para (o que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en secuencias de nucleótido que codifican para) cualquier secuencia de polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS adecuado conocida en la técnica, o cualquier fragmento de la misma, incluyendo, sin limitación: una secuencia de nucleótidos que codifica para la proteína F de longitud completa silvestre (WT) a partir de subtipo A de VRS (por ejemplo, SEQ ID NO: 33), o una secuencia de nucleótidos que codifica para la proteína F de longitud completa silvestre (WT) a partir de subtipo B de VRS (por ejemplo, SEQ ID NO: 34), o variantes de tales secuencias cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de cualquier especie de interés particular, o que contienen cualquier mutación de interés. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la presente invención pueden derivarse de secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de tipo A de F de VRS, pero cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de ser humano (por ejemplo, SEQ ID NO:35), hámster (por ejemplo, SEQ ID NO:36), insecto (por ejemplo, SEQ ID NO:37) o ratón (por ejemplo, SEQ ID NO:38), u optimizado para su expresión en cualquier otro tipo de célula. De manera similar, en algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la presente invención pueden derivarse de secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de tipo B de F de VRS, pero cuyos codones se han optimizado para su expresión en células de ser humano (por ejemplo, SEQ ID NO:39), hámster (por ejemplo, SEQ ID NO:40), insecto (por ejemplo, SEQ ID NO:41) o ratón (por ejemplo, SEQ ID NO:42), u optimizado para su expresión en cualquier otro tipo de célula. De manera similar, en algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la presente invención pueden derivarse de secuencias de nucleótidos que codifican para la proteína F de tipo A o B de F de VRS, y que puede o no que sus codones se hayan optimizado para su expresión de células de cualquier especie de interés dada, y que también comprenden una o más mutaciones de interés distintas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS de la presente invención pueden derivarse de secuencias de nucleótidos que comprenden secuencias mutantes de DS-CAV1 (SEQ ID NO:43), DS (SEQ ID NO: 44) y/o CAV1 (SEQ ID NO:45). Aunque las tres secuencias específicas proporcionadas en SEQ ID NO:43, 44 y 45 comprenden las mutaciones de DS, CAV1 y DS-CAV1 en el contexto de una secuencia de

tipo A de VRS de longitud completa de codones optimizados humana, tales mutaciones, o de hecho cualquier otra mutaciones de interés (incluyendo todas las mutaciones "a tirosina" de la invención), también podrían estar presentes en una estructura principal de cualquier otra secuencia de tipo A o tipo B de VRS adecuada, incluyendo, pero sin limitarse a, aquellas secuencias que se han optimizado para su expresión en cualquier especie de interés, o que incluyen cualquier mutación de interés, o que incluyen sólo determinadas partes de las secuencias de tipo A o B de VRS, tal como, por ejemplo, sólo los nucleótidos 1-1539 que codifican para solo el ectodominio F de VRS (sin los dominios citoplasmáticos y/o transmembrana). Un experto en la técnica reconocerá que existen una variedad de secuencias de nucleótidos que pueden codificar para los diversos polipéptidos y proteínas F de VRS descritos en el presente documento, y se pretende que todas las secuencias de nucleótidos de este tipo se encuentren dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los polipéptidos y proteínas F de VRS de la presente invención pueden derivarse de secuencias de nucleótidos que tienen al menos alrededor del 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de secuencia con cualquier secuencia de nucleótidos conocida que codifica para una proteína F de VRS, incluyendo, pero sin limitarse a, cualquiera de las ilustradas en el presente documento (incluyendo SEQ ID NO: 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44 y 45), o que tienen al menos alrededor del 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de secuencia con los nucleótidos 1-1539 de las mismas (que codifican para las secuencias de ectodominio), o que tienen al menos alrededor del 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 85%, 98%, o 99% de identidad de secuencia con secuencias de nucleótidos que codifican para proteínas F de VRS de cualquier grupo, subgrupo, familia, subfamilia, tipo, subtipo, género, especie, cepa y/o clado de VRS conocido, o cualquier fragmento de los mismos.

Además, alguien o un experto en la técnica puede visualizar fácilmente, o preparar, moléculas de ácido nucleico que comprenden cualquiera de una o más de las mutaciones "a tirosina" específicas descritas en el presente documento, por ejemplo, ubicando el codón de nucleótidos que codifica para el residuo de aminoácido específico que va a mutarse, y mutando los nucleótidos en ese codón según sea necesario para dar como resultado un codón que codifica para tirosina.

Reticulación

En algunas realizaciones las polipéptidos y/o proteínas F de VRS de la invención se ensamblan para dar complejos proteicos que tienen una estructura conformacional deseada, tal como la conformación de pre-F, y se reticulan para estabilizar esa conformación. En otras secciones de esta solicitud se describen detalles de regiones particulares de la proteína F de VRS que pueden reticularse, así como de mutantes de VRS particulares diseñados para facilitar tal reticulación. En algunas realizaciones las reticulaciones pueden utilizarse para estabilizar las estructuras terciaria y/o cuaternaria de la proteína F de prefusión de VRS. En algunas realizaciones, la reticulación puede ser reticulación intra-y/o intermolecular. En algunas realizaciones, las reticulaciones que se utilizan son reticulaciones dirigidas. En algunas realizaciones, las reticulaciones que se utilizan son estables en condiciones fisiológicas. En algunas realizaciones, las reticulaciones que se utilizan no conducen a la formación de agregados de la proteína F de prefusión de VRS, por ejemplo, durante la expresión y/o durante el almacenamiento (tal como el almacenamiento de composiciones que comprende altas concentraciones de la proteína F de prefusión de VRS). En algunas realizaciones, la introducción de tales reticulaciones puede potenciar la eficacia de los polipéptidos, proteínas y proteínas de VRS de la invención como inmunógenos, tales como inmunógenos de vacuna. En algunas realizaciones la introducción de tales reticulaciones puede estabilizar epítopos (tales como el epítipo ϕ) dentro de la proteína F de VRS de manera que los epítopos pueden reconocerse por anticuerpos particulares, provocar la producción de anticuerpos y/o activar receptores de células B tras la unión de anticuerpos.

En algunas realizaciones puede utilizarse reticulación dirigida. Una reticulación dirigida es una que puede prepararse para formarse en una posición o posiciones particulares dentro de la proteína o complejo proteico F de VRS. Diversas estrategias pueden utilizarse para dirigir reticulaciones a ubicaciones específicas en un polipéptido o proteína F de VRS, tal como las ubicaciones específicas descritas en el presente documento. La presente invención proporciona pares de residuos dentro de la proteína F de VRS que, cuando se reticulan, pueden estabilizar un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS en su conformación de pre-F, y/o en una conformación que es capaz de unirse a, o provocar la producción de, neutralizar anticuerpos y/o que es capaz de generar una respuesta de anticuerpos neutralizantes en un animal. Una reticulación dirigida puede introducirse en una o más de las ubicaciones o posiciones especificadas en el presente documento aprovechando las propiedades químicas y/o físicas de determinadas cadenas laterales de aminoácidos, por ejemplo, haciendo uso de reacciones enzimáticas que reconocen secuencias de aminoácidos o estructuras tridimensionales específicas, o incorporando aminoácidos no naturales que tienen la capacidad de formar reticulaciones en un complejo proteico o proteína plegado.

Las reticulaciones o modificaciones pueden dirigirse a sitios específicos de la estructura del polipéptido o proteína F de VRS con el fin de lograr el resultado deseado, por ejemplo, la estabilización o la conformación de pre-F. La presente invención contempla la introducción dirigida de una o más reticulaciones y/u otras modificaciones estabilizantes en cualquier posición/posiciones adecuada(s) en un polipéptido o proteína F de VRS, preferiblemente donde la reticulación o modificación estabiliza el polipéptido o proteína F de VRS en un conformación de prefusión, o proporciona una estabilización potenciada de la conformación de prefusión. La invención contempla que cualquier residuo de aminoácido de proteína F de VRS, par de residuos, estructura secundaria u otra región descrita en el presente documento para la reticulación de di-tirosina también pueda utilizarse en la formación de otras reticulaciones

o uniones u otras modificaciones, incluyendo pero sin limitarse a las posiciones de aminoácidos Y33, K77, N88, M97, A147, S150, S155, H159, N183, V185, V187, Y198, V220, E222, F223, K226, S255, Y286, K427 y V469, o cualquier combinación de las mismas; pares de residuos 147/286, 198/220, 198/222, 198/223, 198/226, 33/496, 77/222, 88/255, 97/159, 183/427, 185/427 y 187/427, o cualquier combinación de los mismos; regiones o estructuras secundarias, incluyendo el extremo N-terminal móvil F1 (residuos 137-216), $\alpha 2$ (residuos 148-160), $\alpha 3$ (residuos 163-173), $\beta 3$ (residuos 176-182), $\beta 4$ (residuos 186-195), $\alpha 4$ (residuos 197-211), el extremo C-terminal móvil F1 (residuos 461-513), $\beta 22$ (residuos 464-471), $\alpha 9$ (residuos 474-479), $\beta 23$ (residuos 486-491) y $\alpha 10$ (493 a 514); y otras regiones de proteína F de VRS incluyendo residuos desde alrededor de la posición 67 hasta alrededor de la posición 87, desde alrededor de la posición 78 hasta alrededor de la posición 98, desde alrededor de la posición 87 hasta alrededor de la posición 107, desde alrededor de la posición 137 hasta alrededor de la posición 157, desde alrededor de la posición 140 hasta alrededor de la posición 160, desde alrededor de la posición 145 hasta alrededor de la posición 165, desde alrededor de la posición 149 hasta alrededor de la posición 169, desde alrededor de la posición 173 hasta alrededor de la posición 193, desde alrededor de la posición 175 hasta alrededor de la posición 195, desde alrededor de la posición 177 hasta alrededor de la posición 197, desde alrededor de la posición 188 hasta alrededor de la posición 208, desde alrededor de la posición 210 hasta alrededor de la posición 230, desde alrededor de la posición 212 hasta alrededor de la posición 232, desde alrededor de la posición 213 hasta alrededor de la posición 233, desde alrededor de la posición 216 hasta alrededor de la posición 236, desde alrededor de la posición 245 hasta alrededor de la posición 265, desde alrededor de la posición 276 hasta alrededor de la posición 296, desde alrededor de la posición 417 hasta alrededor de la posición 437 y desde alrededor de la posición 459 hasta alrededor de la posición 479.

Una amplia variedad de métodos de reticulación de proteínas intra e intermolecularmente se conocen en la técnica, incluyendo aquellos que tiene reticulaciones con longitudes variables de brazos espaciadores, y aquellos con y sin grupos fluorescentes y funcionales para la purificación. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, el uso de agentes de reticulación heterobifuncionales (por ejemplo, acetiltioacetato de succinimidilo (SATA), ciclohexano-1-carboxilato de trans-4-(maleimidometilo) (SMCC) y 3-(2-piridilditio)propionato de succinimidilo (SPDP)), agentes de reticulación homobifuncionales (por ejemplo, 3-(2-piridilditio)propionato de succinimidilo), agentes de reticulación fotorreactivos (por ejemplo, ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico, éster STP, sal sódica (ATFB, éster STP), ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico, éster succinimidílico (ATFB, SE), 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobencilamina, clorhidrato, benzofenona-4-isotiocianato benzofenona-4-maleimida, ácido 4-benzoilbenzoico, éster succinimidílico, N-((2-piridilditio)etil)-4-azidosalicilamida (PEAS; AET), agentes de reticulación reactivos con tiol (por ejemplo, maleimidas y yodoacetamidas), agentes de reticulación reactivos con amina (por ejemplo, glutaraldehído, bis(ésteres de imido), bis(ésteres succinimidílicos), diisocianatos y cloruros de diácido). Debido a que los grupos tiol son altamente reactivos y relativamente poco comunes en la mayoría de las proteínas en comparación con los grupos amina, la reticulación reactiva con tiol puede utilizarse en algunas realizaciones. En los casos en los que faltan o no están presentes grupos tioles en sitios apropiados en las estructuras de proteína F de prefusión de VRS, pueden introducirse utilizando uno de varios métodos de tiolación. Por ejemplo, puede utilizarse trans-4-(maleimidilmetil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo para introducir grupos reactivos con tiol en sitios de amina.

Se conocen varias reticulaciones oxidativas, tales como enlaces disulfuro (que se forman espontáneamente y son sensibles al pH y a reducción-oxidación), y uniones de di-tirosina (que son altamente estables e irreversibles en condiciones fisiológicas).

En algunas realizaciones, las reticulaciones estabilizan la estructura terciaria de una proteína F de prefusión de VRS. En algunas realizaciones, las reticulaciones estabilizan la estructura cuaternaria de una proteína F de prefusión de VRS. En algunas realizaciones, las reticulaciones estabilizan tanto la estructura terciaria como la cuaternaria de una proteína F de prefusión de VRS.

En algunas realizaciones, un polipéptido o proteína F de VRS de la invención tiene reticulaciones que son termoestables. En algunas realizaciones, un polipéptido o proteína F de VRS de la invención tiene reticulaciones que no son tóxicas. En algunas realizaciones un polipéptido o proteína F de VRS de la invención tiene reticulaciones que son reticulaciones dirigidas, o reticulaciones no dirigidas, o reticulaciones reversibles, o reticulaciones irreversibles, o reticulaciones formadas por el uso de agentes de reticulación homobifuncionales, o reticulaciones formadas por el uso de agentes de reticulación heterobifuncionales, o reticulaciones formadas por el uso de reactivos que reaccionan con grupos amino, o reticulaciones formadas por el uso de reactivos que reaccionan con grupos tiol, o reticulaciones formadas por el uso de reactivos que son fotorreactivos, o reticulaciones formadas entre residuos de aminoácidos, o reticulaciones formadas entre residuos de aminoácidos mutados incorporados en la estructura de las proteínas o complejos proteicos, o reticulaciones oxidativas, o uniones de di-tirosina, o reticulaciones de glutaraldehído, o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el polipéptido o proteína F de VRS de la invención no tiene reticulaciones de glutaraldehído.

En algunas realizaciones, el polipéptido o proteína F de VRS de la invención no tiene ningún enlace disulfuro introducido artificialmente, o si tiene tales enlaces disulfuro, también tiene reticulaciones adicionales introducidas artificialmente. En algunas realizaciones, el polipéptido o proteína F de VRS de la invención no tiene ningún enlace disulfuro introducido artificialmente, pero puede tener enlaces disulfuro que se producen de manera natural. Pueden introducirse enlaces disulfuro artificialmente cuando las cadenas laterales de cisteína se modifican por ingeniería genética mediante mutación puntual. Sin embargo, se sabe que los enlaces disulfuro son sensibles al pH y que se

disuelven en determinadas condiciones de reducción-oxidación, y la utilidad terapéutica y/o preventiva de proteínas y/o complejos proteicos modificados por ingeniería genética con reticulaciones de disulfuro, por ejemplo que van a usarse como inmunógenos *in vivo*, por tanto, puede verse comprometida. Además, a menudo se forman enlaces disulfuro no deseados entre proteínas con grupos sulfhidrilos libres que median en la formación de agregados (véase, por ejemplo, Harris RJ *et al.* 2004, Commercial manufacturing scale formulation and analytical characterization of therapeutic recombinant antibodies. Drug Dev Res 61 (3): 137 a 154; Costantino & Pikal (Eds.), 2004. Lyophilization of Biopharmaceuticals, editores Costantino & Pekal. Lyophilization of Biopharmaceuticals. Series: Biotechnology: Pharmaceutical Aspects II, véanse las páginas 453-454; Tracy *et al.*, 2002, patente estadounidense 6.465.425), que también se ha notificado como un problema con gp120 y gp41 de VIH (Jefferis *et al.* 2004. Expression and characterization of recombinant oligomeric envelope glycoproteins derived from primary isolates of HIV-1. Vaccine 22:1032-1046; Schulke *et al.*, 2002. Oligomeric and conformational properties of a proteolytically mature, disulfide-stabilized human immunodeficiency virus type 1 gp140 envelope glycoprotein. J Virol 76:7760-7776). Por tanto, en muchas realizaciones se prefiere que no se utilicen enlaces disulfuro, o no se utilicen como el único método de reticulación.

Si la estructura y/o inmunogenicidad de la proteína F de prefusión de VRS se ve comprometida o alterada por una reticulación, el mantenimiento de su estructura y función general puede lograrse controlando la disponibilidad de cadenas laterales de aminoácidos para la reacción de reticulación o mediante la introducción de reticulaciones adicionales u otras modificaciones estabilizantes. Por ejemplo, en el caso de reticulación de DT, cadenas laterales de tirosilo que están disponibles para la reacción, pero que conducen a la distorsión de la estructura del complejo, y que comprometen la inmunogenicidad/antigenicidad de la proteína F de VRS, pueden eliminarse mutando tales residuos a otro aminoácido tal como, por ejemplo, fenilalanina. Además, pueden introducirse mutaciones puntuales en posiciones donde las cadenas laterales de aminoácidos reaccionarán con agentes de reticulación o entre sí, de manera que la formación del/de los enlaces provoca el resultado más beneficioso. Estas posiciones también pueden definirse tal como se describe en el presente documento.

Cuando en un residuo seleccionado una cadena lateral reactiva no está ya presente, puede introducirse una mutación puntual, por ejemplo utilizando métodos biológicos moleculares para introducir una mutación puntual de este tipo en el ADNc de un ácido nucleico que dirige su expresión, de manera que una cadena lateral reactiva está presente y disponible para la reacción.

Las reticulaciones que pueden utilizarse incluyen, pero no se limitan a, reticulaciones reversibles resultantes del uso de agentes de reticulación homo- y heterobifuncionales que reaccionan con grupos amino y/o tiol, reactivos de reticulación fotorreactivos, cualquier reticulación que pueda formarse entre aminoácidos no clásicos incorporados a la estructura de un complejo proteico o proteína, cualquier reticulación oxidativa, tal como, pero sin limitarse a, reticulaciones/uniones de di-tirosina, agentes de reticulación heterobifuncionales (por ejemplo, acetiltioacetato de succinimidilo (SATA), ciclohexano-1-carboxilato de trans-4-(maleimidilmetilo) (SMCC) y 3-(2-piridilditio)propionato de succinimidilo (SPDP)), agentes de reticulación homobifuncionales (por ejemplo, 3-(2-piridilditio)propionato de succinimidilo), agentes de reticulación fotorreactivos (por ejemplo, ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico, éster STP, sal sódica (ATFB, éster STP), ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico, éster succinimidílico (ATFB, SE), 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobencilamina, clorhidrato, benzofenona-4-isotiocianato, benzofenona-4-maleimida, ácido 4-benzoilbenzoico, éster succinimidílico, N-((2-piridilditio)etil)-4-azidosalicilamida (PEAS; AET), agentes de reticulación reactivos con tiol (por ejemplo, maleimidas y yodoacetamidas), agentes de reticulación reactivos con amina (por ejemplo, glutaraldehído, bis(ésteres de imido), bis(ésteres succinimidílicos), diisocianatos y cloruros de diácido).

La presente invención también contempla la introducción de interacciones de apilamiento de tirosinas no covalentes dirigidas como "reticulaciones" para estabilizar las interacciones proteína-proteína y/o conformaciones de proteína o péptido deseadas, tal como la conformación de prefusión de proteína F de VRS. La reticulación comprende una interacción de apilamiento π dirigida que incluye pero no se limita a una interacción de apilamiento de π desplazada en forma de T, sándwich o paralela entre las cadenas laterales aromáticas de una tirosina introducida/modificada por ingeniería genética y una tirosina, fenilalanina, histidina o triptófano endógena dentro del proteína o complejo proteico, o entre la cadena lateral aromática de una tirosina introducida/modificada por ingeniería genética y una segunda tirosina introducida/modificada por ingeniería genética dentro de la proteína o complejo proteico.

Las reticulaciones irreversibles, tal como se usan en el contexto de esta solicitud, incluyen aquellas que no se disuelven significativamente en condiciones fisiológicamente relevantes. Se prefiere que el tipo de reticulaciones utilizado no conduzca a la formación de agregados durante la expresión o cuando los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención se almacenan a altas concentraciones. Los enlaces disulfuro no son reticulaciones irreversibles. En su lugar son reticulaciones reversibles y pueden disolverse en condiciones fisiológicamente relevantes y/o conducir a la formación de agregados durante la producción y/o expresión proteica o cuando se almacenan en altas concentraciones.

En algunas realizaciones, pueden dirigirse reticulaciones a las regiones específicas de polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS descritos en el presente documento con el fin de lograr la estabilización conformacional deseada y/o las propiedades inmunogénicas deseadas (por ejemplo, la capacidad de mantener la conformación de pre-F y/o de unirse a anticuerpos ampliamente neutralizantes). Alternativamente, proteínas con las reticulaciones en

las ubicaciones especificadas en el presente documento pueden aislarse de una mezcla de proteínas reticuladas y no reticuladas con y sin modificaciones deseadas, por ejemplo, basándose en características químicas, físicas y/o funcionales. Tales características pueden incluir, por ejemplo, la trimerización, la presencia de la conformación de pre-F y/o cualquier característica antigénica, inmunogénica o bioquímica deseada.

Alternativamente, en algunas realizaciones, las reticulaciones pueden no estar dirigidas, y pueden aislarse proteínas con las reticulaciones o propiedades deseadas de una mezcla de proteínas modificadas y no modificadas preparadas utilizando un sistema de reticulación no dirigido.

En realizaciones en las que polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS con las reticulaciones deseadas van a aislarse de una mezcla de proteínas reticuladas y no reticuladas, tal aislamiento o separación puede realizarse basándose en una o más características incluyendo, pero sin limitarse a, peso molecular, volumen molecular, propiedades cromatográficas, movilidad en electroforesis, características antigénicas y bioquímicas, características de fluorescencia, solubilidad, unión a anticuerpos, características estructurales, características inmunológicas o cualquier otra característica adecuada.

Además de las posiciones de reticulación específicas descritas en el presente documento, pueden identificarse posiciones adicionales dentro de polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS en las que pueden hacerse reticulaciones adicionales, por ejemplo, cuando una cadena lateral reactiva podría formar una unión con una cadena lateral reactiva en otra parte en la proteína/complejo F de VRS. En algunas realizaciones, pueden seleccionarse tales posiciones adicionales, por ejemplo, para mantener o mejorar la inmunogenicidad/antigenicidad de la proteína, polipéptido o complejo proteico. En algunas realizaciones, tales posiciones adicionales que van a reticularse pueden seleccionarse en pares.

Reticulación de di-tirosina (DT)

En algunas realizaciones la presente invención proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que comprenden reticulaciones de di-tirosina (DT), y métodos para preparar tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS con reticulaciones de DT.

La reticulación de ditirosina introduce enlaces covalentes de carbono-carbono en proteínas o complejos proteicos. Esto proporciona un método para estabilizar proteínas, complejos proteicos y conformaciones, mediante la introducción de enlaces intra- y/o interpolipéptidos de di-tirosina, manteniendo al mismo tiempo su integridad estructural y funcional (véase Marshall *et al.*, patentes estadounidense n.ºs 7.037.894 y 7.445.912). La reticulación de DT de longitud cero y de alteración mínima no se hidroliza en condiciones fisiológicas, y se ha demostrado que mantiene la integridad estructural de las proteínas mediante cromatografía de líquidos/espectrometría de masas (CL/EM). Se sabe que las reticulaciones de ditirosina son seguras, ya que se forman de manera natural *in vivo*, tanto en el contexto de proteínas evolucionadas para utilizar sus características específicas (por ejemplo, Elvin CM *et al.* 2005, Nature 437:999-1002; Tenovuo J y Paunio K 1979, Arch Oral Biol.; 24(8):591-4), y como consecuencia de la oxidación inespecífica de proteínas (Giulivi *et al.* 2003, Amino Acids 25(3-4):227-32), y ya que están presentes en grandes cantidades en algunos de los alimentos más comunes: las uniones de DT forman la estructura del gluten de trigo, la estructura proteica cuaternaria que comprende las subunidades de glutenina, por ejemplo, en masa de pan durante el mezclado y la cocción (Tilley *et al.* 2001, Agric. Food Chem 49, 2627). No se forman espontáneamente uniones de ditirosina *in vitro*. En su lugar, la reacción de reticulación enzimática se lleva a cabo en condiciones optimizadas para preservar la estructura y la función de las proteínas. Por tanto, no se produce unión/agregación inespecífica (a diferencia de los enlaces disulfuro), y por tanto la fabricación a gran escala de un inmunógeno estabilizado con DT puede ser económicamente más factible.

Las cadenas laterales de tirosilo están presentes en muchas enzimas de reducción-oxidación, y la catálisis de las reacciones específicas de enzimas a menudo implica radicales tirosilo que son de larga duración y tienen una reactividad comparativamente baja. En condiciones optimizadas, la formación de radicales es específica para las cadenas laterales de tirosilo. En proximidad estrecha, cadenas laterales de tirosilo experimentan acoplamiento de radicales y forman un enlace covalente carbono-carbono. Los radicales tirosilo que no reaccionan reversion a cadenas laterales de tirosilo no radicalizadas (Malencik & Anderson, 2003. Di-tyrosine as a product of oxidative stress and fluorescent probe. Amino Acids 25: 233-247). Por tanto, cadenas laterales de tirosilo deben estar situadas en proximidad estrecha para formar uniones de DT, o bien dentro de una única cadena polipeptídica plegada, o bien en dominios proteicos que interaccionan estrechamente dentro de un complejo. Debido a que una separación de C α -C α de aproximadamente 5-8 Å es un requisito previo para la formación de enlaces (Brown *et al.*, 1998. Determining protein-protein interactions by oxidative cross-linking of a glycine-glycine-histidine fusion protein. Biochemistry 37, 4397-4406; Marshall *et al.* 2006, patente estadounidense 7.037.894), y debido a que no se añaden átomos en la formación de estos enlaces, la "grapa" resultante es de "longitud cero" y no disruptiva para la estructura proteica.

Los residuos de tirosinas que van a reticularse pueden estar presentes de manera natural en la estructura primaria de la proteína que van a reticularse o pueden añadirse mediante mutación puntual controlada. Para formar uniones de DT, proteínas con cadenas laterales de tirosilo pueden someterse a condiciones de reacción que conducen a la formación de uniones de DT. Tales condiciones son, o pasan a ser, condiciones de reacción oxidativa, ya que la

reacción de formación de uniones de DT es una reacción de reticulación oxidativa. En algunas realizaciones, las condiciones de reacción de reticulación de DT producen proteínas que no se modifican por lo demás, o no de manera detectable. Tales condiciones pueden obtenerse mediante el uso de enzimas que catalizan la formación de H_2O_2 , tales como peroxidasas. La formación de uniones de DT puede monitorizarse mediante espectrofotometría con una longitud de onda de excitación de alrededor de 320 nm, y la fluorescencia medida a una longitud de onda de alrededor de 400 nm (véase, por ejemplo, la figura 34), mientras que la pérdida de fluorescencia de tirosilo también se monitoriza mediante procedimientos convencionales. Cuando la pérdida de fluorescencia de tirosilo ya no sea estequiométrica con la formación de uniones de DT, la reacción puede detenerse por cualquier método conocido por un experto en la técnica, tal como, por ejemplo, mediante la adición de un agente reductor y el enfriamiento posterior (sobre hielo) o la congelación de la muestra. En la técnica se conocen detalles adicionales sobre cómo crear reticulaciones de DT y se describen, por ejemplo, en Marshall *et al.* 2006, patente estadounidense 7.037.894.

Las principales ventajas de la reticulación de di-tirosina en ingeniería genética de proteínas incluyen (i) la capacidad de seleccionar como diana residuos específicos para la reticulación (basándose en las estructuras primarias, secundarias, terciarias y/o cuaternarias de proteínas y complejos), (ii) modificación estructural mínima, (iii) especificidad de la reacción (la tirosina es el único aminoácido que se sabe que forma reticulaciones en condiciones de reticulación específicas); (iv) estabilidad del enlace, (v) longitud cero de la reticulación (no se añade átomos) y (vi) la escalabilidad de la química de reticulación.

En algunas realizaciones, pueden introducirse reticulaciones de DT dirigidas en una o más de las ubicaciones específicas en la proteína F de VRS que se enumeran en el presente documento. En otras realizaciones, pueden identificarse posiciones adicionales dentro de polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS en las que pueden hacerse reticulaciones de DT. En algunas realizaciones, se dirigen uniones o reticulaciones de di-tirosina a pares de residuos específicos dentro de la estructura de un polipéptido o proteína F de VRS donde se formarán, o se espera que se formen, uniones de DT debido, por ejemplo, a su proximidad estrecha. En algunas realizaciones, ya están presentes cadenas laterales de tirosilo en residuos de aminoácidos que van a reticularse. En algunos casos, residuos de tirosina que se producen de manera natural pueden constituir o bien uno o bien ambos de los residuos de tirosina emparejados necesarios para la formación de uniones de di-tirosina. Sin embargo, en otros casos los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención se mutan o se modifican por ingeniería genética para añadir uno o más residuos de tirosina, o para sustituir uno o más residuos distintos de tirosina por residuos de tirosina. Tales mutaciones se denominan en el presente documento mutaciones “a tirosina”, y pueden introducirse en ubicaciones donde es deseable formar reticulaciones/uniones de di-tirosina. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS mutantes en los que se introducen cadenas laterales de tirosilo en posiciones de reticulación deseadas mediante la introducción de mutaciones puntuales a tirosina en una secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS. Alternativamente, en algunas realizaciones, proteínas, polipéptidos o complejos proteicos de VRS, o partes de los mismos, pueden sintetizarse para que incluyan residuos de tirosina o aminoácidos que tienen cadenas laterales de tirosilo en posiciones de reticulación deseadas. A la inversa, en algunas realizaciones la presente invención proporciona polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS mutantes en los que se retiran cadenas laterales de tirosilo en posiciones de reticulación no deseadas mediante la introducción de mutaciones puntuales a partir de tirosina en una secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS, o pueden sintetizarse polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS para que excluyan residuos de tirosina o aminoácidos que tienen cadenas laterales de tirosilo en posiciones en las que no se desea reticulación. Por ejemplo, al menos una de las cadenas laterales de tirosilo puede sustituirse por otra cadena lateral, tal como una cadena lateral de fenilalanina (véase, por ejemplo, Marshall CP *et al.*, solicitud de patente estadounidense n.º 09/837.235). Por consiguiente, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden comprender mutaciones puntuales “a tirosina” o “de tirosina”. Tales mutaciones pueden hacerse alterando las secuencias de ácido nucleico que codifican para los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención utilizando cualquier método adecuado de mutagénesis conocido en la técnica. Alternativamente, polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS mutantes pueden sintetizarse, purificarse y/o producirse por cualquier otro método adecuado conocido en la técnica.

En algunas realizaciones, la presente invención contempla la introducción dirigida de una o más reticulaciones de di-tirosina en cualquier posición/posiciones adecuada(s) en un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS donde la reticulación estabilizará o puede estabilizar el polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS en su conformación de pre-fusión. Tal estabilización puede lograrse, por ejemplo, introduciendo reticulaciones que estabilizan interacciones entre o dentro de los polipéptidos F1 y F2 de proteína F de VRS y/o mediante la introducción de reticulaciones que estabilizan las interacciones entre o dentro de los protómeros de proteína F de VRS. En algunas realizaciones, el polipéptido F1 de una proteína F de VRS se reticula con el polipéptido F2 del mismo protómero (unión intermolecular/intraprotómero). En algunas realizaciones, el polipéptido F1 se reticula intramolecularmente (por ejemplo, ambas tirosinas de la reticulación se ubican dentro del mismo polipéptido F1). En algunas realizaciones, el polipéptido F2 se reticula intramolecularmente (por ejemplo, ambas tirosinas de la reticulación se ubican dentro del mismo polipéptido F1). En algunas realizaciones, el polipéptido F1 de la proteína F de prefusión de VRS se reticula con el polipéptido F1 de un protómero adyacente (unión interprotómero). En algunas realizaciones, el polipéptido F1 de la proteína F de prefusión de VRS se reticula con el polipéptido F2 de un protómero adyacente (unión interprotómero).

Preparación y análisis de polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona métodos para preparar los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención. Los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden prepararse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden prepararse por medios recombinantes. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, o cualquier parte de los mismos, pueden ser prepararse por síntesis química. Por ejemplo, un péptido correspondiente a una parte de una proteína o complejo proteico descrito en el presente documento puede sintetizarse mediante el uso de un sintetizador de péptidos.

Métodos de producción recombinantes

En realizaciones, en las que los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención se preparan por medios recombinantes, pueden expresarse ácidos nucleicos que codifican para los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención en cualquier tipo celular adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a células de mamíferos e insectos (tales como células SF9 o Hi5, usando un sistema de expresión de baculovirus). Los métodos para expresar polipéptidos y proteínas a partir de moléculas de ácido nucleico son rutinarios y bien conocidos en la técnica, y puede utilizarse cualquier método, vector, sistema y tipo celular adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, normalmente secuencias de ácido nucleico que codifican para los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención se colocarán en un constructo de expresión adecuado que contiene un promotor adecuado, que luego se suministrará a las células para su expresión.

Proteínas de fusión/quiméricas y dominios de oligomerización

En algunas realizaciones, puede ser deseable añadir dominios quiméricos a los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS descritos en el presente documento, para producir proteínas quiméricas/proteínas de fusión, por ejemplo, para facilitar el análisis y/o aislamiento y/o purificación de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden comprender secuencias líderes, secuencias de polipéptidos precursores, señales de secreción, señales de localización, etiquetas de epítipo, y similares. Las etiquetas de epítipo que pueden utilizarse incluyen, pero sin limitarse a, etiquetas FLAG, etiquetas de glutatión S-transferasa (GST), etiquetas de proteína fluorescente verde (GFP), etiquetas de hemaglutinina A (HA), etiquetas de histidina (His), etiquetas de luciferasa, etiquetas de proteína de unión a maltosa (MBP), etiquetas de c-Myc, etiquetas de proteína A, etiquetas de proteína G, etiquetas de estreptavidina (estrep.), y similares.

En algunas realizaciones, puede ser deseable añadir dominios de oligomerización para facilitar el ensamblaje de polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS tal como se describe en el presente documento, y/o para facilitar la estabilización de la conformación de pre-F, y/o para estabilizar otros rasgos estructurales de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS. En algunas realizaciones los dominios de oligomerización son motivos de trimerización, incluyendo, pero sin limitarse a, el motivo Foldon de T4. Hay una amplia variedad de dominios de trimerización en proteínas naturales que pueden utilizarse para estos fines, incluyendo, pero sin limitarse a, los descritos en Habazettl *et al.*, 2009 (Habazettl *et al.*, 2009. NMR Structure of a Monomeric Intermediate on the Evolutionarily Optimized Assembly Pathway of a Small Trimerization Domain. J.Mol.Biol. págs. sin valor), Kammerer *et al.*, 2005. (Kammerer *et al.*, 2005. A conserved trimerization motif controls the topology of short coiled coils. Proc Natl Acad Sci USA 102 (39): 13891-13896), Innamorati *et al.*, 2006. (Innamorati *et al.*, 2006. An intracellular role for the C1qglobular domain. Cell signal 18(6): 761-770) y Schelling *et al.*, 2007 (Schelling *et al.*, 2007. The reovirus σ -1 aspartic acid sandwich: A trimerization motif poised for conformational change. Biol Chem 282(15): 11582-11589). La estabilización de complejos proteicos triméricos también puede lograrse utilizando los motivos de fibrinitina GCN4 y T4 (Pancera *et al.*, 2005. Soluble Mimetics of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viral Spikes Produced by Replacement of the Native Trimerization Domain with a Heterologous Trimerization Motif: Characterization and Ligand Binding Analysis. J Virol 79(15): 9954-9969; Guthe *et al.*, 2004. Very fast folding and association of a trimerization domain from bacteriophage T4 fibrin. J.Mol.Biol. v337 págs. 905-15; Papanikolopoulou *et al.*, 2008. Creation of hybrid nanorods from sequences of natural trimeric fibrous proteins using the fibrin trimerization motif. Methos Mol Biol 474:15-33). Pueden introducirse motivos de oligomerización heterólogos por cualquier método recombinante conocido por un experto habitual en la técnica con el fin de estabilizar las interacciones proteína-proteína de las proteínas de la presente invención.

Pueden prepararse polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS quiméricos por cualquier método conocido por un experto habitual en la técnica, y pueden comprender, por ejemplo, uno o varios polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, y/o cualquier fragmento, derivado o análogo de los mismos (por ejemplo, que consiste en al menos un dominio de un polipéptido, proteína o complejo proteico de la invención, o al menos 6, y preferiblemente al menos 10 aminoácidos de los mismos) unidos en su extremo amino o carboxilo-terminal por medio de un enlace peptídico a una secuencia de aminoácidos de otra proteína u otro dominio o motivo proteico. En algunas realizaciones tales proteínas quiméricas pueden producirse por cualquier método conocido por un experto

habitual en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, expresión recombinante de un ácido nucleico que codifica para una proteína quimérica (por ejemplo, que comprende una primera secuencia codificante unida en marco a una segunda secuencia codificante); ligando las secuencias de ácido nucleico apropiadas que codifican para las secuencias de aminoácidos deseadas entre sí en el marco de codificación adecuado, y expresando el producto quimérico.

Modificaciones postraduccionales

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS descritos en el presente documento pueden alterarse añadiendo o retirando modificaciones postraduccionales, añadiendo o retirando apéndices o modificaciones químicas y/o introduciendo cualquier otra modificación conocida por los expertos habituales en la técnica. Se incluyen dentro del alcance de la invención polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS que se modifican durante o después de la traducción o síntesis, por ejemplo, mediante glicosilación (o desglicosilación), acetilación (o desacetilación), fosforilación (o desfosforilación), amidación (o desamidización), pegilación, derivatización por grupos de protección/bloqueo conocidos, escisión proteolítica, o mediante cualquier otro medio conocido en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS pueden someterse a escisión química por bromuro de cianógeno, tripsina, quimotripsina, papaína, proteasa V8, NaBH₄, acetilación, formilación, oxidación, reducción, síntesis metabólica en presencia de tunicamicina, etc. En algunas realizaciones, tales modificaciones postraduccionales pueden utilizarse para hacer que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la presente invención sean más inmunogénicos, más estables y/o más capaces de unirse a, o provocar la producción de, anticuerpos neutralizantes y ampliamente neutralizantes.

Obtención de F de VRS en su conformación de pre-F

En algunas realizaciones los polipéptidos y/o proteínas F de VRS de la invención se ensamblan para dar complejos proteicos que tiene una estructura conformacional deseada, como la conformación de pre-F, y se reticulan para estabilizar esa conformación. Tal como se describe en otra parte de la presente solicitud, la conformación de pre-F de la proteína F de VRS comprende un trímero formado a partir de tres protómeros. Tal como se describe en otra parte de la presente solicitud, la conformación de pre-F de la proteína F de VRS comprende un trímero formado a partir de tres protómeros. En algunas realizaciones, antes de y/o durante la reacción de reticulación enzimática, la proteína F de VRS puede obtenerse en (y/o mantenerse en) la conformación de pre-F, por ejemplo mientras que se realiza la reticulación. En algunas realizaciones la proteína F de VRS puede producirse y/o aislarse de tal manera que la mayoría, o sustancialmente todas, de las moléculas F de VRS están presentes en la conformación de pre-F. En algunas realizaciones, las moléculas F de VRS en la conformación de pre-F pueden separarse de una población mixta de moléculas de proteína F de VRS que comprenden algunas que están en la conformación de pre-F y otras que están en otras conformaciones. En algunas realizaciones, la proteína F de VRS se expresa en células (por ejemplo, como su forma unida a la membrana o soluble) y se ensambla espontáneamente para dar su conformación de pre-F normal. En algunas realizaciones puede no ser necesaria ninguna estabilización adicional para retener la proteína F de VRS en su forma de pre-F. En algunas realizaciones la proteína F de VRS expresada y ensamblada/plegada puede mantenerse en condiciones particulares, o en composiciones particulares, que favorecen la formación y/o mantenimiento de la conformación de pre-F. Por ejemplo, en algunas realizaciones la proteína F de prefusión de VRS puede mantenerse en ausencia de células, contacto con el que de otro modo se desencadenaría un cambio en la conformación de post-F. La proteína F de prefusión de VRS puede obtenerse y/o aislarse y/o mantenerse en la conformación de pre-F utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, métodos convencionales de purificación de proteínas, tales como métodos de cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión molecular y/o cromatografía de afinidad. En algunas realizaciones la proteína F de prefusión de VRS puede expresarse en presencia de, expresarse de manera conjunta con o ponerse en contacto con, moléculas que se unen a la proteína F de VRS y estabilizan la misma en su conformación de pre-F, incluyendo, pero sin limitarse a, anticuerpos, moléculas pequeñas, péptidos, y/o peptidomiméticos. Los ejemplos no limitativos de anticuerpos que se unen a la proteína F de VRS de prefusión incluyen los anticuerpos 5C4, AM22 y D25 (véase McLellan *et al.* (2013) Science 342:592-598). En algunas realizaciones, la proteína F de VRS puede obtenerse, aislarse o mantenerse en su conformación de pre-F controlando la fuerza iónica del medio/tampón en el que está presente la proteína (tal como usando medios de fuerza iónica alta o baja). En algunas realizaciones la proteína F de VRS puede obtenerse, aislarse o mantenerse a una o más temperaturas que favorecen la preservación de la conformación de pre-F. En algunas realizaciones la proteína F de VRS puede obtenerse, aislarse o mantenerse a lo largo de un período de tiempo que disminuye el grado en que la conformación de pre-F se pierde.

En algunas realizaciones pueden realizar análisis para confirmar que la conformación deseada, tal como la conformación de pre-F, se ha formado y/o mantenido en la proteína F de VRS. Tal análisis puede realizarse antes de la reticulación, durante el proceso de reticulación, después del proceso de reticulación o en cualquier combinación de tales fases. Tal análisis puede comprender cualquier método adecuado conocido en la técnica para evaluar la estructura tridimensional de un complejo proteico o proteína, incluyendo análisis funcional, análisis cristalográfico, y similares. En algunas realizaciones tal análisis puede incluir la evaluación de la unión de la proteína de VRS a determinados anticuerpos, como los que son específicos para la conformación de pre-F y/o aquellos que se sabe que se unen al sitio α , tal como se describe en otra parte en el presente documento, incluyendo, pero sin limitarse a los anticuerpos 5C4, AM22 y D25.

Purificación de proteínas

En algunas realizaciones los métodos para preparar polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden comprender purificar los polipéptidos, proteínas o complejos proteicos F de VRS antes, durante o después de una o más etapas del proceso de fabricación. Por ejemplo, en algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden purificarse una vez completadas todas las etapas de fabricación. En algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden purificarse antes de iniciar el proceso de reticulación o después de una o más de las etapas intermedias del método en el proceso, por ejemplo, después de la expresión de un polipéptido o proteína F de VRS, después de ensamblar un complejo proteico, después de obtener la proteína F de VRS en su conformación de pre-F, o durante o después de la realización de una reacción de reticulación. Los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden aislarse o purificarse utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, afinidad y/o columna de dimensionamiento), precipitación con sulfato de amonio, centrifugación, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica para la purificación de proteínas conocida por un experto habitual en la técnica. En realizaciones específicas puede ser necesario separar los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de influenza deseables de la invención de aquellos que no estaban suficientemente reticulados, o aquellos en los que la conformación de pre-F no estaba suficientemente estabilizada. Esto puede hacerse utilizando cualquier sistema adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, proteínas de VRS en la conformación de pre-F pueden separarse de las que no están en la conformación de pre-F utilizando métodos de separación basados en anticuerpos utilizando anticuerpos específicos de pre-F o post-F. Los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden purificarse de cualquier fuente utilizada para producirlos. Por ejemplo, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden purificarse de fuentes que incluyen insectos, procariontes, eucariotas, monocelulares, multicelulares, animales, plantas, hongos, vertebrados, mamíferos, humanos, porcinos, bovinos, felinos, equinos, caninos, aves o células de cultivo tisular, o cualquier otra fuente. El grado de pureza puede variar, pero en diversas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS purificados de la invención se proporcionan en una forma en la que comprenden más de alrededor del 10%, 20%, 50%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 99,9% de la proteína total en la composición final. En algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden aislarse y purificarse de otras proteínas, o cualquier otro producto no deseado (como F de VRS no reticulado o distinto de pre-F), por métodos convencionales que incluyen, pero sin limitarse a, cromatografía, gradientes de glicerol, cromatografía de afinidad, centrifugación, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión molecular y cromatografía de afinidad, o por cualquier otra técnica convencional para la purificación de proteínas conocida en la técnica. Los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS que van a aislarse pueden expresarse en medios iónicos altos o bajos, o aislarse en tampones iónicos altos o bajos. Los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención también pueden aislarse a una o más temperaturas que favorezcan la conservación de la conformación deseada. También pueden aislarse a lo largo de un período de tiempo que disminuye el grado en el que una preparación habría perdido la conformación deseada. El grado en el que una preparación de proteínas conserva una o más conformaciones deseadas (tales como la conformación y/o conformaciones de pre-F que favorecen la unión a anticuerpos neutralizantes, o las propiedades deseadas) puede evaluarse por cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, pero sin limitarse a, análisis bioquímicos, biofísicos, inmunológicos y virológicos. Estos ensayos incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, inmunoprecipitación, ensayos de inmunoadsorción ligados a enzimas (ELISA) o ensayos de puntos de inmunoadsorción ligados a enzimas (ELISPOT), análisis cristalográfico (incluyendo cristalización de manera conjunta con anticuerpos), sedimentación, ultracentrifugación analítica, dispersión dinámica de luz (DLS), microscopía electrónica (EM), tomografía crio-EM, calorimetría, resonancia de plasmón superficial (SPR), transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), análisis de dicroísmo circular y dispersión de rayos X de ángulo pequeño, ensayos de neutralización, ensayos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y/o estudios de exposición virológica *in vivo*.

El rendimiento de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención puede determinarse por cualquier medio conocido en la técnica, por ejemplo, comparando la cantidad de las proteínas modificadas por ingeniería genética finales (como VRS de pre-F reticulado) en comparación con la cantidad del material de partida, o en comparación con la cantidad de los materiales presentes en cualquier etapa anterior de los métodos de producción. Las concentraciones de proteínas pueden determinarse mediante procedimientos convencionales, tales como, por ejemplo, los ensayos de proteínas de Bradford o Lowry. El ensayo de Bradford es compatible con agentes reductores y desnaturizantes (Bradford, M, 1976. Anal. Biochem. 72: 248). El ensayo de Lowry tiene una mejor compatibilidad con detergentes y la reacción es más lineal con respecto a las concentraciones de proteínas y la lectura (Lowry, O J, 1951. Biol. Chem. 193: 265).

Métodos de producción a modo de ejemplo

En algunas realizaciones la presente descripción proporciona un método de producción de una proteína F de VRS estabilizada en su conformación de pre-fusión, comprendiendo el método: (a) obtener una proteína F de VRS en su conformación de pre-F, (b) identificar una o más regiones en la estructura terciaria y/o cuaternaria de la proteína F de pre-fusión de VRS en la que la introducción de una o más reticulaciones podría estabilizar la conformación de pre-F, y

(c) introducir en la proteína F de prefusión de VRS una o más reticulaciones en una o más de las regiones identificadas en la etapa (b) para formar una proteína F de VRS modificada por ingeniería genética bloqueada en su conformación de pre-fusión. En algunas realizaciones, las regiones identificadas en la etapa (b) comprenden uno o más de las regiones específicas o residuos de aminoácidos específicos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones las reticulaciones son reticulaciones dirigidas. En algunas realizaciones las reticulaciones son reticulaciones de DT dirigidas. En algunas realizaciones, las reticulaciones son estables en condiciones fisiológicas. En algunas realizaciones, la proteína F de VRS modificada por ingeniería genética estabilizada en su conformación de pre-fusión es útil como inmunógeno de vacuna. En algunas realizaciones, la proteína F de VRS modificada por ingeniería genética bloqueada en su conformación prefusión tiene una o más de las siguientes propiedades: (i) capacidad potenciada de unión a un anticuerpo neutralizante en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera (es decir, en comparación con la proteína F de VRS sin o antes de la introducción de las reticulaciones), (ii) capacidad potenciada de unión a un anticuerpo ampliamente neutralizante en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera, (iii) capacidad potenciada de unión a y activación de receptores de células B en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera, (iv) capacidad potenciada para provocar una respuesta de anticuerpos en un animal en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera, (v) capacidad potenciada para provocar una respuesta de anticuerpos protectores en un animal en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera, (vi) capacidad potenciada para provocar la producción de anticuerpos neutralizantes en un animal en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera, (vii) capacidad potenciada para provocar la producción de anticuerpos ampliamente neutralizantes en un animal en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera, (viii) capacidad potenciada para provocar una respuesta inmunitaria protectora en un animal en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera y (ix) capacidad potenciada para unirse y provocar la producción de anticuerpos que reconocen epítopos neutralizantes cuaternarios en un animal en comparación con la proteína F de VRS no modificada por ingeniería genética de esta manera. En algunas realizaciones los métodos para producir una proteína F de VRS estabilizada en su conformación de pre-fusión descritos en el presente documento también comprenden realizar un ensayo para determinar si la proteína F de VRS modificada por ingeniería genética se estabilizó en su conformación de prefusión y/o tiene una o más de las propiedades mencionadas anteriormente.

Propiedades de polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, incluyendo en particular aquellos que están reticulados tal como se describe en el presente documento, tienen determinadas propiedades estructurales, físicas, funcionales y/o biológicas. Tales propiedades pueden incluir una o más de las siguientes, o cualquier combinación de las siguientes: existencia de la conformación de pre-F, estabilidad de la conformación de pre-F de VRS; estabilidad mejorada de la conformación de pre-F de VRS (en comparación con proteínas F de VRS no reticuladas); semivida mejorada de la conformación de pre-F de VRS (en comparación con proteínas F de VRS no reticuladas); termoestabilidad mejorada (en comparación con proteínas F de VRS no reticuladas); vida útil prolongada (en comparación con proteínas F de VRS no reticuladas); semivida prolongada dentro del cuerpo de un sujeto (en comparación con proteínas F de VRS no reticuladas); capacidad para almacenarse en disolución sin formar agregados (incluyendo cuando está presente a una alta concentración en disolución); agregación reducida en la disolución (en comparación con proteínas F de VRS no reticuladas); unión a un anticuerpo; unión a un anticuerpo neutralizante; unión a un anticuerpo ampliamente neutralizante; unión a un anticuerpo específico de pre-F; unión a un anticuerpo que reconoce el sitio σ ; unión a un anticuerpo conformacionalmente específico; unión a un anticuerpo que reconoce un epítipo metaestable; unión a un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en D25, AM22 y 5C4 (anticuerpos que se describen en McLellan *et al.*, 2013, Science, 340, pág. 1113; Kwakkenbos *et al.*, 2010, Nature Medicine, 16, pág. 123; Spits & Beaumont, solicitud de patente estadounidense 12/600.950; Beaumont, Bakker & Yasuda, solicitud de patente estadounidense 12/898.325); unión a palivizumab (Synagis); unión al anticuerpo neutralizante 101F; unión a un receptor de células B; activación de un receptor de células B; provocación de una respuesta de anticuerpos en un animal; provocación de una respuesta de anticuerpos protectores en un animal; provocación de la producción de anticuerpos neutralizantes en un animal; provocación de la producción de anticuerpos ampliamente neutralizantes en un animal; provocación de la producción de anticuerpos que reconocen epítopos neutralizantes cuaternarios (QNE) en un animal; provocación de una respuesta inmunitaria protectora en un animal; y/o provocación de una respuesta inmunitaria humoral en un animal. En el caso de la unión a moléculas de anticuerpos, en algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención se unen a los anticuerpos (tales como anticuerpos específicos de pre-F, anticuerpos que se unen al sitio σ y/o D25, AM22 o 5C4) con alta especificidad y/o con alta afinidad.

Ensayos de propiedades

En algunas realizaciones pueden analizarse los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, o cualquier producto intermedio en su fabricación, para confirmar que tienen propiedades deseadas, tales como las propiedades estructurales, físicas, funcionales y/o biológicas deseadas, tales como las propiedades enumeradas anteriormente o identificadas en otra parte de esta memoria descriptiva de patente. Por ejemplo, en algunas realizaciones pueden realizarse ensayos *in vitro* o *in vivo* para evaluar la estructura conformacional, la

estabilidad (por ejemplo, termoestabilidad), la semivida (por ejemplo, dentro del cuerpo de un sujeto), la agregación en disolución, la unión a un anticuerpo (tal como un anticuerpo neutralizante, anticuerpo ampliamente neutralizante; anticuerpo específico de pre-F; anticuerpo que reconoce el sitio α , anticuerpo conformacionalmente específico, anticuerpo que reconoce un epítipo metaestable, D25, AM22, 5C4, 101F o palivizumab), la unión a un receptor de células B, la activación de un receptor de células B, la antigenicidad, la inmunogenicidad, la capacidad para provocar una respuesta de anticuerpos, la capacidad para provocar una respuesta protector/inmunitaria de anticuerpos, la capacidad para provocar la producción de anticuerpos neutralizantes o la capacidad para provocar la producción de anticuerpos ampliamente neutralizantes de la proteína F de VRS. En realizaciones en las que los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención se someten a prueba en un animal *in vivo*, el animal puede ser cualquier especie animal adecuada, incluyendo, pero sin limitarse a un mamífero (tal como una especie de roedor (por ejemplo, un ratón o una rata), un conejo, un hurón, una especie porcina, una especie bovina, una especie equina, una especie ovina o una especie de primate (por ejemplo, un primate humano o no humano), o una especie aviar (como un pollo).

Los ensayos para evaluar la estructura conformacional de una proteína se conocen bien en la técnica y puede usarse cualquier ensayo adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, análisis cristalográfico (por ejemplo, cristalografía de rayos X o cristalografía electrónica), análisis de sedimentación, ultracentrifugación analítica, microscopía electrónica (EM), microscopía crio-electrónica (crio-EM), tomografía crio-EM, resonancia magnética nuclear (RMN), dispersión de rayos X de ángulo pequeño, ensayos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), y similares.

Los ensayos para evaluar la estabilidad de una proteína se conocen bien en la técnica y puede usarse cualquier ensayo adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, electroforesis desnaturizante y no desnaturizante, calorimetría de titulación isotérmica y experimentos de evolución temporal en los que proteínas se incuban y analizan a lo largo del tiempo a diferentes concentraciones de proteínas, temperaturas, pH o condiciones de reducción-oxidación. También pueden analizarse proteínas para determinar su susceptibilidad a la degradación proteolítica.

Los ensayos para evaluar la unión de proteínas a anticuerpos se conocen bien en la técnica y puede usarse cualquier ensayo adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a, ensayos de inmunoprecipitación, ensayos de inmunoadsorción ligados a enzimas (ELISA), ensayos de puntos de inmunoadsorción ligados a enzimas (ELISPOT), ensayos cristalográficos (incluyendo cristalización de manera conjunta con anticuerpos), ensayos de resonancia de plasmón superficial (SPR), ensayos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y similares.

Los ensayos para evaluar la actividad de neutralización se conocen bien en la técnica y puede usar cualquier ensayo adecuado. Por ejemplo, pueden realizarse ensayos para determinar la actividad neutralizante de anticuerpos o antisueros generados por vacunación/inmunización de animales con los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención. Los ensayos de neutralización conocidos en la técnica incluyen, pero no se limitan a, los descritos por Dey *et al.* 2007 (Dey *et al.*, 2007, Characterization of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Monomeric and Trimeric gp120 Glycoproteins Stabilized in the CD4-Bound State: Antigenicity, Biophysics, and Immunogenicity. J Virol 81(11): 5579-5593) y Beddows *et al.*, 2006 (Beddows *et al.*, A comparative immunogenicity study in rabbits of disulfide-stabilized proteolytically cleaved, soluble trimeric human immunodeficiency virus type 1 gp140, trimeric cleavage-defective gp140 and monomeric gp120. Virol 360: 329-340).

Los ensayos para evaluar si un inmunógeno de vacuna es capaz de provocar una respuesta inmunitaria y/o demostrar inmunidad protectora se conocen bien en la técnica, y puede usarse cualquier ensayo adecuado. Por ejemplo, pueden realizarse ensayos para determinar si la vacunación/inmunización de animales con los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención proporcionan una respuesta inmunitaria y/o inmunidad protectora contra la infección con VRS. En algunas realizaciones pueden hacerse comparaciones entre grupos vacunados de prueba y placebo con respecto a sus tasas de infección o seroconversión o cargas virales.

Los ensayos para evaluar la farmacocinética y la biodistribución de una proteína también se conocen bien en la técnica, y puede usarse cualquier ensayo adecuado para evaluar estas propiedades de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención.

Composiciones

En algunas realizaciones la presente invención proporciona composiciones que comprenden cualquiera de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS descritos en el presente documento. En algunas realizaciones tales composiciones pueden ser composiciones inmunogénicas, composiciones de vacuna y/o composiciones terapéuticas. En algunas realizaciones, tales composiciones pueden administrarse a sujetos.

En algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden proporcionarse en una composición que comprende uno o más componentes activos adicionales, tal como uno o más inmunógenos de vacuna o agentes terapéuticos adicionales. En algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención pueden proporcionarse en una composición que comprende uno o más componentes distintos, incluyendo, sin limitarse a, portadores, adyuvantes, agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes del pH, conservantes y/o cualquier otro componente adecuado farmacéuticamente aceptables.

para el uso previsto de las composiciones. Tales composiciones pueden adoptar la forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones y similares. El término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye diversos diluyentes, excipientes y/o vehículos en los que, o con los que, pueden proporcionarse los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención. El término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye, pero no se limita a, portadores que se sabe que son seguros para su administración a seres humanos y/u otros sujetos animales, y/o aprobados por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal, y/o enumerados en la farmacopea de los Estados Unidos, y/u otra farmacopea reconocida generalmente, y/o que recibe la aprobación específica o individual de uno o más agencias reguladoras generalmente reconocidas para su uso en humanos y/u otros animales. Tales portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitarse a, agua, disoluciones acuosas (tales como disoluciones salinas, tampones y similares), disolventes orgánicos (tales como determinados alcoholes y aceites, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo), y similares. En algunas realizaciones las composiciones de la invención también comprenden uno o más adyuvantes. Los adyuvantes a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, adyuvantes inorgánicos u orgánicos, adyuvantes a base de aceite, virosomas, liposomas, lipopolisacáridos (LPS), jaulas moleculares para antígenos (tales como complejos inmunoestimulantes ("ISCOMS")), micelas de saponina/colecsterol modificadas por Ag que forman estructuras de tipo jaula que se transportan a los ganglios linfáticos drenantes), componentes de paredes celulares bacterianas, ácidos nucleicos sometidos a endocitosis (tales como ARN bicatenario (ARNbc), ADN monocatenario (ADNmc) y ADN que contiene dinucleótido de CpG no metilado), AUM, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio y escualeno. En algunas realizaciones se utilizan virosomas como adyuvante. Los adyuvantes disponibles comercialmente adicionales que pueden utilizarse según la presente invención incluyen, pero sin limitarse a, el sistema de adyuvantes Ribi (RAS, una emulsión de aceite en agua que contiene endotoxina detoxificada (MPL) y componentes de pared celular micobacteriana en escualeno al 2% (Sigma M6536)), TiterMax (un adyuvante de agua en aceite estable y metabolizable (CytRx Corporation 150 Technology Parkway Technology Park/Atlanta Norcross, Georgia 30092)), formulación de adyuvante Syntex (SAF, una emulsión de aceite en agua estabilizada por Tween 80 y un copolímero de bloque de polioxietileno/polioxipropileno plurónico L121 (Chiron Corporation, Emeryville, CA)), adyuvante completo de Freund, adyuvante incompleto de Freund, ALUM- hidróxido de aluminio, Al(OH)₃ (disponible como Alhydrogel, Accurate Chemical & Scientific Co, Westbury, NY), SuperCarrier (Syntex Research 3401 Hillview Ave. Apartado de correos 10850 Palo Alto, CA 94303), Elvax 40W1,2 (un copolímero de etileno-acetato de vinilo (DuPont Chemical Co. Wilmington, DE)), L-tirosina precipitada de manera conjunta con el antígeno (disponible de numerosas empresas químicas); Montanide (un manida-oleato, ISA Seppic Fairfield, NJ)), AdjuPrime (un polímero de hidratos de carbono), proteína absorbida en nitrocelulosa, adyuvante de Gerbu (C-C Biotech, Poway, CA), y similares.

En algunas realizaciones las composiciones de la invención comprenden una "cantidad eficaz" de un polipéptido, proteína y/o complejo proteico F de VRS de la invención. Una "cantidad eficaz" es una cantidad requerida para lograr un resultado final deseado. Los ejemplos de resultados finales deseados incluyen, sin limitarse a, la generación de una respuesta inmunitaria humoral, la generación de una respuesta de anticuerpos neutralizantes, la generación de una respuesta de anticuerpos ampliamente neutralizantes y la generación de inmunidad protectora. La cantidad de un polipéptido, proteína y/o complejo proteico F de VRS de la invención que es eficaz para lograr el resultado final deseado dependerá de una variedad de factores incluyendo, sin limitarse a, el tipo, subtipo y cepa del virus VRS contra el cual se busca la protección o algún otro efecto terapéutico, la especie del sujeto previsto (por ejemplo, si es un ser humano o alguna otra especie animal), la edad y/o sexo del sujeto previsto, la vía de administración prevista, el régimen de dosificación previsto, la gravedad de cualquier infección por influenza en curso (por ejemplo, en el caso de usos terapéuticos), y similares. La cantidad eficaz, que puede ser un intervalo de cantidades eficaces, puede determinarse mediante técnicas convencionales sin ninguna experimentación excesiva, por ejemplo, utilizando ensayos *in vitro* y/o ensayos *in vivo* en la especie objeto prevista o cualquier especie modelo animal adecuada. Los ensayos adecuados incluyen, pero no se limitan a, aquellos que implican extrapolación a partir de curvas de dosis-respuesta y/u otros datos derivados de sistemas de modelos *in vivo* y/o *in vitro*. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz puede determinarse según el criterio de un profesional médico o veterinario basándose en las circunstancias específicas.

Usos de los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden ser útiles como herramientas de investigación, como herramientas de diagnóstico, como agentes terapéuticos, como dianas para la producción de reactivos de anticuerpos o anticuerpos terapéuticos, y/o como vacunas o componentes de composiciones de vacuna. Por ejemplo, en algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención son útiles como inmunógenos de vacuna en sujetos animales, tales como sujetos mamíferos, incluyendo seres humanos. Estos y otros usos de los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención se describen más detalladamente a continuación. Los expertos en la técnica apreciarán que los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden ser útiles también para una variedad de otras aplicaciones, y se pretende que todas de tales aplicaciones y usos se encuentren dentro del alcance de esta invención.

Herramientas para el estudio de anticuerpos F de VRS

En una realización, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden ser útiles como analitos para el ensayo y/o de la medición de la unión de y/o títulos de, anticuerpos anti-F de VRS, por ejemplo en ensayos ELISA, ensayos de unión Biacore/SPR, y/o cualquier otro ensayo de unión de anticuerpos conocido en la

técnica. Por ejemplo, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención podrían utilizarse para analizar y/o comparar la eficacia de anticuerpos anti-F de VRS.

Herramientas para la generación de anticuerpos

Los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención también pueden ser útiles para la generación de anticuerpos terapéuticos y/o anticuerpos que pueden utilizarse como herramientas de investigación o para cualquier otro uso deseado. Por ejemplo, los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden utilizarse para inmunizaciones para obtener anticuerpos contra la proteína F de VRS para su uso como herramientas de investigación y/o productos terapéuticos. En algunas realizaciones los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención pueden utilizarse para inmunizar a un animal no humano, tal como un vertebrado, incluyendo, pero sin limitarse a, un ratón, una rata, una cobaya, un conejo, una cabra, un primate no humano, etc. para generar anticuerpos. Tales anticuerpos, que pueden ser monoclonales o policlonales, y/o células que producen tales anticuerpos, entonces pueden obtenerse a partir del animal. Por ejemplo, en algunas realizaciones, puede utilizarse polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención para inmunizar a un ratón y producir y obtener anticuerpos monoclonales, y/o hibridomas que producen tales anticuerpos monoclonales. Tales métodos pueden llevarse a cabo utilizando métodos convencionales conocidos en la técnica para la producción de anticuerpos monoclonales de ratón, incluyendo métodos convencionales para la producción de hibridomas. En algunas realizaciones, pueden utilizarse polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención para la producción de un anticuerpo quimérico (por ejemplo, parcialmente humano), humanizado o totalmente humano, por ejemplo, utilizando cualquiera de los métodos actualmente conocidos en la técnica para la producción de anticuerpos quiméricos, humanizados y totalmente humanos, incluyendo, pero sin limitarse a, métodos de injerto de CDR, métodos de presentación en fagos, métodos de ratón transgénico (por ejemplo, que utilizan un ratón que se ha alterado genéticamente para permitir la producción de anticuerpos totalmente humanos, tal como el Xenomouse) y/o cualquier otro método adecuado conocido en la técnica. Los anticuerpos contra los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención preparados utilizando tales sistemas pueden caracterizarse de manera antigénica utilizando uno o un conjunto de varios antígenos, preferiblemente incluyendo los polipéptidos, proteínas y complejos proteicos F de VRS de la invención por sí mismos. Puede llevarse a cabo una caracterización adicional de tales anticuerpos mediante cualquier método convencional conocido para un experto habitual en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, métodos basados en ELISA, métodos basados en SPR, métodos bioquímicos (tales como, pero sin limitarse a, la determinación de puntos isoelectrónicos) y métodos conocidos en la técnica para estudiar la biodistribución, la seguridad y la eficacia de anticuerpos, por ejemplo en estudios preclínicos y clínicos.

Administración a sujetos

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona métodos que comprenden administrar los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención (o composiciones que comprenden tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS) a sujetos. Tales métodos pueden incluir métodos para tratar a individuos que tienen VRS (es decir, métodos terapéuticos) y/o métodos para proteger a individuos contra futuras infecciones de VRS (es decir, métodos profilácticos).

Los sujetos a los que pueden administrarse los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, o composiciones que comprenden tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS (por ejemplo, en el transcurso de un método de tratamiento o un método de vacunación) incluyen todas y cada una de las especies animales, incluyendo, en particular, aquellas que son susceptibles a la infección de VRS o que pueden proporcionar sistemas animales modelo para el estudio de la infección de VRS. En algunas realizaciones, los sujetos son especies de mamíferos. En algunas realizaciones, los sujetos son especies aviares. Los sujetos mamíferos incluyen, pero no se limitan a, seres humanos, primates no humanos, roedores, conejos y hurones. Los sujetos aviares incluyen, pero no se limitan a, pollos, tales como aquellos de las granjas avícolas. En algunas realizaciones, los sujetos a los que se administran los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, o composiciones que comprenden tales polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS, o bien tienen VRS, o bien están en riesgo de infección de VRS. En algunas realizaciones, los sujetos están inmunodeprimidos. En algunas realizaciones, los sujetos tienen un trastorno o enfermedad cardíaca. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano de más de alrededor de 50 años de edad, más de alrededor de 55 años de edad, más de alrededor de 60 años de edad, más de alrededor de 65 años de edad, más de alrededor de 70 años de edad, más de alrededor de 75 años de edad, más de alrededor de 80 años de edad, más de alrededor de 85 años de edad o más de alrededor de 90 años de edad. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano de menos de alrededor de 1 mes de edad, menos de alrededor de 2 meses de edad, menos de alrededor de 3 meses de edad, menos de alrededor de 4 meses de edad, menos de alrededor de 5 meses de edad, menos de alrededor de 6 meses de edad, menos de alrededor de 7 meses de edad, menos de alrededor de 8 meses de edad, menos de alrededor de 9 meses de edad, menos de alrededor de 10 meses de edad, menos de alrededor de 11 meses de edad, menos de alrededor de 12 meses de edad, menos de alrededor de 13 meses de edad, menos de alrededor de 14 meses de edad, menos de alrededor de 15 meses de edad, menos de alrededor de 16 meses de edad, menos de alrededor de 17 meses de edad, menos de alrededor de 18 meses de edad, menos de alrededor de 19 meses de edad, menos de alrededor de 20 meses de edad, menos de alrededor de 21 meses de edad, menos de alrededor de 22 meses de edad, menos de alrededor de 23 meses de edad o menos de alrededor de 24 meses de edad.

Se conocen diversos sistemas de administración en la técnica y puede usarse cualquier sistema de administración adecuado para administrar las composiciones de la presente invención a sujetos. Tales sistemas de administración incluyen, pero sin limitarse a, sistemas de administración intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de los revestimientos epitelial o mucocutáneo (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. También puede emplearse administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente de aerosolización.

En algunas realizaciones, puede ser deseable administrar localmente las composiciones farmacéuticas de la invención a un tejido en el que el polipéptido o proteína F de VRS puede ser más eficaz en la generación de un resultado deseable. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante infusión, inyección, administración local utilizando un catéter, o por medio de un implante, como un implante poroso, no poroso o gelatinoso o un implante que comprende una o más membranas (tales como membranas sialásticas) o fibras desde o a través de las cuales la proteína o complejos proteicos pueden liberarse localmente. En algunas realizaciones, puede usarse un sistema de liberación controlada. En algunas realizaciones, puede usarse una bomba (véase Langer, citado anteriormente; Sefton, 1987. CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201; Buchwald *et al.*, 1980. Surgery 88: 507; Saudek *et al.*, 1989. N. Engl. J. Med. 321:574). En algunas realizaciones, pueden utilizarse materiales poliméricos para facilitar y/o controlar la liberación de la proteína F de perfusión de VRS de la invención (véanse Medical Applications of Controlled Release, Langer y Wise (eds.), 1974. CRC Pres., Boca Raton, Florida; Controlled Drug Bioavailability, 1984. Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York; Ranger y Peppas, 1983 Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23: 61; véanse también Levy *et al.*, 1985. Science 228:190; During *et al.*, 1989. Ann. Neurol. 25: 351; Howard *et al.*, 1989. J. Neurosurg 71:105). En algunas realizaciones, puede colocarse un sistema de liberación controlada en proximidad al tejido/órgano al que va a suministrarse el polipéptido o proteína F de perfusión de VRS (véase, por ejemplo, Goodson, 1984. Medical Applications of Controlled Release, citado anteriormente, vol. 2: 115-138). Algunos sistemas adecuados de liberación controlada que pueden utilizarse junto con la presente invención se describen en Langer, 1990, Science; vol. 249: págs. 527-1533

En algunas realizaciones, la administración de las composiciones de la invención puede realizarse junto con la administración de uno o más agentes inmunoestimulantes. Los ejemplos no limitativos de tales agentes inmunoestimulantes incluyen diversas citocinas, linfocinas y quimiocinas con actividades inmunoestimulantes, inmunopotenciadoras y proinflamatorias, tales como interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-12, IL-13); factores de crecimiento (por ejemplo, factor estimulante de colonias (CSF) de granulocitos-macrófagos (GM)); y otros agentes inmunoestimulantes, tales como factor inflamatorio de macrófagos, ligando Flt3, B7.1; B7.2. Los agentes inmunoestimulantes pueden administrarse en la misma formulación que el polipéptido o proteína F de VRS, o pueden administrarse por separado.

En algunas realizaciones, los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención, o composiciones que los comprenden, pueden administrarse a sujetos en una variedad de diferentes métodos o regímenes de vacunación de VRS. En algunas de tales realizaciones, se prefiere la administración de una única dosis. Sin embargo, en otras realizaciones, pueden administrarse dosis adicionales, por la misma vía o diferente, para lograr el efecto profiláctico deseado. En recién nacidos y lactantes, por ejemplo, pueden requerirse múltiples administraciones para provocar niveles suficientes de inmunidad. La administración puede continuar a intervalos a lo largo de la infancia, según sea necesario para mantener niveles suficientes de protección contra la infección de VRS. De manera similar, adultos que son particularmente susceptibles a la infección de VRS, tales como, por ejemplo, los ancianos y los individuos inmunodeprimidos, pueden requerir múltiples inmunizaciones para establecer y/o mantener respuestas inmunitarias protectoras. Los niveles de inmunidad inducida pueden monitorizarse, por ejemplo, midiendo cantidades de anticuerpos secretores y séricos neutralizantes, y ajustarse las dosificaciones o repetirse las vacunaciones según sea necesario para provocar y mantener los niveles de protección deseados.

En algunas realizaciones, los regímenes de dosificación pueden comprender una sola administración/inmunización. En otras realizaciones, los regímenes de dosificación pueden comprender múltiples administraciones/inmunizaciones. Por ejemplo, las vacunas pueden administrarse como una inmunización primaria seguida de uno o más refuerzos. En algunas realizaciones de la presente invención, puede utilizarse un régimen de vacunación de "sensibilización-refuerzo" de este tipo. Por ejemplo, en algunos de estos regímenes de sensibilización-refuerzo puede administrarse una composición que comprende un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS tal como se describe en el presente documento a un individuo en múltiples ocasiones (tal como dos, tres o incluso más ocasiones) separadas en el tiempo, siendo la primera administración la administración de "sensibilización" y siendo las administraciones subsecuentes las administraciones de "refuerzo". En otros regímenes de sensibilización-refuerzo puede administrarse una composición que comprende un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS tal como se describe en el presente documento a un individuo después de administrar en primer lugar al individuo una composición que comprende un vector viral o de ADN que codifica para un polipéptido, proteína o complejo proteico VRS como una administración de "sensibilización", con una o más administraciones de "refuerzo" posteriores de una composición que comprende un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS tal como se describe en el presente documento.

Pueden administrarse refuerzos a través de la misma ruta y/o diferente que la inmunización primaria. Los refuerzos se administran generalmente después de un período de tiempo después de la inmunización primaria o el refuerzo previamente administrado. Por ejemplo, puede administrarse un refuerzo alrededor de dos semanas o más después de una inmunización primaria, y/o puede administrarse un refuerzo segundo alrededor de dos semanas o más después de los primeros refuerzos. Los refuerzos pueden administrarse repetidamente en períodos de tiempo, por ejemplo, alrededor de dos semanas o más a lo largo de toda la vida de un sujeto. Los refuerzos pueden estar espaciados, por ejemplo, alrededor de dos semanas, alrededor de tres semanas, alrededor de cuatro semanas, alrededor de un mes, alrededor de dos meses, alrededor de tres meses, alrededor de cuatro meses, alrededor de cinco meses, alrededor de seis meses, alrededor de siete meses, alrededor de ocho meses, alrededor de nueve meses, alrededor de diez meses, alrededor de once meses, alrededor de un año, alrededor de un año y medio, alrededor de dos años, alrededor de dos años y medio, alrededor de tres años, alrededor de tres años y medio, alrededor de cuatro años, alrededor de cuatro años y medio, alrededor de cinco años o más después de una inmunización primaria o después de un refuerzo previo.

Formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis o unidad (por ejemplo, una cantidad eficaz), o una fracción apropiada de la misma, de los polipéptidos, proteínas y/o complejos proteicos F de VRS de la invención. Además de tales componentes, las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes comúnmente utilizados por un experto habitual en la técnica. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención pueden presentarse convenientemente en formulaciones de dosificación unitaria preferidas preparadas utilizando técnicas farmacéuticas convencionales. Tales técnicas incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo y el(los) excipiente(s) o portador(es) farmacéutico(s) u otros componentes. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el principio activo con portadores líquidos. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen disoluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitaria o múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere únicamente la adición del portador de líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse disoluciones y suspensiones de inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles comúnmente utilizados por un experto habitual en la técnica.

Kits

La presente descripción proporciona además kits que comprenden polipéptidos, proteínas o complejos proteicos de VRS de la descripción, o composiciones que contienen tales polipéptidos, proteínas o complejos proteicos. Para facilitar el uso de los métodos y composiciones de la descripción, cualquiera de los componentes y/o composiciones descritos en el presente documento, y componentes adicionales útiles para fines experimentales o terapéuticos o de vacuna, pueden envasarse en forma de un kit. Normalmente, el kit contiene, además de los componentes anteriores, materiales adicionales que pueden incluir, por ejemplo, instrucciones para utilizar los componentes, material de envasado, un recipiente y/o un dispositivo de administración.

Diversas realizaciones de la presente invención también pueden describirse adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos:

Ejemplo

Se expresaron las variantes de proteína F de VRS E222Y (SEQ ID NO:13), K226Y (SEQ ID NO:15), V469Y (SEQ ID NO:16), N88Y/S255Y (SEQ ID NO:18), V185Y/K427Y (SEQ ID NO:20) en células humanas modificadas mediante la introducción de uniones de ditirosina tal como se describe a continuación.

Plásmidos de expresión. Se optimizaron los codones de ADNc que codifica para una fusión C-terminal del ectodominio F de VRS humano WT o ectodominio de proteína DS-Cav1 al motivo de trimerización Foldon de fibrina T4, sitio de escisión de trombina, etiqueta de 6X HIS (SEQ ID NO: 46) y etiqueta de estrep. para expresión en seres humanos y se sintetizó (Geneart). También se sintetizó ADNc que codifica para las variantes de proteína F de VRS E222Y (SEQ ID NO:13), K226Y (SEQ ID NO:15), V469Y (SEQ ID NO:16), N88Y/S255Y (SEQ ID NO:18), V185Y/K427Y (SEQ ID NO:20). Estas secuencias de ADN se clonaron en el vector de expresión pCDNA3.1/zeo+ (Invitrogen) a través de sitios de endonucleasas de restricción 5' BamHI y 3' XhoI utilizando métodos convencionales (figura 33).

Células y transfecciones. Se hicieron crecer células HEK 293 (ATCC) en medio Eagle con modificación de Dulbecco (DMEM, Invitrogen) suplementadas con suero bovino fetal al 10% y gentamicina 50 µg/ml. Se sembraron las células en placas de cultivo tisular de 6 pocillos (Corning) y se hicieron crecer hasta que eran confluentes al 80% (~24 h). Se transfectaron las células con 2 µg de cada plásmido de expresión de F de VRS por pocillo utilizando una razón 1:4 (M/V) de ADN con respecto a polietilenimina (25 kDa, lineal). 16 h después de la transfección, se retiró el medio y se reemplazó por 2 ml/pocillo de medio de expresión Freestyle-293 libre de suero (Invitrogen). Se cultivaron células a 37 grados C durante unas 48 h-72 h adicionales en el 5% de CO₂ antes de la recolección y el análisis.

Detección de F de VRS en sobrenadantes celulares mediante ELISA. Después de la recolección, la proteína F de VRS total se capturó directamente a partir de sobrenadantes celulares durante 1 h a temperatura ambiente en placas de 96 pocillos de alta unión de EIA/RIA (Corning). Los pocillos que contienen proteínas y de control se bloquearon posteriormente con leche desnatada al 4% en PBS-Tween20 (0,05%) durante 1 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 3 veces con PBS-T (400 µl/pocillo). Se detectó F de VRS total durante 1 h utilizando un anticuerpo humano anti-hVRS de alta afinidad (100 ng/ml en PBS) que reconoce tanto la forma de pre- como post-fusión de F de VRS. La F de prefusión se detectó utilizando un anticuerpo monoclonal humano específico de pre-F (2 µg/ml en PBS) que reconoce el sitio Ø. Los pocillos se lavaron de nuevo 3 veces en PBS-T seguido por una incubación a temperatura ambiente de 1 h con un anticuerpo de cabra anti-F(ab)₂ humano conjugado con HRP (Jackson Immunoresearch) en una dilución 1:5000 en PBS. Los pocillos se lavaron 6 veces con PBS-T y se detectó F de VRS total y se cuantificó utilizando 100 µl de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) para producir una señal colorimétrica. La reacción colorimétrica se detuvo mediante la adición de ácido sulfúrico 4 N de igual volumen. Las lecturas de densidad óptica final se tomaron a 450 nm utilizando un espectrofotómetro de absorbancia de microplacas BioRad Benchmark Plus. Se utilizó una serie de diluciones en serie de dos veces para cada sobrenadante para determinar el intervalo lineal de señal detectable para cada muestra, permitiendo una comparación precisa de la cantidad relativa de F de VRS entre muestras (figura 35).

Reticulación de di-tirosina en sobrenadantes celulares. Inmediatamente después de la recolección, se transfirieron 100 µl de sobrenadantes celulares transfectados y de control a pocillos de placas de FIA de 96 pocillos sin unión, de fondo plano, negras (Greiner bio-one). Se añadieron 300 ng de peroxidasa de *Arthromyces ramosus* a cada muestra que iba a reticularse. Entonces, se añadió 1 µl de H₂O₂ 1,2 mM a tanto reacciones de control como de DT para una concentración de reacción final de H₂O₂ 120 µM. Se permitió que las reacciones continuaran durante 20 minutos a temperatura ambiente, seguido de la alcalinización de las reacciones mediante adición de un tampón fosfato de sodio de igual volumen a pH 10. La fluorescencia específica de di-tirosina se leyó a una longitud de onda de excitación de 320 nm y una longitud de onda de emisión de 405 nm utilizando un dispositivo Thermo Scientific Fluoroskan Ascent FL (figura 34).

72 h después de la transfección, se reticularon los sobrenadantes (DT) o se dejaron sin reticular y se midió la proteína total mediante ELISA utilizando un anticuerpo humano anti-hVRS de alta afinidad (100 ng/ml en PBS) que reconoce tanto la forma de pre- como de post-fusión de F de VRS. Véase la figura 35A. Tras el almacenamiento a 4 grados C durante 16 días, se midió la presentación del sitio Ø mediante ELISA utilizando un anticuerpo monoclonal humano específico de preF (2 µg/ml en PBS) que reconoce el sitio Ø. Se encontró que las reticulaciones de di-tirosina estabilizan el epítipo clave en la proteína F de prefusión de VRS. Véase la figura 35B.

La invención se define en cuanto a las siguientes reivindicaciones.

Lista de secuencias

<110> MARSHALL, CHRISTOPHER ALFF, PETER BERTUCCIOLI, CLAUDIO MARIANI, ROBERTO MCLELLAN, JASON

<120> PROTEÍNAS F DE PRE-FUSIÓN DE VRS ESTABILIZADAS CONFORMACIONALMENTE

<130> AVATAR.007.WO1

<140>

<141>

<150> 61/858.533

<151> 25-07-2013

<160> 47

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 568

<212> PRT

<213> Virus respiratorio sincitial humano

<400> 1

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu	145	150	155	160
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys	165	170	175	
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val	180	185	190	
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn	195	200	205	
Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln	210	215	220	
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn	225	230	235	240
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu	245	250	255	
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys	260	265	270	
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile	275	280	285	
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro	290	295	300	
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro	305	310	315	320
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg	325	330	335	
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe	340	345	350	
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp	355	360	365	
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val	370	375	380	
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr	385	390	395	400

ES 2 773 309 T3

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 2

<211> 574

<212> PRT

<213> Virus respiratorio sincitial humano

<400> 2

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

5

10

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser

ES 2 773 309 T3

545

550

555

560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
565 570

<210> 3

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Virus respiratorio sincitial humano

<400> 3

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

450		455		460
Lys Asn Leu Tyr Val	Lys Gly Glu Pro Ile	Ile Asn Tyr Tyr Asp	Pro	
465	470	475	480	
Leu Val Phe Pro Ser	Asp Glu Phe Asp	Ala Ser Ile Ser Gln	Val Asn	
	485	490	495	
Glu Lys Ile Asn Gln	Ser Leu Ala Phe	Ile Arg Lys Ser	Asp Glu Leu	
	500	505	510	
Leu Ser Ala Ile Gly	Gly Tyr Ile Pro	Glu Ala Pro Arg	Asp Gly Gln	
	515	520	525	
Ala Tyr Val Arg Lys	Asp Gly Glu Trp	Val Leu Leu Ser	Thr Phe Leu	
	530	535	540	
Gly Gly Leu Val Pro	Arg Gly Ser His	His His His His	Ser Ala	
545	550	555	560	
Trp Ser His Pro	Gln Phe Glu Lys			
	565			

<210> 4

<211> 574

5 <212> PRT

<213> Virus respiratorio sincitial humano

<400> 4

ES 2 773 309 T3

Met Glu Leu Leu Ile His Arg Ser Ser Ala Ile Phe Leu Thr Leu Ala
1 5 10 15

Ile Asn Ala Leu Tyr Leu Thr Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

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

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Thr Glu Thr Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Ala Pro
100 105 110

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

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

<210> 5

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

ES 2 773 309 T3

<400> 5

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 6

<211> 574

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 6

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
565 570

<210> 7

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 7

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

260					265					270					
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
		275					280					285			
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
	290					295					300				
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
305					310					315					320
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
				325					330					335	
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
			340					345					350		
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
		355					360					365			
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val
	370					375					380				
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr
385					390					395					400
Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys
				405					410					415	
Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile
			420					425					430		
Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp
		435					440					445			
Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly
	450					455					460				
Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro
465					470					475					480
Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn
				485					490					495	
Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu
			500					505					510		

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 8

<211> 574

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 8

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

ES 2 773 309 T3

Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu	145	150	155	160
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys	165	170	175	
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Phe	Lys	Val	180	185	190	
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Leu	Asn	195	200	205	
Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln	210	215	220	
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn	225	230	235	240
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu	245	250	255	
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys	260	265	270	
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile	275	280	285	
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro	290	295	300	
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro	305	310	315	320
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg	325	330	335	
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe	340	345	350	
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp	355	360	365	
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val	370	375	380	
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr	385	390	395	400

ES 2 773 309 T3

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
565 570

<210> 9

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 9

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

530

535

540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 10

<211> 574

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 10

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys

ES 2 773 309 T3

165								170					175			
Ala	Val	Val	Ser 180	Leu	Ser	Asn	Gly	Val 185	Ser	Val	Leu	Thr	Ser 190	Lys	Val	
Leu	Asp	Leu 195	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp 200	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro 205	Ile	Val	Asn	
Lys	Gln 210	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser 215	Asn	Ile	Glu	Thr	Val 220	Ile	Glu	Phe	Gln	
Gln 225	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu 230	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg 235	Glu	Phe	Ser	Val	Asn 240	
Ala	Gly	Val	Thr 245	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr 250	Met	Leu	Thr	Asn	Ser 255	Glu	
Leu	Leu	Ser	Leu 260	Ile	Asn	Asp	Met	Pro 265	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln 270	Lys	Lys	
Leu	Met	Ser 275	Asn	Asn	Val	Gln	Ile 280	Val	Arg	Gln	Gln	Ser 285	Tyr	Ser	Ile	
Met	Cys 290	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu 295	Val	Leu	Ala	Tyr	Val 300	Val	Gln	Leu	Pro	
Leu 305	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp 310	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys 315	Leu	His	Thr	Ser	Pro 320	
Leu	Cys	Thr	Thr 325	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser 330	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr 335	Arg	
Thr	Asp	Arg	Gly 340	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn 345	Ala	Gly	Ser	Val	Ser 350	Phe	Phe	
Pro	Gln	Ala 355	Glu	Thr	Cys	Lys	Val 360	Gln	Ser	Asn	Arg	Val 365	Phe	Cys	Asp	
Thr	Met 370	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu 375	Pro	Ser	Glu	Val	Asn 380	Leu	Cys	Asn	Val	
Asp 385	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys 390	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile 395	Met	Thr	Ser	Lys	Thr 400	
Asp	Val	Ser	Ser 405	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu 410	Gly	Ala	Ile	Val	Ser 415	Cys	

ES 2 773 309 T3

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
565 570

<210> 11

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 11

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525
 Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540
 Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His Ser Ala
 545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 12

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 12

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 13
<211> 568
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 13

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys

ES 2 773 309 T3

65					70						75				80
Gln	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Lys	Asn	Ala	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Leu	Leu
				85					90				95		
Met	Gln	Ser	Thr	Pro	Ala	Thr	Asn	Asn	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Pro
			100					105					110		
Arg	Phe	Met	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asn	Ala	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Thr
		115					120					125			
Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val
	130					135					140				
Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu
145					150					155					160
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
				165					170					175	
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val
			180					185					190		
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn
		195					200					205			
Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Tyr	Phe	Gln
	210					215					220				
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
225					230					235					240
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
				245					250					255	
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
			260					265					270		
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
		275					280					285			
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
	290					295					300				
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
305					310					315					320

ES 2 773 309 T3

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525
 Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540
 Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
 545 550 555 560
 Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 565

<210> 14

<211> 568
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 14

10

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

ES 2 773 309 T3

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

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 15

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 15

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

ES 2 773 309 T3

Met	Gln	Ser	Thr	Pro	Ala	Thr	Asn	Asn	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Pro
			100				105						110		
Arg	Phe	Met	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asn	Ala	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Thr
			115				120						125		
Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val
			130				135						140		
Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu
			145				150						155	160	
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
			165				170						175		
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val
			180				185						190		
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn
			195				200						205		
Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln
			210				215						220		
Gln	Tyr	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
			225				230						235	240	
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
			245				250						255		
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
			260				265						270		
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
			275				280						285		
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
			290				295						300		
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
			305				310						315	320	
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
			325				330						335		
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe

ES 2 773 309 T3

340					345					350					
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
		355					360					365			
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val
	370					375					380				
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr
385					390					395					400
Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys
				405					410					415	
Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile
			420					425					430		
Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp
	435						440					445			
Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly
	450					455					460				
Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro
465					470					475					480
Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn
				485					490					495	
Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu
			500					505					510		
Leu	Ser	Ala	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ile	Pro	Glu	Ala	Pro	Arg	Asp	Gly	Gln
		515					520					525			
Ala	Tyr	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Trp	Val	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Leu
	530					535					540				
Gly	Gly	Leu	Val	Pro	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ser	Ala
545					550					555					560
Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe	Glu	Lys								
				565											

<210> 16

<211> 568

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 773 309 T3

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

5

<400> 16

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

ES 2 773 309 T3

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

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 17

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 17

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Tyr Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 18

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 18

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 19

<211> 568

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 19

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Tyr Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

ES 2 773 309 T3

Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val
130135140															
Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	Tyr	Leu
145150155160															
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
165170175															
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val
180185190															
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn
195200205															
Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln
210215220															
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
225230235240															
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
245250255															
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
260265270															
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
275280285															
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
290295300															
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
305310315320															
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
325330335															
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
340345350															
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
355360365															
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val
370375380															

ES 2 773 309 T3

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 20
<211> 568
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 20

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

515

520

525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 21

<211> 568

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 21

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu

ES 2 773 309 T3

145		150		155		160
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys						
		165		170		175
Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Tyr Leu Thr Ser Lys Val						
		180		185		190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn						
		195		200		205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln						
		210		215		220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn						
		225		230		235
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu						
		245		250		255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys						
		260		265		270
Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile						
		275		280		285
Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro						
		290		295		300
Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro						
		305		310		315
Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg						
		325		330		335
Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe						
		340		345		350
Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp						
		355		360		365
Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val						
		370		375		380
Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr						
		385		390		395
						400

ES 2 773 309 T3

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Tyr Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 22

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 22

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro	290	295	300
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro	305	310	315
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg	325	330	335
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe	340	345	350
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp	355	360	365
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val	370	375	380
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr	385	390	395
Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys	405	410	415
Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Tyr	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile	420	425	430
Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp	435	440	445
Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly	450	455	460
Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro	465	470	475
Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn	485	490	495
Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu	500	505	510
Leu	Ser	Ala	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ile	Pro	Glu	Ala	Pro	Arg	Asp	Gly	Gln	515	520	525
Ala	Tyr	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Trp	Val	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Leu	530	535	540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 23
<211> 568
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 23

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Tyr Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

	420		425		430												
	Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp	
			435					440					445				
	Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly	
		450					455					460					
	Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro	
	465					470					475					480	
	Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn	
					485					490					495		
	Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu	
				500					505					510			
	Leu	Ser	Ala	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ile	Pro	Glu	Ala	Pro	Arg	Asp	Gly	Gln	
		515						520					525				
	Ala	Tyr	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Trp	Val	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Leu	
		530					535					540					
	Gly	Gly	Leu	Val	Pro	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ser	Ala	
	545					550					555					560	
	Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe	Glu	Lys									
					565												
	<210>	24															
	<211>	568															
5	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
	<220>																
	<221>	fuerce															
10	<223>	/nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"															
	<400>	24															
	Met	Glu	Leu	Leu	Ile	Leu	Lys	Ala	Asn	Ala	Ile	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr	
	1				5					10					15		
	Ala	Val	Thr	Phe	Cys	Phe	Ala	Ser	Gly	Gln	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Phe	
				20					25					30			
	Tyr	Gln	Ser	Thr	Cys	Ser	Ala	Val	Ser	Lys	Gly	Tyr	Leu	Ser	Ala	Leu	
			35					40					45				
	Arg	Thr	Gly	Trp	Tyr	Thr	Ser	Val	Ile	Thr	Ile	Glu	Leu	Ser	Asn	Ile	

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525
 Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540
 Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
 545 550 555 560
 Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 565

<210> 25
 <211> 568
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 25

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 26

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 26

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

ES 2 773 309 T3

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125
 Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205
 Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Tyr Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg

ES 2 773 309 T3

				325				330				335					
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe		
			340				345						350				
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp		
			355				360						365				
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val		
			370				375						380				
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr		
385						390						395			400		
Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys		
			405						410						415		
Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile		
			420						425						430		
Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp		
			435						440						445		
Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly		
			450						455						460		
Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro		
465						470						475			480		
Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn		
			485						490						495		
Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu		
			500						505						510		
Leu	Ser	Ala	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ile	Pro	Glu	Ala	Pro	Arg	Asp	Gly	Gln		
			515						520						525		
Ala	Tyr	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Trp	Val	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Leu		
			530			535						540					
Gly	Gly	Leu	Val	Pro	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ser	Ala		
545						550						555			560		
Trp	Ser	His	Pro	Gln	Phe	Glu	Lys										
			565														

<210> 27

<211> 568
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 27

10 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Cys Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Phe Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Leu Asn
 195 200 205

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 28

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 28

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

ES 2 773 309 T3

Met	Gln	Ser	Thr	Pro	Ala	Thr	Asn	Asn	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Pro
			100				105						110		
Arg	Phe	Met	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asn	Ala	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Thr
			115				120						125		
Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val
			130				135						140		
Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Cys	Lys	Val	Leu	His	Leu
			145				150						155	160	
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
			165				170						175		
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Phe	Lys	Val
			180				185						190		
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Leu	Asn
			195				200						205		
Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln
			210				215						220		
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
			225				230						235	240	
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
			245				250						255		
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
			260				265						270		
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
			275				280						285		
Met	Cys	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
			290				295						300		
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
			305				310						315	320	
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
			325				330						335		
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
			340				345						350		

ES 2 773 309 T3

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 29
<211> 568
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

ES 2 773 309 T3

<400> 29

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Tyr Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn

ES 2 773 309 T3

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

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 30

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 30

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 31

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 31

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Cys Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu

ES 2 773 309 T3

500

505

510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 32

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 32

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val

ES 2 773 309 T3

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

ES 2 773 309 T3

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Tyr Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser His His His His His His Ser Ala
545 550 555 560

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
565

<210> 33

<211> 1725

<212> ADN

<213> Virus respiratorio sincitial humano

<400> 33

atggagttgc taatcctcaa agcaaagtca attaccacaa tcctcactgc agtcacattt	60
tgttttgctt ctggtcaaaa catcactgaa gaattttatc aatcaacatg cagtgcagtt	120
agcaaaggct atcttagtgc tctgagaact ggttggtata ccagtgttat aactatagaa	180
ttaagtaata tcaagaaaaa taagtgtaat ggaacagatg ctaaggtaaa attgataaaa	240
caagaattag ataaatataa aaatgctgta acagaattgc agttgctcat gcaaagcaca	300
ccagcaacaa acaatcgagc cagaagagaa ctaccaaggt ttatgaatta tacactcaac	360
aatgccaaaa aaaccaatgt aacattaagc aagaaaagga aaagaagatt tcttggtttt	420
ttggttagtg ttggatctgc aatcgccagt ggcgttgctg tatctaaggt cctgcaccta	480
gaaggggaag tgaacaagat caaaagtgtc ctactatcca caaacaaggc tgtagtcagc	540
ttatcaaagt gagtcagtgt cttaccagc aaagtgttag acctcaaaaa ctatatagat	600
aaacaattgt tacctattgt gaacaagcaa agctgcagca tatcaaatat agaaactgtg	660
atagagttcc aacaaaagaa caacagacta ctagagatta ccagggaatt tagtgттаат	720
gcaggtgtaa ctacacctgt aagcacttac atgttaacta atagtgaatt attgtcatta	780
atcaatgata tgcctataac aaatgatcag aaaaagttaa tgtccaacaa tgttcaaata	840
gtagacagc aaagtactc tatcatgtcc ataataaaag aggaagtctt agcatatgta	900
gtacaattac cactatatgg tgttatagat acaccctgtt ggaaactaca cacatcccct	960
ctatgtacaa ccaacacaaa agaagggtcc aacatctgtt taacaagaac tgacagagga	1020
tggtactgtg acaatgcagg atcagtatct ttcttcccac aagctgaaac atgtaaagtt	1080
caatcaaatc gagtattttg tgacacaatg aacagtttaa cattaccaag tgaagtaaат	1140
ctctgcaatg ttgacatatt caaccccaaa tatgattgta aaattatgac ttcaaaaaca	1200
gatgtaagca gctccgttat cacatctcta ggagccattg tgtcatgcta tggcaaaact	1260
aaatgtacag catccaataa aaatcgtgga atcataaaga cattttctaa cgggtgcgat	1320
tatgtatcaa ataaaggggt ggacactgtg tctgtaggta acacattata ttatgtaaат	1380
aagcaagaag gtaaaagtct ctatgtaaaa ggtgaaccaa taataaattt ctatgacca	1440
ttagtattcc cctctgatga atttgatgca tcaatatctc aagtcaacga gaagattaac	1500
cagagcctag catttattcg taaatccgat gaattattac ataatgtaaa tgccggtaaa	1560
tccaccacaa atatcatgat aactactata attatagtga ttatagtaat attgttatca	1620
ttaattgctg ttggactgct cttatactgt aaggccagaa gcacaccagt cacactaagc	1680
aaagatcaac tgagtggat aaataatatt gcatttagta actaa	1725

<210> 34

<211> 1725

<212> ADN

<213> Virus respiratorio sincitial humano

<400> 34

atggagttgc	tgatccacag	gtcaagtgc	atcttcctaa	ctcttgctat	taatgcattg	60
tacctcacct	caagtcagaa	cataactgag	gagttttacc	aatcgacatg	tagtgcagtt	120
agcagaggtt	attttagtgc	tttaagaaca	ggttggtata	ccagtgtcat	aacaatagaa	180
ttaagtaata	taacagaaac	caaagtcaat	ggaactgaca	ctaaagtaaa	acttataaaa	240
caagaattag	ataagtataa	gaatgcagta	acagaattac	agctacttat	gcaaaacacg	300
ccagctgcc	acaaccgggc	cagaagagaa	gcaccacagc	acatgaacta	cacaatcaat	360
accactaaaa	acctaaatgt	atcaataagc	aagaagagga	aacgaagatt	tctgggcttc	420
ttgttagtg	taggatctgc	aatagcaagt	ggtatagctg	tatccaaagt	tctacacctt	480
gaaggagaag	tgaacaaaat	caaaaatgct	ttgttgtcta	caaacaaagc	tgtagtcaat	540
ctatcaaagt	gggtcagtg	tttaaccagc	aaagtgttag	atctcaagaa	ttacataaat	600
aaccaattat	tacccatagt	aatcaacag	agctgtcgca	tcttcaacat	tgaaacagtt	660
atagaattcc	aacagaagaa	tagcagattg	ttggaaatca	ccagagaatt	tagtgtcaat	720
gcaggtgtaa	caacaccttt	aagcacttac	atgttaacaa	acagtgaagt	actatcattg	780
atcaatgata	tgccataaac	aatgatcag	aaaaaattaa	tgtcaagcaa	tgttcagata	840
gtaaggcaac	aaagttattc	tatcatgtct	ataataaagg	aagaagtcct	tgcatatggt	900
gtacagctac	ctatctatgg	tgtaatagat	acaccttgct	ggaaattaca	cacatcacct	960
ctatgcacca	ccaacatcaa	agaaggatca	aatatttggt	taacaaggac	tgatagagga	1020
tggtattgtg	ataatgcagg	atcagtatcc	ttcttcccac	aggctgacac	ttgcaaagta	1080
cagtccaatc	gagtattttg	tgacactatg	aacagtttga	cattaccaag	tgaagtcagc	1140
ctttgtaaca	ctgacatatt	caattccaag	tatgactgca	aaattatgac	atcaaaaaca	1200
gacataagca	gctcagtaat	tacttctctt	ggagctatag	tgtcatgtta	tggtaaaact	1260
aatgcactg	catccaataa	aatcgtggg	attataaaga	cattttctaa	tggttgtgac	1320
tatgtgtcaa	acaaaggagt	agatactgtg	tcagtgggca	acactttata	ctatgtaaac	1380
aagctggaag	gcaagaacct	ttatgtaaaa	ggggaacct	taataaatta	ctatgatcct	1440
ctagtgtttc	cttctgatga	gtttgatgca	tcaatatctc	aagtcaatga	aaaaatcaat	1500
caaagtttag	cttttattcg	taaatctgat	gaattactac	ataatgtaaa	tactggcaaa	1560
tctactacaa	atattatgat	aactacaatt	attatagtaa	tcattgtagt	attgttatca	1620
ttaatagcta	ttggtttact	gttgatttgc	aaagccaaaa	acacaccagt	tacactaagc	1680
aaagaccaac	taagtggaat	caataatatt	gcattcagca	aatag		1725

5

<210> 35

<211> 1725

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 35

ES 2 773 309 T3

atggagctgc tcatcctgaa ggccaacgcc atcaccacca tcctcaccgc cgtgaccttc	60
tgcttcgccca gcggccagaa tatcaccgag gagttctacc agagcacctg cagcgccgtg	120
agcaagggct acctgagcgc cctgagaacc ggctggtaca ccagcgtgat caccatcgag	180
ctgagcaaca tcaagaagaa caagtgaac ggcaccgacg ccaaggtgaa gctcatcaag	240
caggagctgg acaagtacaa gaacgccgtg accgagctgc agctgctcat gcagagcacc	300
caggccacca acaacagggc cagaaggag ctgccccggt tcatgaacta caccctgaac	360
aacgccaaga aaaccaacgt gaccctgagc aagaagcggg agcggagatt cctgggcttc	420
ctgctgggcg tgggcagcgc catcgccagc ggagtggccg tgtccaaggt gctgcacctg	480
gagggcgagg tgaacaagat caagagcgc ctgctgagca ccaacaaggc cgtggtgagc	540
ctgagcaacg gcgtgagcgt gctcaccagc aaggctgctg atctgaagaa ctacatcgac	600
aagcagctgc tgcccatcgt gaacaagcag agctgcagca tcagcaacat cgagaccgtg	660
atcgagttcc agcagaagaa caaccggctg ctggagatca ccagggagtt cagcgtgaac	720
gccggcgtga ccacccccgt gagcacctac atgctcacca acagcgagct gctgagcctc	780
atcaacgaca tgcccatcac caacgaccag aagaagctca tgagcaacaa cgtgcagatc	840
gtgcggcagc agagctactc catcatgagc atcatcaagg aggaggtgct ggcctacgtg	900
gtgcagctgc ccctgtacgg cgtgatcgat accccttgct ggaagctgca caccagcccc	960
ctgtgcacca ccaacaccaa ggagggcagc aacatctgcc tcaccaggac cgatagaggc	1020
tggtactgcg acaacgccgg cagcgtgtca ttctttccac aggccgagac ctgcaagggtg	1080
cagagcaacc ggggtgtctg cgacaccatg aacagcctca ccctgccag cgaagtgaac	1140
ctgtgcaacg tggacatctt caaccccaag tacgactgca agatcatgac cagcaagacc	1200
gacgtgagca gcagcgtgat taccagcctg ggcgccatcg tgagctgcta cggcaagacc	1260
aagtgcaccg ccagcaacaa gaaccggggg atcatcaaga ccttcagcaa cggctgcgac	1320
tacgtgagca acaagggcgt ggataccgtg agcgtgggca acaccctgta ctacgtgaat	1380
aagcaggagg gcaagagcct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaactt ctacgacccc	1440
ctggtgttcc ctagcgacga gttcgatgcc agcatcagcc aggtgaacga gaagatcaac	1500
cagagcctgg ccttcatcag gaagagcgac gagctgctgc acaatgtgaa tgccggcaag	1560
agcaccacca atatcatgat caccacaatc atcatcgtga tcattgtgat cctgctgtcc	1620
ctcatcgccg tgggcctgct gctgtactgc aaggccagaa gcacccctgt gaccctgtcc	1680
aaggatcagc tgagcggcat caacaatatc gccttctcca actga	1725

<210> 36

<211> 1725

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

5

<400> 36

atggaactgc tgatcctgaa ggccaacgcc atcaccacca tcctgaccgc cgtgaccttc	60
tgcttcgcct ccggccagaa catcaccgag gaattctacc agtctacctg ctccgcctg	120
tccaagggct acctgtctgc tctgagaacc ggctggtaca cctccgtgat caccatcgag	180
ctgtccaaca tcaagaaaaa caagtgaac ggcaccgacg ccaaagtga gctgatcaag	240
caggaactgg acaagtacaa gaatgccgtg accgaactgc agctgctgat gcagtctacc	300
caggccacca acaaccgggc cagacgcgag ctgccagat tcatgaacta caccctgaac	360
aacgccaaaa agaccaacgt gaccctgtcc aagaagcggg agcggcggtt cctgggcttt	420
ctgctgggag tgggctccgc tatcgcttct ggctggccg tgtctaagg gctgcacctg	480
gaaggcgaag tgaacaagat caagtccgcc ctgctgagca ccaacaaggc cgtggtgtcc	540
ctgagcaacg gcgtgtccgt gctgacctcc aagggtgctg atctgaagaa ctacatcgac	600
aaacagctgc tgcccatcgt gaacaagcag tcctgctcca tctccaacat cgagacagtg	660
atcgagttcc agcagaagaa caaccggctg ctggaaatca cccgcgagtt ctccgtgaat	720
gccggcgtga ccacccccgt gtccacctac atgctgacca actccgagct gctgtctctg	780
atcaacgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgtccaacaa cgtgcagatc	840
gtgcggcagc agtcctacag catcatgtcc atcatcaaag aagaggtgct ggcctacgtg	900
gtgcagctgc ctctgtacgg cgtgatcgac acccctgct ggaagctgca caccagccct	960
ctgtgcacca ccaacaccaa agagggcagc aacatctgcc tgaccggac cgacagaggc	1020
tggtactgtg acaacgctgg ctccgtctca ttctttccac aagccgagac atgcaagggtg	1080
cagtccaacc ggggtgtctg cgacaccatg aactccctga ccctgccctc tgaagtgaac	1140
ctgtgcaacg tggacatctt caaccctaag tacgactgca agatcatgac cagcaagacc	1200
gacgtgtcca gctctgtgat cacctccctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc	1260
aagtgcaccg cctccaacaa gaaccggggc atcatcaaga cttctctcaa cggctgcgac	1320
tatgtgtcta acaagggcgt ggacaccgtg tctgtgggca acaccctgta ctacgtgaac	1380
aaacaggaag gcaagtccct gtacgtgaag ggcgagccta tcatcaactt ctacgacccc	1440
ctggtgttcc ccagcgacga gttcgacgcc tccatcagcc aagtgaacga gaagatcaac	1500
cagtccctgg ccttcatccg gaagtccgat gagctgctgc acaatgtgaa cgccggcaag	1560
tccaccacca atatcatgat caccacaatc atcatcgtga ttatcgtgat cctgctgagc	1620
ctgatcgccg tgggcctgct gctgtactgc aaggccagat ccaccctgt gacactgagc	1680

aaggaccagc tgtccggcat caacaatatc gccttcagca actga 1725

<210> 37
 <211> 1725
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 37

atggaactgc tgatcctgaa ggctaacgct atcaccacca tcctgaccgc tgtgaccttc 60

tgcttcgctt ccggccagaa catcaccgag gaattctacc agtctacctg ctccgctgtg 120

tccaaggggtt acctgtccgc tctgcgtagc ggctggtaga cctccgtgat caccatcgag 180

ctgtccaaca tcaagaagaa caagtgaac ggcaccgacg ctaaagtga gctgatcaag 240

caagagctgg acaagtacaa gaacgctgtc accgaactgc agctgctgat gcagtccacc 300

caggctacca acaaccgtgc tcgtcgcgag ctgccccgtt tcatgaacta caccctgaac 360

aacgccaaga agaccaacgt caccctgtcc aagaagcgca agcgccgttt cctgggtttc 420

ctgctgggtg tcggttccgc tatcgctcc ggtgtcgtg tctctaaggt gctgcacctc 480

gagggcggaag tgaacaagat caagtccgcc ctgctgtcca ccaacaaggc tgtggtgtcc 540

ctgtctaacg gtgtctccgt gctgacctcc aaggtcctgg acctgaagaa ctacatcgac 600

aagcaactgc tgcccatcgt gaacaagcag tcctgctcca tctccaacat cgagactgtg 660

atcgagttcc agcaaaaagaa caaccgcctg ctcgagatca cccgcgagtt ctccgtgaac 720

gctggtgtca ccacccccgt gtccacctac atgctgacca actccgagct gctgtccctg 780

atcaacgaca tgcccatcac caacgaccaa aagaagctga tgtccaacaa cgtgcagatc 840

gtgcgtcagc agtcctactc tatcatgagc atcatcaagg aagaggtgct ggcttacgtg 900

gtgcagctgc ccctgtacgg tgtcatcgac acccctgct ggaagctgca cacctcccca 960

ctgtgcacca ccaacaccaa ggaaggttcc aacatctgcc tgaccctgac cgaccgtggc 1020

tggtactgcg acaacgctgg ttccgtttca ttcttccac aagccgagac ttgcaagggtg 1080

cagtccaacc gtgtgttctg cgacaccatg aactccctga ccctgccctc cgaagtcaac 1140

ctgtgcaacg tggacatctt caaccctaag tacgactgca agatcatgac cagcaagacc 1200

gacgtgtcct cctctgtcat cacctccctg ggtgctatcg tgtcctgcta cggcaagacc 1260

aagtgcaccg cttccaacaa gaaccgcggt atcatcaaga ccttctccaa cgggttgcgac 1320

tacgtcagca acaagggcgt ggacaccgtg tccgtgggca acaccctgta ctacgtcaac 1380

aagcaagagg gcaagtcctt gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaactt ctacgacccc 1440

ctggtgttcc catccgacga gttcgacgct tccatctccc aagtgaacga gaagatcaac 1500

cagtccctgg ctttcatccg caagtccgac gagctgctcc acaacgtcaa cgctggcaag 1560
 tccaccacta acatcatgat cactaccatc atcatcgtga tcatcgtcat cctgctgagc 1620
 ctgatcgctg tgggcctgct gctgtactgc aaggctcggt ccaccctgt gactctgtcc 1680
 aaggaccagc tgtccggtat caacaacatc gccttcagca actaa 1725

<210> 38

<211> 1725

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 38

atggaactgc tgatcctgaa ggccaacgcc atcaccacca tcctgaccgc cgtgaccttc 60
 tgcttcgcca gcggccagaa catcaccgag gaattctacc agagcacctg tagcgccgtg 120
 tccaagggct acctgagcgc cctgagaacc ggctggtaca ccagcgtgat caccatcgag 180
 ctgagcaaca tcaagaaaaa caagtgaac ggcaccgacg ccaaagtga gctgatcaag 240
 caggaactgg acaagtacaa gaacgccgtg acagaactgc agctgctgat gcagagcacc 300
 caggccacca acaacagagc cagacgcgag ctgccagat tcatgaacta caccctgaac 360
 aacgccaaaa agaccaacgt gaccctgagc aagaagagga agcgcagatt cctgggcttc 420
 ctgctgggcg tgggcagcgc tattgcttct ggctggtccg tgtctaagggt gctgcacctg 480
 gaaggcgaag tgaacaagat caagtccgcc ctgctgagca ccaacaaggc cgtggtgtct 540
 ctgagcaacg gcgtgtccgt gctgaccagc aagggtgctgg atctgaagaa ctacatcgac 600
 aaacagctgc tgcccatcgt gaacaagcag agctgcagca tcagcaacat cgagacagtg 660
 atcgagtcc agcagaagaa caaccggctg ctggaaatca cccgcgagtt cagcgtgaac 720
 gctggcgtga ccacccccgt gtccacctac atgctgacca acagcgagct gctgagcctg 780
 atcaacgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgagcaacaa cgtgcagatc 840
 gtgcggcagc agagctactc catcatgagc atcatcaaag aagaggtgct ggcctacgtg 900
 gtgcagctgc ctctgtacgg cgtgatcgac acccctgct ggaagctgca caccagccct 960
 ctgtgcacca ccaacaccaa agagggctcc aacatctgcc tgaccagaac cgacagaggc 1020
 tgggtactgcg acaacgccgg ctccgtctca ttctttccac aagccgagac atgcaagggtg 1080
 cagagcaaca gagtgttctg cgacaccatg aacagcctga ccctgccctc tgaagtgaac 1140
 ctgtgcaacg tggacatctt caaccctaag tacgactgca agatcatgac ctccaagacc 1200
 gacgtgtcca gctccgtgat cacaagcctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc 1260

aagtgcaccg ccagcaacaa gaacagggga atcatcaaga ccttcagcaa cggctgogac 1320
 tacgtgtcca acaagggggt ggacaccgtg tctgtgggca acaccctgta ctacgtgaac 1380
 aaacaggaag gcaagagcct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaactt ctacgacccc 1440
 ctggtgttcc ccagcgacga gttcgacgcc agcatctccc aagtgaacga gaagatcaac 1500
 cagagcctgg ccttcatcag aaagtccgat gagctgctgc acaatgtgaa cgccggcaag 1560
 agcaccacaa acatcatgat caccactatc atcatcgtga tcattgtgat cctgctgtcc 1620
 ctgatcgccg tgggcctgct gctgtactgc aaggccagat ccaccctgt gaccctgtcc 1680
 aaggaccagc tgagcggcat caacaatatc gccttctcca actga 1725

<210> 39

<211> 1725

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 39

atggaactgc tgatccacag aagcagcgcc atcttctctga ccctggccat caacgccttg 60
 tacctgacca gcagccagaa catcaccgag gaattctacc agagcacctg tagcgccgtg 120
 tcccgggggt acttttagcgc cctgagaacc ggctggtaca ccagcgtgat caccatcgag 180
 ctgagcaata tcaccgagac aaagtgaac ggcaccgaca ccaaagtga gctgatcaag 240
 caggaactgg acaagtacaa gaacgccgtg accgaactgc agctgctgat gcagaatacc 300
 cctgccgcca acaaccgggc cagaagagaa gccccccagc acatgaacta caccatcaac 360
 accaccaaga acctgaacgt gtccatcagc aagaagcgga agcggcggtt cctgggcttt 420
 ctgctgggag tgggaagcgc cattgccagc ggaatcgccg tgtctaaggt gctgcacctg 480
 gaaggcgaag tgaacaagat caagaatgcc ctgctgagca ccaacaaggc cgtggtgtcc 540
 ctgagcaacg gcgtgtccgt gctgacctcc aaggtgctgg atctgaagaa ctacatcaac 600
 aaccagctgc tgcccatcgt gaaccagcag agctgccgga tcttcaacat cgagacagtg 660
 atcgagtcc agcagaagaa cagcaggctg ctggaaatca cccgcgagtt cagcgtgaac 720
 gctggcgtga ccacaccct gagcacctac atgctgacca acagcgagct gctgtccctg 780
 atcaatgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgagcagcaa cgtgcagatc 840
 gtgcggcagc agtcctacag catcatgagc atcatcaaag aagaggtgct ggcctacgtg 900
 gtgcagctgc ctatctacgg cgtgatcgac acccctgct ggaagctgca caccagccct 960
 ctgtgcacca ccaacatcaa agagggcagc aacatctgcc tgaccagaac cgaccggggc 1020
 tgggtactgcg ataatgccgg ctccgtctca ttctttccac aagccgatac ctgcaagggtg 1080

cagagcaacc ggggtgttctg cgacaccatg aacagcctga cactgcccag cgaagtgtcc 1140
ctgtgtaaca ccgacatctt caactctaag tacgactgca agatcatgac cagcaagacc 1200
gacatcagct cctccgtgat cacaagcctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc 1260
aagtgcaccg ccagcaacaa gaaccgggga atcatcaaga ccttcagcaa cggctgcgac 1320
tacgtgtcca acaaggggggt ggacaccgtg tctgtgggca acaccctgta ctacgtgaac 1380
aagctggaag ggaagaatct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaacta ctacgacccc 1440
ctggtgttcc ccagcgacga gttcgatgcc agcatcagcc aagtgaacga gaagatcaac 1500
cagagcctgg ccttcacatg aaagtccgat gagctgctgc acaatgtgaa caccggcaag 1560
tccaccacaa atatcatgat caccaccatc attatcgtga tcatcgtggt gctgctgagc 1620
ctgatcgcca tcggcctgct gctgtactgc aaggccaaga acacccccgt gaccctgtcc 1680
aaggatcagc tgagcggcat caacaatatc gccttctcca agtga 1725

<210> 40

<211> 1725

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 40

atggaactgc tgatccaccg gtcctccgcc atcttcctga ccctggccat caacgccttg 60
tacctgacct cctcccagaa catcaccgag gaattctacc agtctacctg ctccgcctg 120
tcccggggct acttctctgc tctgagaacc ggctggtaca cctccgtgat caccatcgag 180
ctgtccaata tcaccgagac aaagtgaac ggcaccgaca ccaaagtga gctgatcaag 240
caggaactgg acaagtacaa gaacgccgtg accgaactgc agctgctgat gcagaatacc 300
cctgccgcca acaaccgggc cagaagagaa gccccccagc acatgaacta caccatcaac 360
accaccaaga acctgaacgt gtccatctcc aagaagcgga agcggcggtt cctgggcttt 420
ctgctgggag tgggctccgc tatcgctcc ggaatcgccg tgtctaaggt gctgcacctg 480
gaaggcgaag tgaacaagat caagaatgcc ctgctgtcca ccaacaaggc cgtggtgtcc 540
ctgtccaacg gcgtgtccgt gctgacctcc aagggtgctg atctgaagaa ctacatcaac 600
aaccagctgc tgcccatcgt gaaccagcag tcctgccgga tcttcaacat cgagacagtg 660
atcgagttcc agcagaagaa ctcccggtg ctggaaatca cccgcgagtt ctctgtgaat 720
gccggcgtga ccacccccct gtccacctac atgctgacca actccgagct gctgtccctg 780
atcaacgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgtcctccaa cgtgcagatc 840

gtgcggcagc agagctactc catcatgtcc attatcaaag aagagggtgct ggcctacgtg 900
 gtgcagctgc ctatctacgg cgtgatcgac accccctgct ggaagctgca caccagccct 960
 ctgtgcacca ccaacatcaa agagggtctc aacatctgcc tgaccagaac cgaccggggc 1020
 tgggtactgtg acaacgctgg ctccgtctca ttctttccac aagccgatac ctgcaagggtg 1080
 cagtccaacc ggggtgttctg cgacaccatg aattctctga ccctgccctc cgaagtgtct 1140
 ctgtgtaaca ccgacatctt caactctaag tacgactgca agatcatgac cagcaagacc 1200
 gatatactcca gctctgtgat cacctccctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc 1260
 aagtgcaccg cctccaacaa gaaccggggc atcatcaaga ctttctccaa cggtgcgac 1320
 tacgtgtcca acaaggggggt ggacaccgtg tctgtgggca acaccctgta ctacgtgaac 1380
 aagctggaag ggaagaatct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaacta ctacgacccc 1440
 ctggtgttcc ccagcgacga gttcgacgcc tccatcagcc aagtgaacga gaagatcaac 1500
 cagtccctgg ccttcatccg gaagtccgat gagctgctgc acaatgtgaa caccggcaag 1560
 tccaccacaa atatcatgat caccaccatc attatcgtga tcatcgtggt gctgctgagc 1620
 ctgatcgcca tcggcctgct gctgtactgc aaggccaaga acacccccgt gaccctgagc 1680
 aaggaccagc tgtccggcat caacaatatc gccttcagca agtga 1725

<210> 41

<211> 1725

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 41

atggaactgc tgatccaccg ttctccgct atcttctga ccctggctat caacgctctg 60
 tacctgacct cctcccagaa catcaccgag gaattctacc agtctacctg ctccgctgtg 120
 tcccgtggtt acttctccgc tctgcgtacc ggctggtaca cctccgtgat caccatcgag 180
 ctgtccaaca tcaactgagac taagtgaac ggcaccgaca ccaaagtga gctgatcaag 240
 caagagctgg acaagtacaa gaacgctgtg accgaactgc agctgctgat gcagaacacc 300
 cccgctgcta acaaccgtgc tcgtcgcgaa gctcccagc acatgaacta caccatcaac 360
 accaccaaga acctgaacgt gtccatctcc aagaagcgca agcgccgttt cctgggtttc 420
 ctgctgggtg tcggttccgc tatcgcttcc ggtatcgctg tctccaagggt gctgcacctc 480
 gagggcgaag tgaacaagat caagaacgcc ctgctgtcca ccaacaaggc tgtggtgtcc 540
 ctgtccaacg gtgtctccgt gctgacctcc aaggctctcg acctgaagaa ctacatcaac 600
 aaccagctgc tgcccatcgt gaaccagcag tcctgccgta tcttcaacat cgagactgtg 660

atcgagttcc agcagaagaa ctcccgtctg ctcgagatca cccgcgagtt ctccgtgaac	720
gctggtgtca ccacccccct gtccacctac atgctgacca actccgagct gctgtccctg	780
atcaacgaca tgcccatcac caacgaccaa aagaagctga tgtcctccaa cgtgcagatc	840
gtgcgtcagc agtcttactc catcatgtcc atcatcaagg aagaggtgct ggcttacgtg	900
gtgcagctgc ctatctacgg tgtcatcgac accccctgct ggaagctgca cacctcccca	960
ctgtgcacca ccaacatcaa ggaaggttcc aacatctgcc tgaccctgac cgaccgtggc	1020
tggtactgcy acaacgctgg ttccgtttca ttcttccac aagccgacac ttgcaaggty	1080
cagtccaacc gtgtgttctg cgacaccatg aactccctga ctctgccctc cgaggtgtcc	1140
ctctgcaaca ccgacatctt caactctaag tacgactgca agatcatgac ctctaagact	1200
gacatctcct ccagcgtcat cacctccctg ggtgctatcg tgtcctgcta cggcaagacc	1260
aagtgcaccg cttccaacaa gaaccgcggc atcatcaaga ctttctccaa cggttgcgac	1320
tacgtgtcca acaagggcgt ggacaccgtg tccgtgggca acaccctgta ctacgtgaac	1380
aagctcgagg gcaagaacct ctacgtgaag ggcgagccta tcatcaacta ctacgacccc	1440
ctggtgttcc catccgacga gttcgacgct tccatctccc aagtgaacga gaagatcaac	1500
cagtccctgg ctttcatccg caagtcggac gagctgctcc acaacgtgaa caccggcaag	1560
tccactacta acatcatgat caccactatc atcatcgtga tcatcgtcgt gctgctgagc	1620
ctgatcgcta tcggcctgct gctgtactgc aaggctaaga aactcccgt gaccctgtct	1680
aaggaccagc tgtccggtat caacaacatc gccttcagca agtaa	1725

<210> 42

<211> 1725

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 42

atggaactgc tgatccacag aagcagcgcc atcttcctga ccctggccat caacgcctg	60
tacctgacca gcagccagaa catcaccgag gaattctacc agagcacctg tagcgccgtg	120
tccagaggct acttcagcgc cctgagaacc ggctggtaca ccagcgtgat caccatcgag	180
ctgagcaaca tcacagagac aaagtgaac ggcaccgaca ccaaagtga gctgatcaag	240
caggaactgg acaagtacaa gaacgccgtg accgaactgc agctgctgat gcagaacacc	300
cctgccgcca acaacagagc cagaagagaa gcccccgac acatgaacta caccatcaac	360
accaccaaga acctgaacgt gtccatcagc aagaagagga agagaagatt cctgggcttc	420

ctgctgggagc tgggcagcgc tatcgcttct ggaatcgccg tgtctaaggt gctgcacctg 480
gaaggcgaag tgaacaagat caagaacgct ctgctgagca ccaacaaggc cgtggtgtcc 540
ctgagcaacg gcgtgtccgt gctgacctcc aagggtgctgg atctgaagaa ctacatcaac 600
aaccagctgc tgcccatcgt gaaccagcag agctgcagaa tcttcaacat cgagacagtg 660
atcgagttcc agcagaagaa cagcaggctg ctggaaatca cccgcgagtt cagcgtgaac 720
gctggcgtga ccacacccct gagcacctac atgctgacca acagcgagct gctgtctctg 780
atcaacgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgagcagcaa cgtgcagatc 840
gtgcggcagc agtcctacag catcatgagc atcatcaaag aagaggtgct ggcctacgtg 900
gtgcagctgc ctatctacgg cgtgatcgac acccctgct ggaagctgca caccagccct 960
ctgtgcacca ccaacatcaa agagggcagc aacatctgcc tgaccagaac cgacagaggc 1020
tggtactgag acaacgccgg ctccgtctca ttctttccac aagccgacac atgcaagggtg 1080
cagagcaaca gagtgttctg cgacaccatg aacagcctga cactgccag cgaagtgtcc 1140
ctgtgtaaca ccgacatctt caactctaag tacgactgca agatcatgac cagcaagacc 1200
gacatcagct cctccgtgat cacaagcctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc 1260
aagtgcaccg ccagcaacaa gaacagggga atcatcaaga ccttcagcaa cggctgcgac 1320
tacgtgtcca acaagggggg ggacaccgtg tctgtgggca acaccctgta ctacgtgaac 1380
aagctggaag ggaagaatct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaacta ctacgacccc 1440
ctggtgttcc ccagcgacga gttcgacgcc agcatcagcc aagtgaacga gaagatcaac 1500
cagagcctgg ccttcacatg aaagtccgat gagctgctgc acaatgtgaa caccggcaag 1560
tccacaacaa acatcatgat caccaccatc attatcgtga tcatcgtggt gctgctgagc 1620
ctgatcgcca tcggcctgct gctgtactgc aaggccaaga acacacccgt gaccctgtcc 1680
aaggaccagc tgagcggcat caacaatatc gccttctcca agtga 1725

<210> 43

<211> 1707

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 43

atggaactgc tgatcctgaa ggccaacgcc atcaccacca tctgaccgc cgtgaccttc 60
tgcttcgcca gcggccagaa catcaccgag gaattctacc agagcacctg cagcgccgtg 120
agcaagggct acctgagcgc cctgcggacc ggctggtaca ccagcgtgat caccatcgag 180
ctgtccaaca tcaaagaaaa caagtgaac ggcaccgacg ccaaagtga gctgatcaag 240

caggaactgg acaagtacaa gaacgccgtg accgagctgc agctgctgat gcagagcacc 300
cccgccacca acaacagagc cagaagagag ctgccccggt tcatgaacta caccctgaac 360
aacgccaaga aaaccaacgt gaccctgagc aagaagagaa agagaagatt cctgggcttc 420
ctgctgggcg tgggcagcgc cattgccagc ggcgtggccg tgtgcaaagt gctgcacctg 480
gaaggcgaag tgaacaagat caagtccgcc ctgctgtcca ccaacaaggc cgtggtgtcc 540
ctgagcaacg gcgtgagcgt gctgaccttc aaggtgctgg atctgaagaa ctacatcgac 600
aagcagctgc tgcccatcct gaacaagcag agctgcagca tcagcaacat cgagacagtg 660
atcgagttcc agcagaagaa caaccggctg ctggaaatca cccgggagtt cagcgtgaac 720
gccggagtga ccacccccgt gtccacctac atgctgacca acagcgagct gctgtccctg 780
atcaatgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgagcaacaa cgtgcagatc 840
gtgcggcagc agagctactc catcatgtgc atcatcaaag aagaggtgct ggcctacgtg 900
gtgcagctgc ccctgtacgg cgtgatcgac accccctgct ggaagctgca caccagcccc 960
ctgtgcacaa ccaacaccaa agagggcagc aacatctgcc tgaccgggac cgaccggggc 1020
tggtactgcg acaacgccgg cagcgtgtcc ttctttccac aggccgagac atgcaagggtg 1080
cagagcaacc ggggtgttctg cgacaccatg aacagcctga ccctgccctc cgaagtgaac 1140
ctgtgcaacg tggacatctt caaccccaag tacgactgca agatcatgac ctccaagacc 1200
gacgtgtcca gctccgtgat cacctccctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc 1260
aagtgcaccg ccagcaacaa gaacagaggc atcatcaaga ccttcagcaa cggctgcgac 1320
tacgtgtcca ataagggcgt ggacaccgtg tccgtgggca acacactgta ctacgtgaat 1380
aagcaggaag gcaagagcct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaactt ctacgacccc 1440
ctggtgttcc ccagcgacga gttcgacgcc agcatcagcc aggtgaacga gaagatcaac 1500
cagagcctgg ccttcatcag aaagagcgac gaactgctgt ccgccatcgg cggctacatc 1560
cccgaggccc ccagagatgg ccaggcctac gtgcggaagg acggcgagtg ggtgctgctg 1620
tctacatttc tgggcggcct ggtgcctaga ggctctcacc accaccatca ccacagcgcc 1680
tggtcccacc ccagttcga gaagtga 1707

<210> 44

<211> 1707

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 44

atggaactgc	tgatcctgaa	ggccaacgcc	atcaccacca	tcctgaccgc	cgtgaccttc	60
tgcttcgcc	gcggccagaa	catcaccgag	gaattctacc	agagcacctg	cagcgccgtg	120
agcaagggct	acctgagcgc	cctgcggaac	ggctggtaca	ccagcgtgat	caccatcgag	180
ctgtccaaca	tcaaagaaaa	caagtgcaac	ggcaccgacg	ccaaagtgaa	gctgatcaag	240
caggaactgg	acaagtacaa	gaacgccgtg	accgagctgc	agctgctgat	gcagagcacc	300
cccgccacca	acaacagagc	cagaagagag	ctgccccggt	tcatgaacta	caccctgaac	360
aacgccaaga	aaaccaacgt	gaccctgagc	aagaagagaa	agagaagatt	cctgggcttc	420
ctgctgggcg	tgggcagcgc	cattgccagc	ggcgtggccg	tgtgcaaagt	gctgcacctg	480
gaaggcgaag	tgaacaagat	caagtccgcc	ctgctgtcca	ccaacaaggc	cgtggtgtcc	540
ctgagcaacg	gcgtgagcgt	gctgaccagc	aagggtgctg	atctgaagaa	ctacatcgac	600
aagcagctgc	tgcccacgt	gaacaagcag	agctgcagca	tcagcaacat	cgagacagtg	660
atcgagttcc	agcagaagaa	caaccggctg	ctggaaatca	cccgggagtt	cagcgtgaac	720
gccggagtg	ccacccccgt	gtccacctac	atgctgacca	acagcgagct	gctgtccctg	780
atcaatgaca	tgcccacac	caacgaccag	aaaaagctga	tgagcaacaa	cgtgcagatc	840
gtgcggcagc	agagctactc	catcatgtgc	atcatcaaag	aagaggtgct	ggcctacgtg	900
gtgcagctgc	ccctgtacgg	cgtgatcgac	acccctgct	ggaagctgca	caccagcccc	960
ctgtgcacaa	ccaacaccaa	agagggcagc	aacatctgcc	tgacccggac	cgaccggggc	1020
tgggtactgc	acaacgccgg	cagcgtgtcc	ttctttccac	aggccgagac	atgcaagggtg	1080
cagagcaacc	gggtgttctg	cgacaccatg	aacagcctga	ccctgccctc	cgaagtgaac	1140
ctgtgcaacg	tggacatctt	caaccccaag	tacgactgca	agatcatgac	ctccaagacc	1200
gacgtgtcca	gctccgtgat	cacctccctg	ggcgccatcg	tgtcctgcta	cggcaagacc	1260
aagtgcaccg	ccagcaacaa	gaacagaggc	atcatcaaga	ccttcagcaa	cggctgcgac	1320
tacgtgtcca	ataagggcgt	ggacaccgtg	tccgtgggca	acacactgta	ctacgtgaat	1380
aagcaggaag	gcaagagcct	gtacgtgaag	ggcgagccca	tcatcaactt	ctacgacccc	1440
ctggtgttcc	ccagcgacga	gttcgacgcc	agcatcagcc	aggtgaacga	gaagatcaac	1500
cagagcctgg	ccttcatcag	aaagagcgac	gaactgctgt	ccgccatcgg	cggctacatc	1560
cccagggccc	ccagagatgg	ccaggcctac	gtgcggaagg	acggcgagtg	ggtgctgctg	1620
tctacatttc	tgggcggcct	ggtgcctaga	ggctctcacc	accaccatca	ccacagcgcc	1680
tgggtcccacc	cccagttcga	gaagtga				1707

<210> 45
 <211> 1707
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

5

<400> 45

atggaactgc tgatcctgaa ggccaacgcc atcaccacca tcctgaccgc cgtgaccttc	60
tgcttcgcca gcggccagaa catcaccgag gaattctacc agagcacctg cagcgccgtg	120
agcaagggct acctgagcgc cctgcggacc ggctggtaca ccagcgtgat caccatcgag	180
ctgtccaaca tcaaagaaaa caagtgaac ggcaccgacg ccaaagtga gctgatcaag	240
caggaactgg acaagtacaa gaacgccgtg accgagctgc agctgctgat gcagagcacc	300
cccgccacca acaacagagc cagaagagag ctgccccggt tcatgaacta caccctgaac	360
aacgccaaga aaaccaacgt gaccctgagc aagaagagaa agagaagatt cctgggcttc	420
ctgctgggcg tgggcagcgc cattgccagc ggcgtggccg tgtccaaagt gctgcacctg	480
gaaggcgaag tgaacaagat caagtccgcc ctgctgtcca ccaacaaggc cgtggtgtcc	540
ctgagcaacg gcgtgagcgt gctgaccttc aagggtgctg atctgaagaa ctacatcgac	600
aagcagctgc tgcccatcct gaacaagcag agctgcagca tcagcaacat cgagacagtg	660
atcgagttcc agcagaagaa caaccggctg ctggaaatca cccgggagtt cagcgtgaac	720
gccggagtgga ccacccccgt gtccacctac atgctgacca acagcgagct gctgtccctg	780
atcaatgaca tgcccatcac caacgaccag aaaaagctga tgagcaacaa cgtgcagatc	840
gtgcggcagc agagctactc catcatgagc atcatcaaag aagaggtgct ggcctacgtg	900
gtgcagctgc ccctgtacgg cgtgatcgac accccctgct ggaagctgca caccagcccc	960
ctgtgcacaa ccaacaccaa agagggcagc aacatctgcc tgaccgggac cgaccggggc	1020
tggtactgcy acaacgccgg cagcgtgtcc ttctttccac aggccgagac atgcaagggtg	1080
cagagcaacc ggggtgtctg cgacaccatg aacagcctga ccctgccctc cgaagtgaac	1140
ctgtgcaacg tggacatctt caaccccaag tacgactgca agatcatgac ctccaagacc	1200
gacgtgtcca gctccgtgat cacctccctg ggcgccatcg tgtcctgcta cggcaagacc	1260
aagtgcaccg ccagcaacaa gaacagaggc atcatcaaga ccttcagcaa cggctgcgac	1320
tacgtgtcca ataagggcgt ggacaccgtg tccgtgggca acacactgta ctacgtgaat	1380
aagcaggaag gcaagagcct gtacgtgaag ggcgagccca tcatcaactt ctacgacccc	1440
ctggtgttcc ccagcgacga gttcgacgcc agcatcagcc aggtgaacga gaagatcaac	1500
cagagcctgg ccttcatcag aaagagcgac gaactgctgt ccgccatcgg cggctacatc	1560
cccgaggccc ccagagatgg ccaggcctac gtgcggaagg acggcgagtg ggtgctgctg	1620
tctacatttc tgggcggcct ggtgcctaga ggctctcacc accaccatca ccacagcgcc	1680

tggtcccacc cccagttcga gaagtga

1707

<210> 46

<211> 6

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: etiqueta de 6x His sintética"

<400> 46

His His His His His His

1 5

15

<210> 47

<211> 488

<212> PRT

<213> Virus respiratorio sincitial humano

20

<400> 47

Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser
1 5 10 15

Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile
20 25 30

Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp
35 40 45

Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala
50 55 60

Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn
65 70 75 80

Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn
85 90 95

Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe
100 105 110

Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala
115 120 125

Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser
130 135 140

Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val
145 150 155 160

ES 2 773 309 T3

Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	165	170	175
Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn	Lys	Gln	Ser	Cys	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	180	185	190
Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln	Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	195	200	205
Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	210	215	220
Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu	Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	225	230	235
Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys	Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	245	250	255
Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile	Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	260	265	270
Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro	Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	275	280	285
Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro	Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	290	295	300
Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg	Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	305	310	315
Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe	Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	325	330	335
Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp	Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	340	345	350
Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val	Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	355	360	365
Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr	Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	370	375	380
Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys	Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	385	390	395
Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile	Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	405	410	415

ES 2 773 309 T3

Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr
420 425 430

Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro
435 440 445

Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp
450 455 460

Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe
465 470 475 480

Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu
485

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS que comprende: (a) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 70% de identidad de secuencia con los residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID NO.1 (VRS tipo A) o residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID NO.3 (VRS tipo B), en el que la secuencia de aminoácidos comprende una mutación puntual a tirosina en una posición de aminoácidos equivalente a la posición 226 en SEQ ID NO.1 o SEQ ID NO.3 y una tirosina en una posición de aminoácidos equivalente a la posición 198 en SEQ ID NO.1 o SEQ ID NO.3, y (b) un dominio de trimerización, en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico es capaz de plegarse en la conformación de pre-F.
2. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según la reivindicación 1, en el que la secuencia de aminoácidos tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con los residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID NO.1 (VRS tipo A) o residuos de aminoácidos 1-513 de SEQ ID NO.3 (VRS tipo B).
3. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico se pliega en la conformación de pre-F y comprende al menos una reticulación de di-tirosina, en el que una o ambas tirosinas de la al menos una reticulación se originan a partir de una mutación puntual a tirosina, y en el que al menos una reticulación se ubica entre residuos de aminoácidos de tirosina emparejados ubicados en posiciones de aminoácidos equivalentes a las posiciones 198 y 226 en SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO.3.
4. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según la reivindicación 1, 2 o 3, que comprende los residuos de aminoácidos 1-513 de la secuencia de SEQ ID NO. 15.
5. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según cualquier reivindicación anterior, en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico comprende además una o más mutaciones puntuales a cisteína; y/o en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico comprende además una o más sustituciones de aminoácidos hidrófobos de relleno de cavidades.
6. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según la reivindicación 1, en el que el dominio de trimerización es un dominio Foldon.
7. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según cualquier reivindicación anterior, en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico es capaz de provocar la producción de anticuerpos específicos de VRS en un sujeto; y/o en el que el polipéptido, proteína o complejo proteico es capaz de unirse a un anticuerpo que reconoce el sitio antigénico Ø.
8. Molécula de ácido nucleico que codifica para un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según cualquier reivindicación anterior.
9. Composición que comprende un polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
10. Composición según la reivindicación 9, en la que la composición es una composición de vacuna.
11. Composición según la reivindicación 10, en la que la composición comprende además un adyuvante, un portador, un agente inmunoestimulador, o cualquier combinación de los mismos.
12. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, 9, 10 u 11 para su uso en la vacunación de un sujeto contra VRS.
13. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS para su uso según la reivindicación 12, en el que el sujeto es un ser humano de menos de 24 meses de edad, o en el que el sujeto es un ser humano de más de 50 años de edad.
14. Polipéptido, proteína o complejo proteico F de VRS para su uso según la reivindicación 12, en el que la composición se administra como una sola dosis.

>VRS_F_WT_subtipo A soluble

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:1)

Fig. 1A

>WT_VRS-F-longitud_completa_subtipo (A) (n.º de adhesión AHL84194)

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNTGKSTTNI
MITTIIIVIIIVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTL SKDQLSGINNIAFSK (SEQ ID NO:2)

Fig. 1B

>WT_VRS-F_soluble_subtipo (B)

MELLIHRSSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIELSNITETKCN
 GTDTKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARRREAPQHMYNTINTTKNLNVSISKRRKRRLGFLGF
 LLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSTKVLDLKNYINNQLLPVNNQQ
 SCRIFNIEFVIEFQQKNSRLLEITREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQI
 VRQQSYSIMSIIEKEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYYDPLVFPSEDFDA
 SISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSA
 WSHPPQFEK (SEQ ID NO:3)

Fig. 2A

>WT_VRS_F_Subtipo (B) longitud-completa (n.º de adhesión AHJ60043.1)

MELLIHRSSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIELSNITETKCN
 GTDTKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARRREAPQHMYNTINTTKNLNVSISKRRKRRLGFLGF
 LLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSTKVLDLKNYINNQLLPVNNQQ
 SCRIFNIEFVIEFQQKNSRLLEITREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQI
 VRQQSYSIMSIIEKEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYYDPLVFPSEDFDA
 SISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNTGKSTTNIMITTIIVIIIVVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTLS
 KDQLSGINNIAFSK (SEQ ID NO:4)

Fig. 2B

>DS-Cavl soluble

MELLILKANAIITITLTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHSASWHPQFEK (SEQ ID NO:5)

Fig. 3A

>DS_Cavl_longitud_completa

MELLILKANAIITITLTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLHNVTGKSTTNI
MITTIIIVIIIVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTLSKDQLSGINNIAFSK (SEQ ID NO:6)

Fig. 3B

>Cavl_soluble

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNGGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:7)

Fig. 4A

>Cavl_longitud_completa

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNGGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNTGKSTTNI
MITTIIIVIIIVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTLSKDQLSGINNIAFSK (SEQ ID NO:8)

Fig. 4B

>DS_soluble

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:9)

Fig. 5A

>DS_longitud_completa

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNTGKSTTNI
MITTIIIVIIIVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTL SKDQLSGINNIAFSK (SEQ ID NO:10)

Fig. 5B

CLUSTAL 2.1 alineación de secuencias múltiples

```

VRS_F_subtipo_B_  MELLHRSSAIFLTLLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_WT          MELLILKANAITTILTAVTFCFASGNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
***** :.:** *: :. :.:*****:*.*****

VRS_F_subtipo_B_  LSNITETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLIMONTPAANNRAREAPQHMYNTIN 120
VRS_F_WT          LSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLIMOSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
***** :.*****:*****.***:***** *:*****:

VRS_F_subtipo_B_  TTKNLNVSISKRRRFLGFLLGVSALASGIASKVLHLEGEVNIKIKNALLSTNKAVVS 180
VRS_F_WT          NAKKTNVTLSKKRRRFLGFLLGVSALASGIASKVLHLEGEVNIKIKSALLSTNKAVVS 180
.:*: **:*****:*****.*****

VRS_F_subtipo_B_  LSNGVSVLTISKVLDLKNYINNQLLPVNNQSCRIFNIETVIEFQCKNSRLEITREFSVN 240
VRS_F_WT          LSNGVSVLTISKVLDLKNYIDQLLPVNNQSCSISNIETVIEFQCKNSRLEITREFSVN 240
*****:*****:*** * *****.*****

VRS_F_subtipo_B_  AGVTPPLSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIKEEVLAYV 300
VRS_F_WT          AGVTPVPSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIKEEVLAYV 300
*****:*****.*****

VRS_F_subtipo_B_  VQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCVK 360
VRS_F_WT          VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAEVCVK 360
***:***** *****.*****

VRS_F_subtipo_B_  QSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKT 420
VRS_F_WT          QSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT 420
*****:*****.*****

VRS_F_subtipo_B_  KCTASNKNRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYDP 480
VRS_F_WT          KCTASNKNRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKSLYVKGEPIINFYDP 480
*****:*****.***

VRS_F_subtipo_B_  LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDLLHNVN-TGKSTTNIMITIIIVIIIVVLL 539
VRS_F_WT          LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDLLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLL 540
*****:.. :.: :.***

VRS_F_subtipo_B_  SLIAIGLLLYCKAKNTPVTLTKDQLSGINNIAFSK 574
VRS_F_WT          STFLGGLVPRG-----SHHHHHHSAWSHPQFEK 568
* : **: :.:*. :.*

```

Puntuación: 80,99% idéntica

Fig. 6

CLUSTAL 2.1 alineación de secuencias múltiples

```

VRS_F_subtipoA      MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_subtipoB      MELLIHRSSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE 60
DS_Cav1              MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
                      ***** :.:** * : : : :.*****:*.*****
VRS_F_subtipoA      LSNIKENKCGTDAKVKLKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLN 120
VRS_F_subtipoB      LSNITETKCGTDDTKVKLKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARREAPQHMNYTLN 120
DS_Cav1              LSNIKENKCGTDAKVKLKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLN 120
                      ****.*.*****:*****.***:***** *:.***.*
VRS_F_subtipoA      NAKKTNVTLSKKRRRFLGFLLGVGSAIASGVAVCKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVS 180
VRS_F_subtipoB      TTKNLNVSISKRRRRFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVS 180
DS_Cav1              NAKKTNVTLSKKRRRFLGFLLGVGSAIASGVAVCKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVS 180
                      .:.*: **.:*****.***.*****.*****
VRS_F_subtipoA      LSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVN 240
VRS_F_subtipoB      LSNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLPIVNNQSCRIFNIETVIEFQQKNSRLEITREFSVN 240
DS_Cav1              LSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVN 240
                      ***** *****.:*****:*** * *****.*****
VRS_F_subtipoA      AGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIEEVLAYV 300
VRS_F_subtipoB      AGVTTPLSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV 300
DS_Cav1              AGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIEEVLAYV 300
                      *****:*****.*****.*****.*****
VRS_F_subtipoA      VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAECKV 360
VRS_F_subtipoB      VQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQADCKV 360
DS_Cav1              VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAECKV 360
                      ****.****** *****:****
VRS_F_subtipoA      QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLNCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT 420
VRS_F_subtipoB      QSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKT 420
DS_Cav1              QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLNCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT 420
                      *****:***.***.*****:*****
VRS_F_subtipoA      KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP 480
VRS_F_subtipoB      KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYDP 480
DS_Cav1              KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP 480
                      ***** ***** **.******:***
VRS_F_subtipoA      LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGGEWVLL 540
VRS_F_subtipoB      LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVN-TGKSTTNIMITTIIIVIVVLL 539
DS_Cav1              LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGGEWVLL 540
                      ***** :. .:. : : ***
VRS_F_subtipoA      STFLGGLVPRG-----SHHHHHSAWSHPQFEK 568
VRS_F_subtipoB      SLIAIGLLLYCKAKNTPVTLTKDQLSGINNIAFSK 574
DS_Cav1              STFLGGLVPRG-----SHHHHHSAWSHPQFEK 568
                      * : **: : :. : *.*

```

Fig. 7

>VRS_F_A147Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:11)

Fig. 8

>VRS_F_V220Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETYIEFQQ
KNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:12)

Fig. 9

>VRS_F_E222Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIYFQQ
KNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:13)

Fig. 10

>VRS_F_F223Y

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEYQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:14)

Fig. 11

>VRS_F_K226Y

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQ
YNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:15)

Fig. 12

>VRS_F_V469Y

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:16)

Fig. 13

>VRS_F_K77Y_E222Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VYLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKNQSCSISNIETVIYFQQ
KNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:17)

Fig. 14

>VRS_F_N88Y_S255Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNYELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:18)

Fig. 15

>VRS_F_M97Y_H159Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLYQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLYLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKNQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:19)

Fig. 16

>VRS_F_V185Y_K427Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLSNVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNYNRGIIKTFSSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:20)

Fig. 17

>VRS_F_V185Y_K427Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLSNVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNYNRGIIKTFSSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:21)

Fig. 18

>VRS_F N183Y_K427Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLSYGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNYNRGIIKTFSSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:22)

Fig. 19

CLUSTAL 2.1 alineación de secuencias múltiples

```

VRS_F_WT      MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_A147Y   MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_V220Y   MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_E222Y   MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_F223Y   MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_K226Y   MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_V469Y   MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_K77Y_E222Y MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_N88Y_S255Y MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_M97Y_H159Y MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_V185Y_K427Y MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
VRS_F_V187Y_K427Y MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE 60
*****

VRS_F_WT      LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_A147Y   LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_V220Y   LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_E222Y   LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_F223Y   LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_K226Y   LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_V469Y   LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_K77Y_E222Y LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_N88Y_S255Y LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_M97Y_H159Y LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_V185Y_K427Y LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
VRS_F_V187Y_K427Y LSNIKENKNCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLN 120
*****

VRS_F_WT      NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_A147Y   NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_V220Y   NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_E222Y   NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_F223Y   NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_K226Y   NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_V469Y   NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_K77Y_E222Y NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_N88Y_S255Y NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_M97Y_H159Y NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_V185Y_K427Y NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
VRS_F_V187Y_K427Y NAKKTNVTLSKKRKRRLFLGFLGVSIAISGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS 180
*****

VRS_F_WT      LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_A147Y   LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_V220Y   LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_E222Y   LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_F223Y   LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_K226Y   LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_V469Y   LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_K77Y_E222Y LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_N88Y_S255Y LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_M97Y_H159Y LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_V185Y_K427Y LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
VRS_F_V187Y_K427Y LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRRLLEITREFSVN 240
*****

```

Fig. 20A

VRS_F_WT	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_A147Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_V220Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_E222Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_F223Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_K226Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_V469Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_K77Y_E222Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_N88Y_S255Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_M97Y_H159Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_V185Y_K427Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300
VRS_F_V187Y_K427Y	AGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV	300

VRS_F_WT	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_A147Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_V220Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_E222Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_F223Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_K226Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_V469Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_K77Y_E222Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_N88Y_S255Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_M97Y_H159Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_V185Y_K427Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
VRS_F_V187Y_K427Y	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360

VRS_F_WT	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_A147Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_V220Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_E222Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_F223Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_K226Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_V469Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_K77Y_E222Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_N88Y_S255Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_M97Y_H159Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_V185Y_K427Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
VRS_F_V187Y_K427Y	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420

VRS_F_WT	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_A147Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_V220Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_E222Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_F223Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_K226Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_V469Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_K77Y_E222Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_N88Y_S255Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_M97Y_H159Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_V185Y_K427Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
VRS_F_V187Y_K427Y	KCTASNKNRGIKTFSGNCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480

Fig. 20B

ES 2 773 309 T3

VRS_F_WT	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_A147Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_V220Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_E222Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_F223Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_K226Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_V469Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_K77Y_E222Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_N88Y_S255Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_M97Y_H159Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_V185Y_K427Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540
VRS_F_V187Y_K427Y	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLL	540

VRS_F_WT	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_A147Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_V220Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_E222Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_F223Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_K226Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_V469Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_K77Y_E222Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_N88Y_S255Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_M97Y_H159Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_V185Y_K427Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568
VRS_F_V187Y_K427Y	STFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK	568

Fig. 20C

>DS-Cav1_A147Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:23)

Fig. 21

>DS-Cav1_V220Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETYIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:24)

Fig. 22

>DS-Cav1_E222Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIYFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:25)

Fig. 23

>DS-Cav1_F223Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEYQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:26)

Fig. 24

>DS-Cav1_K226Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
YNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:27)

Fig. 25

>DS-Cav1_V469Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:28)

Fig. 26

>VRS_F_E222Y_V469Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIYFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPIITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYYKGEPINFDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:29)

Fig. 27

>VRS_F_K226Y_V469Y

MELLILKANAIITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQ
YNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPIITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVNVKQEGKSLYYKGEPINFDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:30)

Fig. 28

>DS-Cav1_E222Y_V469Y

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIyFQQ
KNNRLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPIITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYyKGEPiINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:31)

Fig. 29

>DS-Cav1_K226Y_V469Y

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAK
VKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIAS
GVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNKQSCSISNIETVIEFQQ
YNNRLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPIITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTL
PSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTV
SVGNTLYYVKNQEGKSLYYKGEPiINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGLVPRGSHHHHHHSAWSHPQFEK (SEQ ID NO:32)

Fig. 30

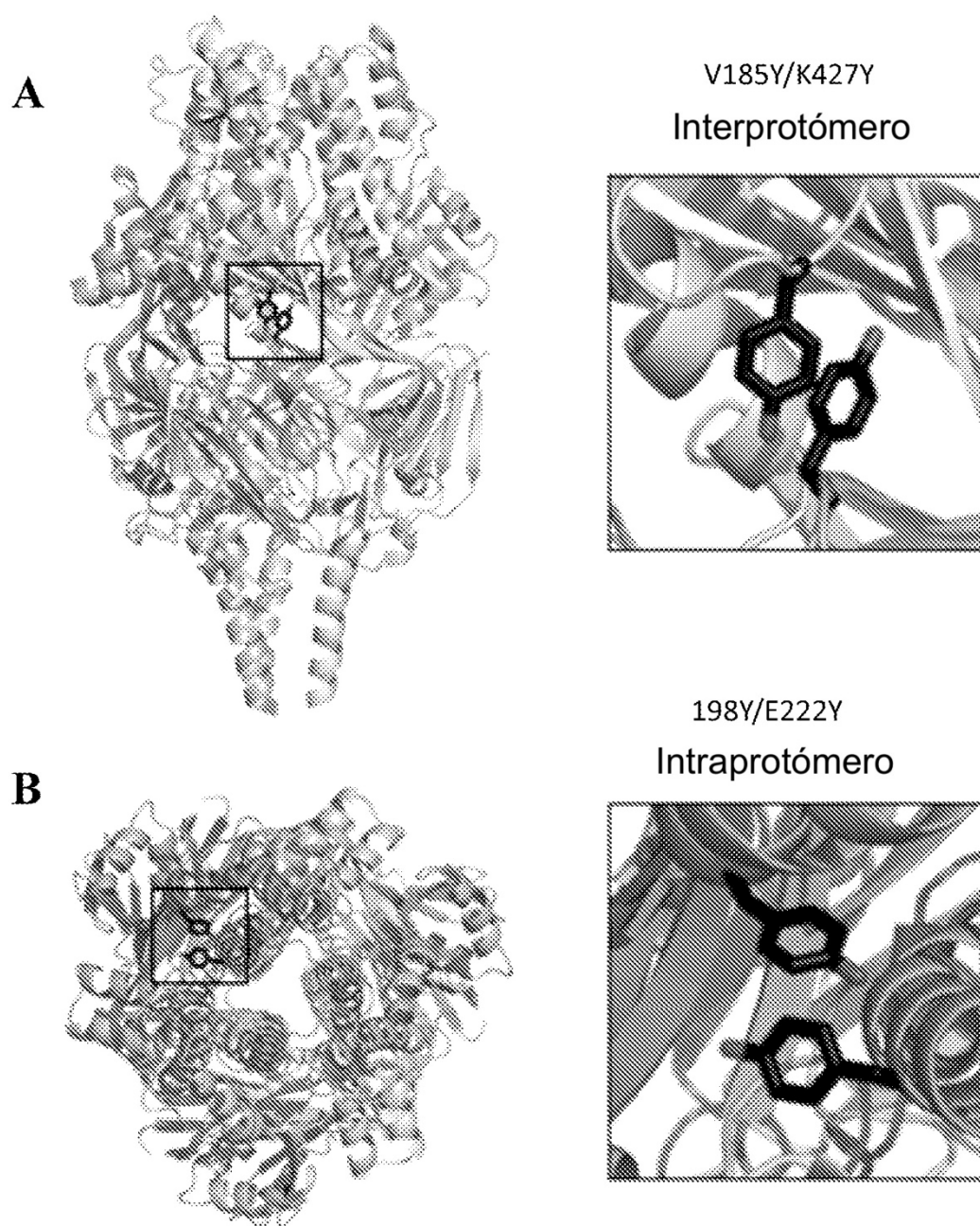


Fig. 31

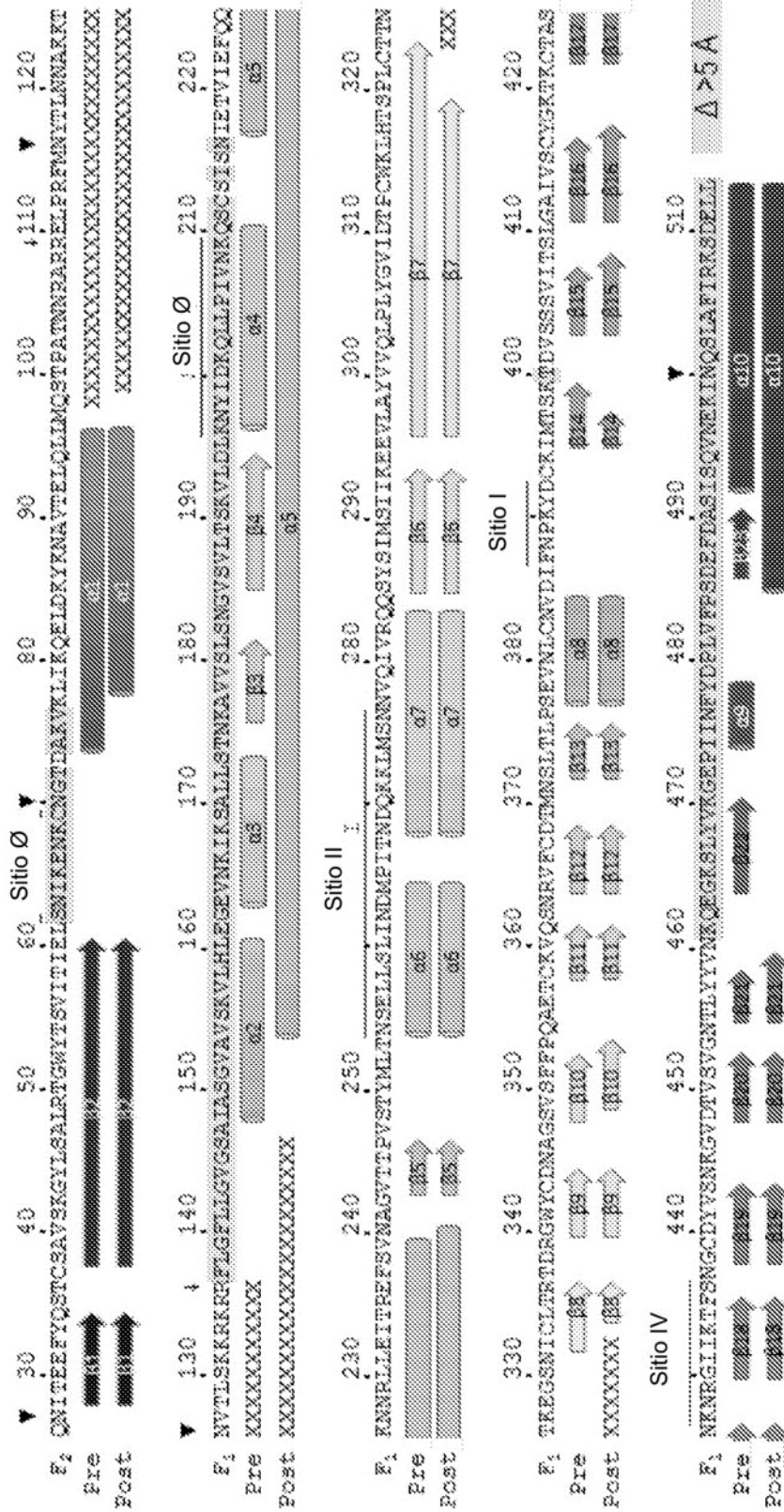


Fig. 32

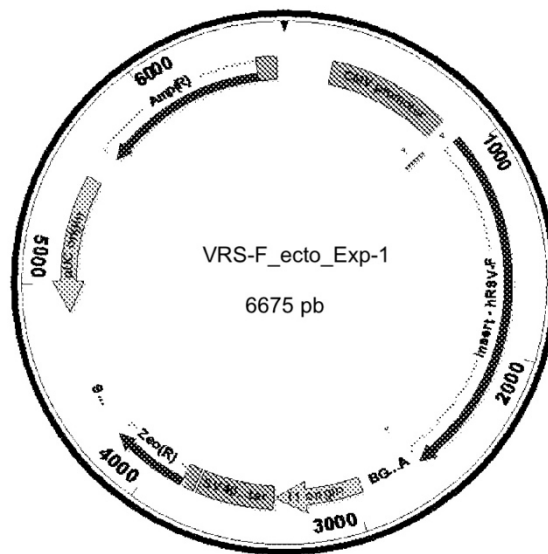


Fig. 33

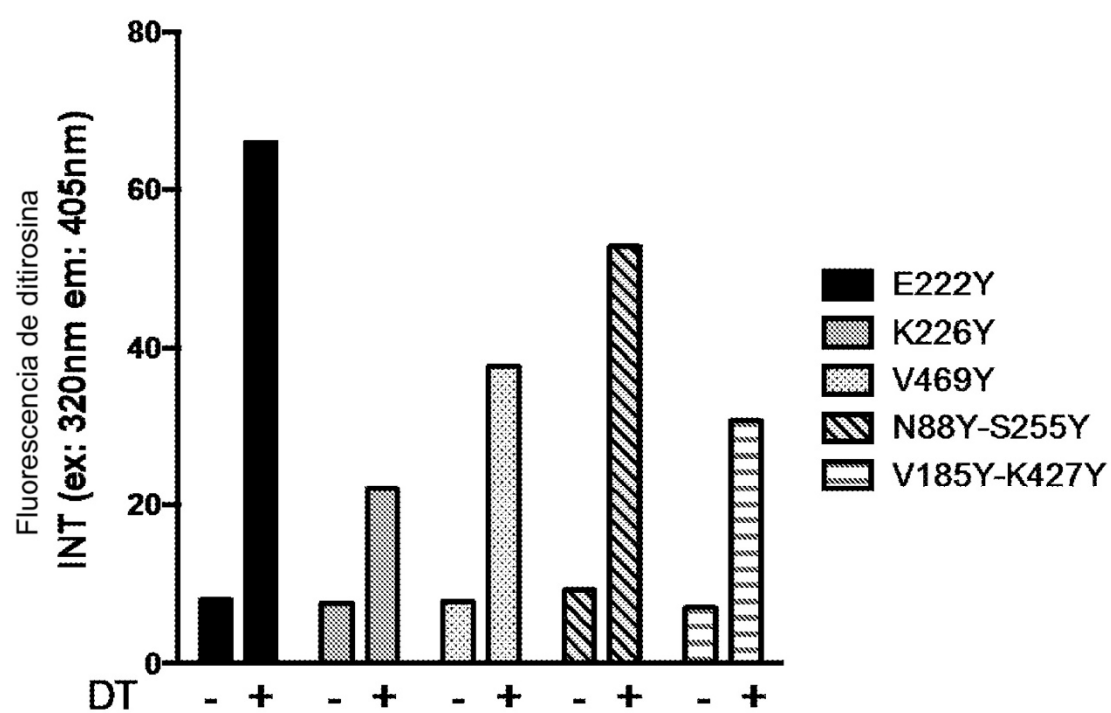
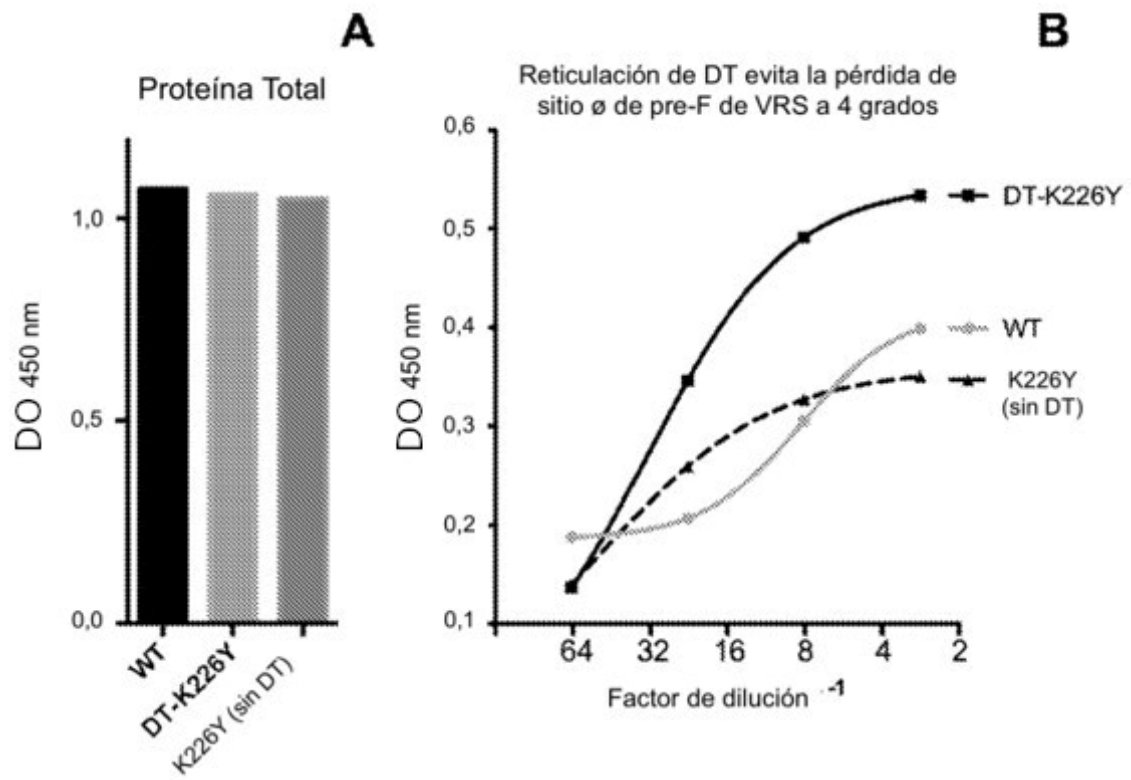


Fig. 34



Figs. 35A – 35B

ES 2 773 309 T3

VRS_F_WT_Subtipo_A	ATGGAGTTGCTTAATCCTCAAAGCAAAATGCAATTACCACCAATCCTCACTGCAGTCACATTT	60
VRS_F_WT_Subtipo_B	ATGGAGTTGCTGATCCACAGGTCAAGTGAATCTTCTTAACCTCTTGCTATTAATGCATTG	60
	*****.***:*. . ***.***** : *. * * *.** .: : .****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TGTTTGTCTTCTGGTCAAAACATCACTGAAGAAATTTATCAATCAACATGCAGTGCAGTT	120
VRS_F_WT_Subtipo_B	TACCTCACCTCAAGTCAGAACATAAAGTGGAGTTTACCAATCGACATGTAGTGCAGTT	120
	*. * . * **: .****.*****.*****.***.***** *****.***** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	AGCAAAGGCTATCTTAGTGCTCTGAGAACTGGTTGGTATACCAGTGTTATAACTATAGAA	180
VRS_F_WT_Subtipo_B	AGCAGAGGTTATTTTAGTGCTTTAAGAACAGGTTGGTATACCAGTGTCTAACAATAGAA	180
	. *** ***** * .*****:*****.***** *****:*****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TTAAGTAATATCAAGAAAAATAAGTGTAATGGAACAGATGCTAAGGTAATAATGTATAAAA	240
VRS_F_WT_Subtipo_B	TTAAGTAATATAACAGAAACCAATGCAATGGAAGTGCACCTAAGTAATAACTTATAAAA	240
	*****.***.***.***. ***.** *****:***. .****.***** * *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	CAAGAATTAGATAAAATATAAAAAATGCTGTAAACAGAATTGCAGTTGCTCATGCAAAGCACA	300
VRS_F_WT_Subtipo_B	CAAGAATTAGATAAGTATAAGAAATGCAGTAACAGAATTACAGTACTTATGCAAAACACG	300
	*****.*****.*****.*****:*****.***.*** *****.***.	
VRS_F_WT_Subtipo_A	CCAGCAACAAACAATCGAGCCAGAAGAGAACTACCAAGGTTTATGAATTATACACTCAAC	360
VRS_F_WT_Subtipo_B	CCAGCTGCCAACAAACCGGCCAGAAGAGAACACCACAGCACATGAACACACAATCAAT	360
	*****:*.***** ***.*****.***** *****. * : ***** * * *.****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	AATGCCAAAAAACCAATGTAACATTAAGCAAGAAAAGGAAAAGAGATTCTTGGTTTT	420
VRS_F_WT_Subtipo_B	ACCACTAAAAACCTAAATGTATCAATAAGCAAGAGAGAAACGAAGATTCTGGGCTTC	420
	*. . * *****. . .*****:*.*****.*****.*****.***** * * *	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TTGTTAGGTGTTGGATCTGCAATCGCCAGTGGCGTGTGCTGTATCTAAGGTCCTGCACCTA	480
VRS_F_WT_Subtipo_B	TTGTTAGGTGTAGGATCTGCAATAGCAAGTGGTATAGCTGTATCCAAAGTTCTACACCTT	480
	*****.*****:*****.*****.***.***** .*:***** ***.** ***.*****:	
VRS_F_WT_Subtipo_A	GAAGGGGAAGTGAACAAGATCAAAAGTGCTCTACTATCCACAAACAAGGCTGTAGTCAGC	540
VRS_F_WT_Subtipo_B	GAAGGAGAAGTGAACAAATCAAAATGCTTTGTTGTCTACAAACAAGCTGTAGTCAGT	540
	*****.*****.*****.*****.*** * . * .** *****.*****.*****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TTATCAAAATGGAGTCAGTGTCTTAACAGCAAAGTGTTAGACCTCAAAAACCTATATAGAT	600
VRS_F_WT_Subtipo_B	CTATCAAAATGGGGTCAGTGTTTTAACAGCAAAGTGTTAGATCTCAAGAATTACATAAAT	600
	*****.***** *****.*****.***** *****.*** ** * **.*	
VRS_F_WT_Subtipo_A	AAACAATTGTTACCTATTGTGAACAAGCAAAGCTGCAGCATATCAAAATAGAACTGTG	660
VRS_F_WT_Subtipo_B	AACCAATTATTACCCATAGTAAATCAACAGAGCTGTGCGATCTTCAACATTGAACAGTT	660
	.*.***.***** ***:***.***.***.***** .*****.* **.* ***:*****:***	
VRS_F_WT_Subtipo_A	ATAGAGTTCCAACAAAAGAACAACAGACTACTAGAGATTACCAGGAATTTAGTGTTAAT	720
VRS_F_WT_Subtipo_B	ATAGAATTCCAACAGAAGATAGCAGATTGTTGGAAATCACCAGAGAATTTAGTGTCAT	720
	*****.*****.***** * .***** * . * .**.* *****.*****.***** **	
VRS_F_WT_Subtipo_A	GCAGGTGTAACCTACACCTGTAAGCACTTACATGTTAACTAATAGTGAATTATTGTCATTA	780
VRS_F_WT_Subtipo_B	GCAGGTGTAACAACACCTTTAAGCACTTACATGTTAAACAACAGTGAGTTACTATCATTTG	780
	*****.*****:***** *****.*****.*****:*. *****.*** * .*****.	
VRS_F_WT_Subtipo_A	ATCAATGATATGCCTATAACAAATGATCAGAAAAAGTTAATGTCCAACATGTTCAAATA	840
VRS_F_WT_Subtipo_B	ATCAATGATATGCCTATAACAAATGATCAGAAAAAATTAATGTCAAGCAATGTTCAAGATA	840
	*****.*****.*****.*****.*****.*****.*****.***.*****.***	
VRS_F_WT_Subtipo_A	GTTAGACAGCAAAGTTACTCTATCATGTCCATAATAAAAGAGGAAGTCTTAGCATATGTA	900
VRS_F_WT_Subtipo_B	GTAAGGCACAAAGTTATTCTATCATGTCTATAATAAAGGAAGAAGTCTTGCAATGTT	900
	..*** *****.***** *****.***** *****:*****.*****	

Fig. 36A

ES 2 773 309 T3

VRS_F_WT_Subtipo_A	GTACAATTACCACTATATGGTGTATAGATACACCCTGTTGGAAACTACACACATCCCCT	960
VRS_F_WT_Suptipo_B	GTACAGCTACCTATCTATGGTGTAAATAGATACACCTTGCTGGAAATTACACACATCACCT	960
	*****.*****:*****:***** ** ***** *****:***	
VRS_F_WT_Subtipo_A	CTATGTACAACCAACACAAAAGAAGGGTCCAACATCTGTTTAAACAAGACTGACAGAGGA	1020
VRS_F_WT_Suptipo_B	CTATGCACCACCAACATCAAAGAAGGATCAAATATTTGTTTAAACAAGACTGATAGAGGA	1020
	***** ** *****.*****:*** ** ***** *****:***** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TGGTACTGTGACAATGCAGGATCAGTATCTTCTTCCACAAAGCTGAAACATGTAAAGTT	1080
VRS_F_WT_Suptipo_B	TGGTATTGTGATAATGCAGGATCAGTATCTTCTTCCACAGGCTGACACTGCAAAGTA	1080
	***** ***** *****:***** *****:*** *****:	
VRS_F_WT_Subtipo_A	CAATCAAATCGAGTATTTTGTGACACAATGAACAGTTTAACATTACCAAGTGAAGTAAAT	1140
VRS_F_WT_Suptipo_B	CAGTCCAATCGAGTATTTTGTGACACTATGAACAGTTGACATTACCAAGTGAAGTCAGC	1140
	** ** *****:*****:***** *****:***	
VRS_F_WT_Subtipo_A	CTCTGCAATGTTGACATATTCAACCCCAAATATGATTGTAAAATTATGACTTCAAAAACA	1200
VRS_F_WT_Suptipo_B	CTTGTAACACTGACATATTCAATTCCAAGTATGACTGCAAATTATGACATCAAAAACA	1200
	** ** ** ***** ***** *****:***** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	GATGTAAGCAGCTCCGTTATCACATCTCTAGGAGCCATTGTGTCTATGCTATGGCAAACT	1260
VRS_F_WT_Suptipo_B	GACATAAGCAGCTCAGTAATTCTCTCTGGAGCTATAGTGTCAATTATGGTAAACT	1260
	** *****:*** ** *****:***** ** ***** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	AAATGTACAGCATCCAATAAAAAATCGTGAATCATAAAGACATTTCTAACGGGTGCGAT	1320
VRS_F_WT_Suptipo_B	AAATGCACTGCATCCAATAAAAAATCGTGGGATTATAAAGACATTTCTAATGGTTGTGAC	1320
	***** **:***** ***** ** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TATGTATCAAATAAAGGGGTGGACACTGTGTCTGTAGGTAACACATTATATTATGTAAT	1380
VRS_F_WT_Suptipo_B	TATGTGTCAACAAAGGAGTAGATACTGTGTGAGTGGGCAACACTTTATACATATGTAAT	1380
	***** ***** *****:*** ** *****:***** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	AAGCAAGAAGGTAAAGTCTCTATGTAAAAGGTGAACCAATAATAAATTTCTATGACCCA	1440
VRS_F_WT_Suptipo_B	AAGCTGGAAGGCAAGAACCTTTATGTAAAAGGGGAACCTATAATAAATTACTATGATCCT	1440
	:** ** ** ***** *****:***** ***** **:	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TTAGTATCCCCTCTGATGAATTTGATGCATCAATATCTCAAGTCAACGAGAAGATTAA	1500
VRS_F_WT_Suptipo_B	CTAGTGTTTCTCTGATGAGTTTGTATGCATCAATATCTCAAGTCAATGAAAAATCAAT	1500
	***** ** ** ***** ***** ***** ** ** **	
VRS_F_WT_Subtipo_A	CAGAGCCTAGCATTTATTCGTAAATCCGATGAATTATTACATAATGTAAATGCCGGTAA	1560
VRS_F_WT_Suptipo_B	CAAAGTTTAGCTTTTATTCGTAAATCTGATGAATTACTACATAATGTAAATACTGGCAA	1560
	** ** *****:***** ***** ***** *****:*** ** **	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TCCACCACAAATATCATGATACTACTATAATTATAGTGATTATAGTAATATTGTTATCA	1620
VRS_F_WT_Suptipo_B	TCTACTACAAATATTATGATACTACAATTATTATAGTAATCATTGTAGTATTGTTATCA	1620
	** ** ***** *****:***** ***** ** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	TTAATTGCTGTTGGACTGCTCTTATACTGTAAGGCCAGAAGCACACCAGTCACACTAAGC	1680
VRS_F_WT_Suptipo_B	TTAATAGCTATTGGTTTACTGTTGTATTGCAAAGCCAAAAACACACCAGTTACACTAAGC	1680
	*****:*** *****:*** ** ** ** ** ***** *****	
VRS_F_WT_Subtipo_A	AAAGATCAACTGAGTGGTATAAATAATATTGCATTTAGTAACTAA	1725
VRS_F_WT_Suptipo_B	AAAGACCAACTAAGTGAATCAATAATATTGCATTCAGCAAAATAG	1725
	***** *****:*****:***** ***** ** ** **	

Identidad de secuencia: 81,57%

Fig. 36 B

>VRS_F_subtipoA_nt_humano_codón_optimizado

ATGGAGCTGCTCATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCCTCACCGCCGTGACCTTCTGCTTCGCCAGCGGCCAGAATATCACCAGGAGT
TCTACCAGAGCACCTGCAGCGCGGTGAGCAAGGGCTACCTGAGCGCCCTGAGAACC GGCTGGTACACCAGCGTGATCACCATCGAGCTGAGCAA
CATCAAGAAGAACAGTGCACACGGCACCGACGCCAAGGTGAAGCTCATCAAGCAGGAGCTGGACAAGTACAAGAACGGCGTGACCGAGCTGCAG
CTGCTCATGCAGAGCACCCAGGCCACCAACAACAGGGCCAGAAGGGAGCTGCCCGGTTTCATGAACCTACACCTGAACAACGCCAAGAAAACCA
ACGTGACCTGAGCAAGAAGCGGAAGCGGAGATTCTGGGCTTCTGCTGGGCGTGGGCAGCGCCATCGCCAGCGGAGTGGCCGTGCCAAGGT
GCTGCACCTGGAGGGCGAGGTGAACAAGATCAAGAGCGCCCTGCTGAGCACCACAAGGCCGTGGTGAGCCTGAGCAACGGCGTGAGCGTGCTC
ACCAGCAAGGTGCTGGATCTGAAGAATACTATCGACAGCAGCTGCTGCCATCGTGAACAAGCAGAGCTGCAGCATCAGCAACATCGAGACCG
TGATCGAGTTCACGAGAAGAACAACCGGCTGCTGGAGATCACCAGGGAGTTCAGCGTGAACGCCGGCGTGACCACCCCGTGAGCACCTACAT
GCTCACCACAGCGAGCTGCTGAGCCTCATCAACGACATGCCATCACCACGACCGAGAAGAGCTCATGAGCAACAACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGAGCTACTCCATCATGAGCATCATCAAGGAGGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGAGCTGCCCGTGACGGCGTGATCGATACCCCTTGCT
GGAAGCTGCACACAGACCCCGTGTGCACCAACCAAGGAGGGCAGCAACATCTGCCCTCACCAGGACCGATAGAGGCTGGTACTGCGACAA
CGCCGGCAGCGTGTCATTCTTTCCACAGGCCGAGACCTGCAAGGTGCAGAGCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAACAGCCTCACCCTGCCC
AGCGAAGTGAACCTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCCCAAGTACGACTGCAAGATCATGACCAGCAAGACCGACGTGAGCAGCAGCGTGATTA
CCAGCCTGGGGCCCATCGTGAGCTGCTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACC GGGGGATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGAAGCTGAGCAACAAGGGCGTGATACCGTGAGCGTGGGCAACACCTGTACTACGTGAATAAGCAGGAGGGCAAGAGCGTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCCTAGCGACGAGTTCGATGCCAGCATCAGCCAGGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCTTGGCTTCATCAGGAAGAGCGACGAGCTGTGCACAATGTGAATGCCGGCAAGAGCACCACCAATATCATGATCACCACAATCATCATCGT
GATCATGTGATCTGCTGTCCCTCATCGCCGTGGGCCGTGCTGTACTGCAAGGCCAGAAGCACCCCTGTGACCCCTGTCCAAGGATCAGCTG
AGCGGCATCAACAATATCGCCTTCTCCAAGTGA

Fig. 37

>VRS_F_subtipoA_nt_CHO_codón_optimizado

ATGGAAGTGTGATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCCTGACCGCGGTGACCTTCTGCTTCGCCCTCCGGCCAGAACATCACCAGGAAT
TCTACCAGTCTACCTGTCCGCGGTGTCCAAGGGCTACCTGTCTGCTCTGAGAACC GGCTGGTACACCTCCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
CATCAAGAAAAACAAGTGCAACGGCACCGACGCCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAAGTGGACAAGTACAAGAATGCCGTGACCGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGTCTACCCAGGCCACCAACAACCGGGCCAGACGCGAGCTGCCAGATTTCATGAACCTACACCTGAACAACGCCAAAAAGACCA
ACGTGACCTGTCCAAGAAGCGGAAGCGGGTTCCTGGGCTTTCTGCTGGGAGTGGGCTCCGCTATCGCTTCTGGCGTGGCCGTGTCTAAGGT
GCTGCACCTGGAAAGCGAAGTGAACAAGATCAAGTCCGCCCTGCTGAGCACCACAAGGCCGTGGTGTCCTGAGCAACGGCGTGCCGTGCTG
ACCTCCAAGGTGCTGGATCTGAAGAATACTATCGACAAACAGCTGCTGCCATCGTGAACAAGCAGTCTGCTCCATCTCCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAACAACCGGCTGCTGGAAATCACC CGGAGTTCTCCGTGAATGCCGGCGTGACCACCCCGTGTCACCTACAT
GCTGACCAACTCCGAGCTGCTGTCTGATCAACGACATGCCATCACCACGACCGAGAAAAAGTGTATGTCCAACAACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGTCTTACAGCATCATGTCCATCATCAAGAAGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGACGCTGCCCTGTGTACGGCGTGATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACGACCCCTCTGTGCACCACCAACACCAAGAGGGCAGCAACATCTGCCCTGACCCGACCGACAGAGGCTGGTACTGTGACAA
CGCTGGCTCCGTCTCATTTCTTCCACAAGCCGAGACATGCAAGGTGCAGTCCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAACCTCCCTGACCCCTGCCC
TCTGAAGTGAACCTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCCTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCAGCAAGACCGACGTGTCAGCTCTGTGATCA
CCTCCCTGGGGCCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCTCCAACAAGAACC GGGGCATCATCAAGACCTTCTCCAACGGCTG
CGACTATGTGTCTAACAAGGGCGTGACACCGTGTCTGTGGGAACACCCCTGTACTACGTGAACAACAGGAAGGCAAGTCCCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCTATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCCTCCAGCGACGAGTTTCGACGCTCCATCAGCCAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGT
CCCTGGCCTTCATCCGGAAGTCCGATGAGCTGTGCACAATGTGAACGCCGGCAAGTCCACCACCAATATCATGATCACCACAATCATCATCGT
GATTATCGTGATCTGCTGAGCCTGATCGCCGTGGGCCGTGCTGTACTGCAAGGCCAGATCCACCCCTGTGACACTGAGCAAGGACAGCTG
TCCGGCATCAACAATATCGCCTTCTCAGCAACTGA

Fig. 38

>VRS_F_subtipoA_nt_SF9_codón_optimizado

ATGGAAGTGTGATCCTGAAGGCTAACGCTATCACCACCATCCTGACCGCTGTGACCTTCTGCTTCGCTTCCGGCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGTCTACCTGCTCCGCTGTGTCCAAGGGTTACCTGTCCGCTCTGCGTACCGGCTGGTACACCTCCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
CATCAAGAAGAACAGTGAACGGCACCAGCGCTAAAGTGAAGCTGATCAAGCAAGAGCTGGACAAGTACAAGAACGCTGTACCGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGTCCACCCAGGCTACCAACAACGCTGCTCGTCGCGAGCTGCCCGGTTTCATGAAGTACACCCCTGAACAACGCCAAGAAGACCA
ACGTACCCCTGTCCAAGAAGCGCAAGCGCCGTTTCCCTGGGTTTCCCTGCTGGGTGTCCGCTATCGCCTCCGGTGTGCTGTCTCTAAGGT
GCTGCACCTCGAGGGCGAAGTGAACAAGATCAAGTCCGCCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCTGTGGTGTCCCTGTCTAACGGTGTCTCCGTGCTG
ACCTCCAAGTCTCTGGACCTGAAGAATACATCGACAAGCAAGTACGCTGCCCATCGTGAACAAGCAGTCTGCTCCATCTCCAACATCGAGACTG
TGATCGAGTTCCAGCAAAAGAACAACCGCCTGCTCGAGATCACCCTGCGAGTTCTCCGTGAACGCTGGTGTACACCCCGGCTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACTCCGAGCTGCTGTCCCTGATCAACGACATGCCATCACCACGACCAAAAGAAGCTGATGTCCAACAACGTGCAGATCGTGCGT
CAGCAGTCTTACTCTATCATGAGCATCATCAAGGAAGAGGTGCTGGCTTACGTGGTGCAGCTGCCCTGTACGGTGTCTATGCACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCTCCCACTGTGTGACCAACCAACCAAGGAAGGTTCACACATCTGCCTGACCCGTACCGACCGTGGCTGGTACTGCGACAA
CGCTGGTTCCGTTTTCATTCTTCCACAAGCCGAGACTTGCAAGGTGCAGTCCAACCGTGTGTCTGCGACACCATGAACCTCCCTGACCCCTGCCC
TCCGAAGTCAACCTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCAGCAAGACCGACGCTGCTCCCTCTGTCTATCA
CCTCCCTGGGTGCTATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCTTCCAACAAGAACCCTGGTATCATCAAGACCTTCTCCAACGGTTG
CGACTAGCTCAGCAACAAGGGCGTGGACACCGTGTCCGTGGGCAACACCTGTACTAGCTCAACAAGCAAGAGGGCAAGTCCCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCCTCATCCGACGAGTTTCGACGCTTCCATCTCCAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGT
CCTGCGCTTTCATCCGCAAGTCCGACGAGTGTCCACAACGCTCAACGCTGGCAAGTCCACCACTAACATCATGATCACTAGCATCATCATCGT
GATCATCGTATCTGTGAGCTGTGCTGTGGGCTGTGCTGTACTGCAAGGCTCGTTCACCCCTGTGACTCTGTCCAAGGACCGAGCTG
TCCGGTATCAACAACATCGCCTTCAGCAACTAA

Fig. 39

>VRS_F_subtipoA_nt_Ratón_codón_optimizado

ATGGAAGTGTGATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCCTGACCGCCGTGACCTTCTGCTTCGCCAGCGGCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGAGCACCTGTAGCGCGGTGTCCAAGGGCTACCTGAGCGCCCTGAGAACCCTGGTACACCAGCGTATCACCATCGAGCTGAGCAA
CATCAAGAAAAACAAGTGAACGGCACCAGCGCCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAAGTGGACAAGTACAAGAACCGCGTACAGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGAGCACCCAGGCCACCAACAACAGAGCCAGACGCGAGCTGCCAGATTTCATGAAGTACACCCCTGAACAACGCCAAAAAGACCA
ACGTGACCCCTGAGCAAGAAGAGGAAGCGCAGATTCCCTGGGCTTCCCTGCTGGGCGTGGGCAGCGCTATTGCTTCTGGCGTGGCCGTGTCTAAGGT
GCTGACCTTGGAAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGTCCGCCCTGCTGAGCACCAACAAGGCCGTGGTGTCTCTGAGCAACGGCGTGTCCGTGCTG
ACCAGCAAGGTGCTGGATCTGAAGAATACATCGACAACAGCTGCTGCCATCGTGAACAAGCAGAGCTGCAGCATCAGCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAACACCGGCTGCTGGAAATCACCCTGCGAGTTTCAGCGTGAACGCTGGCGTGACCAACCCCGTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACAGCGAGCTGCTGAGCCTGATCAACGACATGCCATCACCACGACCAAGAAAGCTGATGAGCAACACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGAGCTACTCCATCATGAGCATCATCAAGAAGAGGTGCTGGCTACGTGGTGCAGCTGCCTCTGTACGGCGTATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCGCCCTCTGTGACCAACCAACCAAGAGGGCTCCAACATCTGCCTGACCAGAACCAGACAGAGGCTGGTACTGCGACAA
CGCCCGCTCCGTCTCATTCTTTCCACAAGCCGAGACATGCAAGGTGCAGAGCAACAGAGTGTCTGCGACACCATGAACAGCTGACCCCTGCCC
TCTGAAGTGAACCTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAGACCGACGCTGTCCAGCTCCGTGATCA
CAAGCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACAGGGGAATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGACTACGTGTCCAACAAGGGGTGGACACCGTGTCTGTGGGCAACACCTGTACTACGTGAACAAACAGGAAGGCAAGAGCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCCTCAGCGACGAGTTTCGACGCCAGCATCTCCAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCCTGGCTTTCATCAGAAAGTCCGATGAGCTGTGCACAATGTGAACGCCGGCAAGAGCACCACAAACATCATGATCACCCTATCATCATCGT
GATCATTTGTGATCCTGCTGTCCCTGATCGCGTGGGCTGTGCTGTACTGCAAGGCCAGATCCACCCCTGTGACCTGTCCAAGGACCGAGCTG
AGCGGCATCAACAATATCGCCTTCTCCAACCTGA

Fig. 40

>VRS-F_subtipoB_HUMANO_codónOPTIMIZADO

ATGGAAGTGTGATCCACAGAAGCAGCGCCATCTTCCTGACCTGGCCATCAACGCCCTGTACCTGACCAGCAGCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGAGCACCTGTAGCGCGGTGTCCCGGGGCTACTTTAGCGCCCTGAGAACCGGCTGGTACACCAGCGTGATCACCATCGAGCTGAGCAA
TATCACCGAGACAAAGTGCAACGGCACCGACACCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAAGTGGACAAGTACAAGAACCGCGTGACCGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGAATACCCCTGCCGCCAACACCGGGCCAGAAGAGAAGCCCCCAGCACATGAAGTACACCATCAACACCACCAAGAACCTGA
ACGTGTCCATCAGCAAGAAGCGGAAGCGGCGGTTCCTGGGCTTCTGCTGGGAGTGGGAAGCGCCATTGCCAGCGGAATCGCCGTGTCTAAGGT
GCTGCACCTGGAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGAATGCCCTGCTGAGCACCAACAAGGCCGTGGTGTCCCTGAGCAACGGCGTGTCCGTGCTG
ACCTCCAAGGTGCTGGATCTGAAGAATACATCAACAACCGAGTGTGCCATCGTGAACCAGCAGAGCTGCCGGATCTTCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCACGAGAAGACAGCAGGCTGCTGGAAATCACCCGCGAGTTGAGCGTGAACGCTGGCGTGACCACACCCCTGAGCACCTACAT
GCTGACCAACAGCAGCTGCTGTCCCTGATCAATGACATGCCATACCAACGACCAAGAAAGCTGATGAGCAGCAACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGTCTACAGCATCATGAGCATCATCAAAGAAGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGCAGCTGCCATATCTACGGCGTGATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCGCCCTCTGTGCACACCAACATCAAAGAGGGCAGCAACATCTGCCCTGACCAGAACCAGCGGGGTGGTACTGCGATAA
TGCCGGCTCCGTCTCATTTCTTCCACAAGCCGATACCTGCAAGGTGCAGAGCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAACAGCCTGACACTGCC
AGCGAAGTGTCCCTGTGTAAACCCGACATCTTCAACTTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCAGCAAGACCGACATCAGTCCCTCCGTGATCA
CAAGCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACCAGGGAATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGAAGCTGTCCACAAGGGGTGGACACCGTGTCTGTGGGCAACACCTGTACTACGTGAACAAGCTGGAAGGGAAGAATCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCAACTACTACGACCCCTGGTGTTCGCCAGCGAGTTCGATGCCAGCATCAGCCAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCTTGGCTTCATCAGAAAGTCCGATGAGTGTGCACAATGTGAACACCGGCAAGTCCACCACAAATATCATGATCACCACCATCATTATCGT
GATCATCGTGGTGTGCTGAGCCTGATCGCCATCGGCCCTGTGCTGTACTGCAAGGCCAAGAACACCCCGTGACCTGTCCAAGGATCAGCTG
AGCGGCATCAACAATATCGCCTTCTCCAAGTGA

Fig. 41

>VRS-F_subtipoB_CHO_codónOPTIMIZADO

ATGGAAGTGTGATCCACGGTCTCCGCCATCTTCCTGACCTGGCCATCAACGCCCTGTACCTGACCTCCCTCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGTCTACCTGTCCGCGGTGTCCCGGGGCTACTTCTGTCTGTGAGAACCGGCTGGTACACCTCCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
TATCACCGAGACAAAGTGCAACGGCACCGACACCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAAGTGGACAAGTACAAGAACCGCGTGACCGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGAATACCCCTGCCGCCAACACCGGGCCAGAAGAGAAGCCCCCAGCACATGAAGTACACCATCAACACCACCAAGAACCTGA
ACGTGTCCATCTCCAAGAAGCGGAAGCGGCGGTTCCTGGGCTTCTGCTGGGAGTGGGCTCCGCTATCGCCTCCGGAATCGCCGTGTCTAAGGT
GCTGCACCTGGAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGAATGCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCCGTGGTGTCCCTGTCCAACGGCGTGTCCGTGCTG
ACCTCCAAGGTGCTGGATCTGAAGAATACATCAACAACCGAGTGTGCCATCGTGAACCAGCAGTCTGCCGGATCTTCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAATCCCGGCTGCTGGAAATCACCCGCGAGTTCTGTGTGAATGCCGGCGTGACCACCCCTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACTCCGAGCTGCTGTCCCTGATCAACGACATGCCATCACCAACGACCAAGAAAGCTGATGTCTCCACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGAGCTACTCCATCATGTCCATTATCAAAGAAGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGCAGCTGCCATATCTACGGCGTGATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCGCCCTCTGTGCACCAACATCAAAGAGGGCTCCAACATCTGCCCTGACCAGAACCAGCGGGGTGGTACTGTGACAA
CGTGGCTCCGTCTCATTTCTTCCACAAGCCGATACCTGCAAGGTGCAGTCCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAATTCTGTGACCTGCC
TCCGAAGTGTCTGTGTAAACCCGACATCTTCAACTCTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCAGCAAGACCGATATCTCCAGCTCTGTGATCA
CCTCCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCTCCAACAAGAACCAGGGGATCATCAAGACCTTCTCCAACGGCTG
CGACTACGTGTCCAACAAGGGGTGGACACCGTGTCTGTGGCAACACCTGTACTACGTGAACAAGCTGGAAGGGAAGAATCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCAACTACTACGACCCCTGGTGTTCGCCAGCGACGAGTTGACGCTCCATCAGCCAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGT
CCCTGGCTTCATCCGGAAGTCCGATGAGTGTGCACAATGTGAACACCGGCAAGTCCACCACAAATATCATGATCACCACCATCATTATCGT
GATCATCGTGGTGTGCTGAGCCTGATCGCCATCGGCCCTGTGCTGTACTGCAAGGCCAAGAACACCCCGTGACCTGTGAGCAAGGACAGCTG
TCCGGCATCAACAATATCGCCTTCAGCAAGTGA

Fig. 42

>VRS-F_subtipoB_SF9_codónOPTIMIZADO

ATGGAACGTGCTGATCCACCGTTCCCTCCGCTATCTTCTGACCTGGCTATCAACGCTCTGTACCTGACCTCCTCCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGTCTACCTGCTCCGCTGTGTCCGCTGGTTACTTCTCCGCTCTGCGTACCGGCTGGTACACCTCCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
CATCACTGAGACTAAGTGAACGGCACCACACCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAAGAGCTGGACAAGTACAAGAACGCTGTGACCGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGAACACCCCGCTGTCTAACACCGTGTCTGCTGCGCAAGCTCCCGAGCACATGAACCTACACCATCAACACCACCAAGAACCTGA
ACGTGTCCATCTCCAAGAAGCGCAAGCGCCGTTTCTGCGGTTTCTGCTGGGTGTGCGTTCCGCTATCGCTTCCGGTATCGCTGTCTCCAAGGT
GCTGCACCTCGAGGGCGAAGTGAACAAGATCAAGAAGCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCTGTGGTGTCCCTGTCCAACGGTGTCTCCGTGCTG
ACCTCCAAGGTCCCTCGACCTGAAGAATACTATCAACAACACAGCTGTGCCATCGTGAACAGCAGTCCCTGCCGTATCTTCAACATCGAGACTG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAACTCCCGTGTGCTCGAGATCACCCGCGAGTTCTCCGTGAACGCTGGTGTACACCCCCCTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACTCCGAGCTGCTGTCCCTGATCAACGACATGCCATACCAACGACCAAAAGAAGCTGATGTCTCCAACGTGCAGATCGTGCCT
CAGCAGTCTTACTCCATCATGTCCATCATCAAGGAAGAGGTGCTGGCTTACGTGGTGCAGTGCCTATCTACGGTGTCTGCAGACCCCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCTCCCGACTGTGACACCAACATCAAGGAAGGTTCACACATCTGCCTGACCCGTACCGACCGTGGCTGGTACTGCGACAA
CGCTGGTTCCGTTTCTTCTTCCACAAGCCGACACTTGCAAGGTGCAGTCCAACCGTGTGTCTGCGACACCATGAACCTCCCTGACTGTGCCC
TCCGAGGTGTCCCTGTCAACACCGACATCTTCAACTCTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCTCTAAGACTGACATCTCTCCAGCGTGCATCA
CCTCCCTGGGTGCTATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCTTCCAACAAGAACCAGCGGTATCATCAAGACCTTCTCCAACGGTTG
CGACTACGTGTCCACAAGGGCGTGGACACCGTGTCCGTGGGCAACACCGTGTACTACGTGAACAAGCTCGAGGGCAAGAACCTCTACGTGAAG
GGCGAGCTTATCATCAACTACTACGACCCCTGGTGTTCCTATCCGACGAGTTCGACGCTTCCATCTCCAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGT
CCCTGGCTTTCATCCGCAAGTCCGACGAGTGTCCACAACGTGAACACCGGCAAGTCCACTACTAACATCATGATCACCAGTATCATCATCGT
GATCATCGTGTGCTGCTGAGCCTGATCGCTATCGGCTGTGCTGTACTGCAAGGCTAAGAACACTCCCGTGACCTGTCTAAGGACCAAGCTG
TCCGGTATCAACAACATCGCCTTCAGCAAGTAA

Fig. 43

>VRS-F_subtipoB_ratón_codónOPTIMIZADO

ATGGAACGTGCTGATCCACAGAAGCAGCGCCATCTTCTGACCTGGCCATCAACGCCCTGTACCTGACCGAGCAGCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGAGCACCTGTAGCGCCGTGTCCAGAGGCTACTTACGCGCCCTGAGAACCGGCTGGTACACCGAGCTGATCACCATCGAGCTGAGCAA
CATCACAGAGACAAAGTGAACGGCACCACACCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAAGTGGACAAGTACAAGAAGCCCGTGACCGAACTGCAG
CTGCTGATGCAGAACACCCCTGCGCCAAACAACAGAGCCAGAGAAGAGAGCCCGCAGCACATGAACCTACACCATCAACACCACCAAGAACCTGA
ACGTGTCCATCAGCAAGAAGAGGAAGAGAAGATTCCTGGGCTTCTGCTGGGCGTGGGCAGCGCTATCGCTTCTGGAATCGCCGTGTCTAAGGT
GCTGCACCTGGAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGAAGCTCTGCTGAGCACCAACAAGCCGTGGTGTCCCTGAGCAACGGCGTGTCCGTGCTG
ACCTCCAAGGTGCTGGATCTGAAGAATACTATCAACAACACAGCTGTGCCATCGTGAACAGCAGAGCTGCAGAATCTTCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAAGCAGCAGGCTGCTGGAATCACCCGCGAGTTTACGCGTGAACGCTGGCGTGACCACACCCCTGAGCACCTTACAT
GCTGACCAACAGCGAGCTGCTGTCTGTATCAACGACATGCCATCACCAACGACCAAGAAAAGCTGATGAGCAGCAACGTCAGATCGTGCCTG
CAGCAGTCTTACAGCATCATGAGCATCATAAAGAAGAGGTGCTGGCTTACGTGGTGCAGTGCCTATCTACGGCGTGTGACACCCCTGTGCT
GGAAGCTGCACACCGCCCTCTGTGACACCAACATCAAGAGGGCAGCAACATCTGCCTGACCAAGCCGACAGAGGCTGGTACTGCGACAA
CGCCGGCTCCGTCTCTTCTTCCACAAGCCGACACATGCAAGGTGCAGAGCAACAGAGTGTCTGCGACACCATGAACAGCTGACACTGCCCC
AGCGAAGTGTCCCTGTGTAAACACCGACATCTTCAACTCTAAGTACGACTGCAAGATCATGACCAGCAAGACCGACATCAGTCTCCGTGATCA
CAAGCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAAGAGGGGAATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGACTACGTGTCCAACAAGGGGTGGACACCGTGTCTGTGGCAACACCGTGTACTACGTGAACAAGCTGGAAGGGAAGAATCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCATCAACTACTACGACCCCTGGTGTTCCTCCAGCGACGAGTTTCGACGCCAGCATAGCCAAAGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCCTGGCTTTCATCAGAAAGTCCGATGAGCTGTGCACAATGTGAACACCGGCAAGTCCACAACAAACATCATGATCACCACCATCATTATCGT
GATCATCGTGTGCTGCTGAGCCTGATCGCCATCGGCTGTGCTGTACTGCAAGGCAAGAACACACCCGTGACCTGTCCAAGGACCAAGCTG
AGCGGCATCAACAATATCGCCTTCTCCAAGTGA

Fig. 44

>VRS_F_subtipoA_DS-CAV1_nt_Humano_codón_optimizado

ATGGAACGTGCTGATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCCTGACCGCCGTGACCTTCTGCTTCGCCAGCGGCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGAGCACCTGCAGCGCCGTGAGCAAGGGCTACCTGAGCGCCCTGCGGACCGGCTGGTACACCAGCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
CATCAAAGAAAACAAGTGAACGGCACCGACGCCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAACTGGACAAGTACAAGAACCGCGTGACCGAGCTGCAG
CTGCTGATGCAGAGCACCCCGCCACCAACAACAGAGCCAGAAGAGAGCTGCCCGGTTTCATGAACCTACACCTGAACAACGCCAAGAAAACCA
ACGTGACCCCTGAGCAAGAAGAGAAAAGAGAAGATTCCCTGGGCTTCCTGCTGGGCGTGGGCAGCGCCATTGCCAGCGCGCTGGGCGT[TCG]AAAGT
GCTGCCACCTGGAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGTCCGCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCGGTGGTGTCCCTGAGCAACGGCGTGAGCGTGCTG
AC[TTG]AAGTGCTGGATCTGAAGAACTACATCGACAAGCAGCTGTGCCCAT[CTG]AACCAAGCAGAGCTGCAGCATCAGCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAACAACCGGCTGCTGGAATCACCCTGGGAGTTTCAGCGTGAACGCCGAGTGACCACCCCGTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACAGCGAGCTGCTGTCCCTGATCAATGACATGCCCATCACCACGACCGAGAAAAGCTGATGAGCAACAACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGAGCTACTCCATCATG[TCG]ATCATCAAAGAAGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGCAGCTGCCCTGTACGGCGTGATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCGACCCCTGTGTCACAACCAACACCAAGAGGGCAGCAACATCTGCCTGACCCGACCGACCGGGGCTGGTACTGCGACAA
CGCCGGCAGCGTGCTCTTTTCCACAGGCGGAGACATGCAAGGTGCAGAGCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAACAGCCTGACCCTGCCC
TCCGAAGTGAACTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCCCAAGTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAGACCGACGTGCCAGCTCCGTGATCA
CCTCCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACAGAGGCATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGACTACGTGTCCAATAAGGGCGTGGACACCGTGTCCGTGGGCAACACACTGTACTACGTGAATAAGCAGGAAGGCAAGAGCCTGTACGTGAAG
GGCAGGCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCGCCAGCGAGTTTCAGCGCCAGCATCAGCCAGGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCCTGGCCTTCATCAGAAAAGAGCGACGAACGTGTGTCCGCCATCGCGGGTACATCCCGAGGGCCCCAGAGATGGCCAGGCTACGTGGGAA
GGACGGCGAGTGGGTGCTGTCTACATTTCTGGGCGGCCTGGTGCCTAGAGGCTCTCACCACCACCATCACCACAGCGCTGGTCCCACCCC
CAGTTCGAGAAGTGA

Fig. 45

>VRS_F_subtipoA_DS_nt_Humano_codón_optimizado

ATGGAACGTGCTGATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCCTGACCGCCGTGACCTTCTGCTTCGCCAGCGGCCAGAACATCACCGAGGAAT
TCTACCAGAGCACCTGCAGCGCCGTGAGCAAGGGCTACCTGAGCGCCCTGCGGACCGGCTGGTACACCAGCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
CATCAAAGAAAACAAGTGAACGGCACCGACGCCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAACTGGACAAGTACAAGAACCGCGTGACCGAGCTGCAG
CTGCTGATGCAGAGCACCCCGCCACCAACAACAGAGCCAGAAGAGAGCTGCCCGGTTTCATGAACCTACACCTGAACAACGCCAAGAAAACCA
ACGTGACCCCTGAGCAAGAAGAGAAAAGAGAAGATTCCCTGGGCTTCCTGCTGGGCGTGGGCAGCGCCATTGCCAGCGCGCTGGGCGT[TCG]AAAGT
GCTGCACCTGGAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGTCCGCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCGGTGGTGTCCCTGAGCAACGGCGTGAGCGTGCTG
ACCAGCAAGGTGCTGGATCTGAAGAACTACATCGACAAGCAGCTGTGCCCATCGTGAACAAGCAGAGCTGCAGCATCAGCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAACAACCGGCTGCTGGAATCACCCTGGGAGTTTCAGCGTGAACGCCGAGTGACCACCCCGTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACAGCGAGCTGCTGTCCCTGATCAATGACATGCCCATCACCACGACCGAGAAAAGCTGATGAGCAACAACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGAGCTACTCCATCATG[TCG]ATCATCAAAGAAGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGCAGCTGCCCTGTACGGCGTGATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCGACCCCTGTGTCACAACCAACACCAAGAGGGCAGCAACATCTGCCTGACCCGACCGACCGGGGCTGGTACTGCGACAA
CGCCGGCAGCGTGCTCTTTTCCACAGGCGGAGACATGCAAGGTGCAGAGCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAACAGCCTGACCCCTGCC
TCCGAAGTGAACTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCCCAAGTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAGACCGACGTGCCAGCTCCGTGATCA
CCTCCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACAGAGGCATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGACTACGTGTCCAATAAGGGCGTGGACACCGTGTCCGTGGGCAACACACTGTACTACGTGAATAAGCAGGAAGGCAAGAGCCTGTACGTGAAG
GGCAGGCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCGCCAGCGACGAGTTTCAGCGCCAGCATCAGCCAGGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCCTGGCCTTCATCAGAAAAGAGCGACGAACGTGTGTCCGCCATCGCGGGTACATCCCGAGGGCCCCAGAGATGGCCAGGCTACGTGGGAA
GGACGGCGAGTGGGTGCTGTCTACATTTCTGGGCGGCCTGGTGCCTAGAGGCTCTCACCACCACCATCACCACAGCGCTGGTCCCACCCC
CAGTTCGAGAAGTGA

Fig. 46

>VRS_F_subtipoA_CAV1_nt_Humano_codón_optimizado

ATGGAAGTGTGATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCTGACCGCCGTGACCTTCTGCTTCGCCAGCGGCCAGAACATCACCAGGAAT
TCTACCAGAGCACCTGCAGCGCGGTGAGCAAGGGCTACCTGAGCGCCCTGCGGACCGGCTGGTACACCAGCGTGATCACCATCGAGCTGTCCAA
CATCAAAGAAAACAAGTGCAACGGCACCGACGCCAAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAAGTGGACAAGTACAAGAACGCGGTGACCGAGCTGCAG
CTGCTGATGCAGAGCACCCCGCCACCAACAACAGAGCCAGAAGAGAGCTGCCCGGTTTCATGAATACACCCCTGAACAACGCCAAGAAAACCA
ACGTGACCCCTGAGCAAGAAGAGAAAAGAAAGATTCCTGGGGCTTCCTGCTGGGCGTGGGCAGCGCCATTGCCAGCGGCGTGGCCGTGTCCAAAGT
GCTGCACCTTGAAGGCGAAGTGAACAAGATCAAGTCCGCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCGGTGGTGTCCCTGAGCAACGGCGTGAGCGTGCTG
ACCTTCAGAGGTGCTGGATCTGAAGAACTACATCGACAAGCAGCTGCTGCCCATCTGAACAAGCAGAGCTGCAGCATCAGCAACATCGAGACAG
TGATCGAGTTCCAGCAGAAGAACAACCGGCTGCTGGAAATCACCCGGGAGTTGAGCGTGAACGCCGGAGTGACCACCCCGTGTCCACCTACAT
GCTGACCAACAGCGAGCTGCTGTCCCTGATCAATGACATGCCCATCACCACGACCGAGAAAAGCTGATGAGCAACAACGTGCAGATCGTGCGG
CAGCAGAGCTACTCCATCATGAGCATCATCAAAGAAGAGGTGCTGGCCTACGTGGTGCAGCTGCCCGTGTACGGCGTGATCGACACCCCTGCT
GGAAGCTGCACACCAGCCCCCTGTGCACAACCAACACCAAGAGGGCAGCAACATCTGCCTGACCCGGACCGACCGGGGCTGGTACTGCGACAA
CGCCGGCAGCGTGTCTTCTTTCCACAGCCGAGACATGCAAGGTGCAGAGCAACCGGGTGTCTGCGACACCATGAACAGCCTGACCCCTGCC
TCCGAAGTGAACCTGTGCAACGTGGACATCTTCAACCCCAAGTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAGACCGACGTGTCCAGCTCCGTGATCA
CCTCCCTGGGCGCCATCGTGTCTGTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACAGAGGCATCATCAAGACCTTCAGCAACGGCTG
CGACTACGTGTCCAATAAGGGCGTGGACACCGTGTCCGTGGGCAACACACTGTACTACGTGAATAAGCAGGAAGGCAAGAGCCTGTACGTGAAG
GGCGAGCCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCGCCAGCGACGAGTTCGACGCCAGCATCAGCCAGGTGAACGAGAAGATCAACCAGA
GCCTGGCCTTCATCAGAAAGAGCGACGAAGTGTGTCGCCATCGGCGGCTACATCCCGAGGCCCCAGAGATGGCCAGGCCTACGTGCGGAA
GGACGGCGAGTGGGTGCTGTCTACATTTCTGGGCGGCCTGGTGCCTAGAGGCTCTCACCACCACCATCACCACAGCGCCTGGTCCACCCC
CAGTTCCGAGAAGTGA

Fig. 47