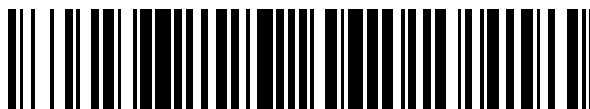


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 791 499**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00	(2006.01)	G01N 33/50	(2006.01)
C12N 15/63	(2006.01)		
C07K 14/005	(2006.01)		
C12N 15/86	(2006.01)		
A61K 38/17	(2006.01)		
A61K 9/00	(2006.01)		
C12N 7/00	(2006.01)		
C12Q 1/70	(2006.01)		
C12N 15/113	(2010.01)		
C12N 15/115	(2010.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2012** **E 17168534 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2020** **EP 3254703**

54 Título: **Viriones de virus adenoasociados con cápside variante y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

22.04.2011 US 201161478355 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.11.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 791 499 T3

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

DESCRIPCIÓN

Viriones de virus adenoasociados con cápside variante y métodos de uso de los mismos

5 **Antecedentes**

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

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

Bibliografía

Publicación de Patente americana N° 2005/0053922; Publicación de Patente americana N° 2009/0202490; Allocca y col. (2007) *J. Virol.* 81:11.372; Boucas y col. (2009) *J. Gene Med.* 11:1.103

Sumario de la invención

La presente divulgación proporciona viriones de virus adenoasociado (VAA) con una proteína de la cápside alterada, en donde los viriones del VAA muestran una mayor infectividad de una célula retiniana, cuando se administran mediante inyección intravítrea, en comparación con el VAA natural (WT, del inglés *wild-type*). La presente divulgación proporciona además métodos para suministrar un producto génico a una célula retiniana de un individuo, y métodos para tratar enfermedades oculares

Un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr), o una composición farmacéutica que comprende dicho virión, para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad ocular en un individuo que lo necesite, en donde la composición comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable, y en donde el virión de virus adenoasociado recombinante comprende:

- a) una proteína de la cápside de VAA variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en donde la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), STGKVPN (SEQ ID NO:60), LAKDITTTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LAAVDTTKFA (SEQ ID NO:63) y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64); y
- b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico;

en donde la proteína de la cápside variante infecta una célula retiniana.

De acuerdo con la invención, se proporciona un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr) que comprende:

- a) una proteína de la cápside de VAA variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en donde la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), LAKDITTTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LAAVDTTKFA (SEQ ID NO:63) y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64), y en donde la proteína de la cápside variante confiere infectividad de una célula retiniana; y
- b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico.

De acuerdo con la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- a) un virión de virus adenoasociado recombinante de la invención; y
- b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con la invención, se proporciona ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside de virus adenoasociado (VAA) variante de la invención.

De acuerdo con la invención se proporciona una célula hospedadora aislada, genéticamente modificada, que comprende el ácido nucleico de la invención.

Breve descripción de los dibujos

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

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

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

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

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

La Figura 6 proporciona secuencias de aminoácidos que corresponden a los aminoácidos 570 a 610 de VAA2 (Figura 5) de la proteína VP1 de la cápside de VAA de diversos serotipos de VAA.

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

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

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

La Figura 10 proporciona una secuencia de aminoácidos de retinosquisina.

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

La Figura 12 proporciona una secuencia de aminoácidos de EPR65.

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

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

La Figura 15 proporciona una secuencia de aminoácidos de periferina.

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

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

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

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

Definiciones

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

“VAA” es una abreviación para virus adenoasociado, y se puede usar para referirse al propio virus o a sus derivados.

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

Las secuencias genómicas de diversos serotipos de VAA, así como las secuencias de las repeticiones terminales (RT) nativas, proteínas Rep, y subunidades de la cápside son conocidas en la técnica. Tales secuencias se pueden encontrar en la bibliografía o en bases de datos públicas tales como GenBank. Véase, por ejemplo, los Números de acceso GenBank NC_002077 (VAA-1), AF063497 (VAA-1), NC_001401 (VAA-2), AF043303 (VAA-2), NC_001729 (VAA-3), NC_001829 (VAA-4), U89790 (VAA-4), NC_006152 (VAA-5), AF513851 (VAA-7), AF513852 (VAA-8), y

NC_006261 (VAA-8); que enseñan secuencias de ácidos nucleicos y de aminoácidos de VAA. Véase también, por ejemplo, Srivistava y col. (1983) *J. Virology* 45:555; Chiorini y col. (1998) *J. Virology* 71:6.823; Chiorini y col. (1999) *J. Virology* 73:1.309; Bantel-Schaal y col. (1999) *J. Virology* 73:939; Xiao y col. (1999) *J. Virology* 73:3.994; Muramatsu y col. (1996) *Virology* 221:208; Shade y col., (1986) *J. Virol.* 58:921; Gao y col. (2002) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 99:1.1854; Moris y col. (2004) *Virology* 33:375-383; publicaciones de patente internacional WO 00/28061, WO 99/61601, WO 98/11244; y documento de Patente americana N° 6.156.303.

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

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

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

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

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

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

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

Un virus “competente para replicación” (por ejemplo, VAA competente para replicación) se refiere a un virus fenotípicamente de tipo natural que es infeccioso, y también es capaz de ser replicado en una célula infectada (es decir, en presencia de un virus auxiliar o funciones de virus auxiliar). En el caso de VAA, la competencia de replicación generalmente requiere la presencia de genes funcionales de empaquetamiento de VAA. En general, los vectores de VAAr descritos en el presente documento son incompetentes para replicación en células mamíferas (especialmente en células humanas) debido a la falta de uno o más genes de empaquetamiento de VAA. Generalmente, tales vectores de VAAr carecen de alguna secuencia de gen de empaquetamiento de VAA para minimizar la posibilidad de que el VAA competente para replicación se genere por recombinación entre genes de empaquetamiento de VAA y un vector de VAAr entrante. En muchas realizaciones, las preparaciones del vector de VAAr descritas en el presente documento son aquellas que contienen pocos si algún VAA competente para replicación (VAAcr, también se refiere como RCA) (por ejemplo, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10²

partículas de VAAr, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10^4 partículas de VAAr, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10^8 partículas de VAAr, menos de aproximadamente 1 VAAcr por 10^{12} partículas de VAAr, o no VAAcr).

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

Las reacciones de hibridación del ácido nucleico se pueden realizar bajo condiciones de diferente "rigor". Condiciones que incrementan el rigor de una reacción de hibridación se conocen ampliamente y están publicadas en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y col. "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", 2º Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989. Por ejemplo, véase la página 7.52 de Sambrook y col. Ejemplos de condiciones relevantes incluyen (en orden de rigor creciente): temperaturas de incubación de 25 °C, 37 °C, 50 °C y 68 °C; concentraciones tampón de 10xSSC, 6xSSC, 1xSSC, 0,1xSSC (donde 1xSSC es NaCl 0,15 M y tampón citrato 15 mM) y sus equivalentes usando otro sistemas tampón; concentraciones de formamida de 0 %, 25 %, 50 %, y 75 %; tiempos de incubación desde 5 minutos a 24 horas; 1, 2 o más etapas de lavado; tiempos de incubación de lavado de 1, 2 o 15 minutos; y soluciones de lavado de 6xSSC, 1xSSC, 0,1xSSC, o agua desionizada. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosa es la hibridación a 50 °C o más y 0,1xSSC (cloruro de sodio 15 mM/citrato de sodio 1,5 mM). Otro ejemplo de condiciones de hibridación rigurosa es incubación durante la noche a 42 °C en una solución: formamida al 50 %; 1xSSC (NaCl 150 mM, citrato de sodio 15 mM), fosfato de sodio 50 mM (pH 7,6), 5x solución de Denhardt, sulfato de dextrano al 10 %, y 20 µg/ml de ADN de esperma de salmón partido desnaturizado, seguido de lavado de los filtros en 0,1xSSC a aproximadamente 65 °C. Como otro ejemplo, las condiciones de hibridación rigurosa comprenden: hibridación previa durante 8 horas durante la noche a 65 °C en una solución que comprende 6x citrato de potencia sencilla (SSC) (1xSSC es NaCl 0,15 M, citrato de Na 0,015 M; pH 7,0), 5x solución de Denhardt, pirofosfato de sodio al 0,05 % y 100 µg/ml de ADN de esperma de arenque; hibridación durante 18 a 20 horas a 65 °C en una solución que contiene 6xSSC, 1x solución de Denhardt, 100 µg/ml de ARNt de levadura y pirofosfato de sodio al 0,05 %; y lavado de los filtros a 65 °C durante 1 h en una solución que contiene 0,2xSSC y SDS al 0,1 % (dodecil sulfato de sodio).

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

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

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

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

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

De interés es el programa BestFit que usa el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (*Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981)) para determinar la identidad de secuencia. La penalización de la generación de hueco generalmente oscilará desde 1 a 5, normalmente 2 a 4 y en muchas realizaciones será 3. La penalización de extensión de hueco generalmente oscilará desde aproximadamente 0,01 a 0,20 y en muchos ejemplos será de

0,10. El programa tiene parámetros por defecto determinados por las secuencias introducidas a comparar. Preferentemente, la identidad de secuencia se determina usando los parámetros por defecto determinados por el programa. Este programa está disponible también en el paquete de Genetics Computing Group (GCG), de Madison, Wisconsin, USA.

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

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

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

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

Un "ARN interferente corto" o "interferente pequeño" o ARNic es un ARN bicatenario de nucleótidos que se dirige a un gen de interés (un "gen diana"). Un "ARN bicatenario" se refiere a la estructura formada por el emparejamiento complementario entre dos regiones de una molécula de ARN. ARNic está "dirigido" a un gen en el que la secuencia de nucleótidos de la parte bicatenaria del ARNic es complementaria a una secuencia de nucleótidos del gen dirigido. En algunas realizaciones, la longitud de la doble cadena de ARNic es menor de 30 nucleótidos. En algunas realizaciones, la doble cadena puede ser de 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11 o 10 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la longitud de la doble cadena es de 19 a 25 nucleótidos de longitud. La parte de ARN bicatenario del ARNic puede ser parte de una estructura horquilla. Además de la parte bicatenaria, la estructura horquilla puede contener una parte bucle colocada entre las dos secuencias que forman la doble cadena. El bucle puede variar en longitud. En algunas realizaciones el bucle es de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 13 nucleótidos de longitud. La estructura horquilla también puede contener partes salientes 3' o 5'. En algunas realizaciones, el saliente es un saliente 3' o 5' de 0, 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos de longitud.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cuando se proporciona un intervalo, se entiende que cada valor intermedio, al decimal de la unidad del límite inferior

a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor señalado o intermedio en ese intervalo señalado, está incluido dentro de la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos independientemente en los intervalos más pequeños, y también están incluidos dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente

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

Se debe indicar que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones anexas, las formas del singular “un”, “una” y “el”, “la” incluyen referentes del plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a “un virión de VAA recombinante” incluye una pluralidad de tales viriones y la referencia a “la célula fotorreceptora” incluye referencia a una o más células fotorreceptoras y equivalentes de la misma conocidos por los expertos en la técnica, etc.

Descripción detallada

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

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

POLIPÉPTIDOS DE CÁPSIDE DE VAA VARIANTE

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

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

En algunos casos, desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos están insertados en un sitio de inserción en el bucle GH o bucle IV de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental. Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 587 a 588 de VAA2, o las correspondientes posiciones de la subunidad de la cápside de otro serotipo de VAA. Se debería indicar que el sitio de inserción 587/588 se basa en una proteína de la cápside de VAA2. Desde aproximadamente 5 aminoácidos a aproximadamente 11 aminoácidos pueden estar insertados en un sitio correspondiente en un serotipo de VAA distinto de VAA2 (por ejemplo, VAA8, VAA9, etc.). Los expertos en la técnica sabrán, basándose en una comparación de las secuencias de aminoácidos de proteínas de la cápside de diversos serotipos de VAA, donde un

sitio de inserción “correspondiente a los aminoácidos 587 a 588 de VAA2” sería una proteína de la cápside de cualquier serotipo de VAA dado. Las secuencias que corresponden a los aminoácidos 570 a 611 de la proteína de la cápside VP1 de VAA2 (véase Figura 5) en diversos serotipos de VAA se muestran en la Figura 6. Véase, por ejemplo, N° de Acceso de GenBank NP_049542 para VAA1; N° de Acceso de GenBank AAD13756 para VAA5; N° de Acceso de GenBank AAB95459 para VAA6; N° de Acceso de GenBank YP_077178 para VAA7; N° de Acceso de GenBank YP_077180 para VAA8; N° de Acceso de GenBank AAS99264 para VAA9 y N° de Acceso de GenBank AAT46337 para VAA10.

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

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

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

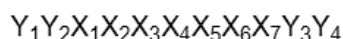
En algunas realizaciones, una proteína de la cápside objeto incluye un bucle GH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o 100%, de identidad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

Péptidos de inserción

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

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

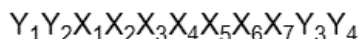
Por ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el sitio de inserción es de Fórmula I:



donde:

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

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



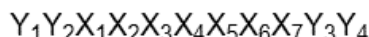
donde:

5

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

10

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



15

donde:

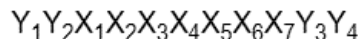
cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, se selecciona de Leu y Asn;
 X_2 , si está presente, se selecciona de Gly y Glu;
 X_3 se selecciona de Glu y Thr;
 X_4 se selecciona de Thr y Ile;
 X_5 es Thr;
 X_6 es Arg;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

20

25

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

30



donde:

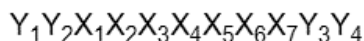
cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, es Lys;
 X_2 se selecciona de Ala y Asp;
 X_3 se selecciona de Gly y Pro;
 X_4 se selecciona de Gln y Lys;
 X_5 se selecciona de Thr y Ala;
 X_6 se selecciona de Asn y Thr;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

35

40

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

45



donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Leu, Asn, Arg, Ala, Ser y Lys;
 X_2 es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Gly, Glu, Ala, Val, Thr y Asp;
 X_3 es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Glu, Thr, Gly, Asp o Pro;
 X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gly, Lys, Asp y Gln;
 X_5 es un aminoácido polar, un alcohol (un aminoácido que tiene un grupo hidroxilo libre), o un aminoácido hidrófobo; o se selecciona de Thr, Ser, Val y Ala;
 X_6 es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Arg, Val, Lys, Pro, Thr y Asn; y
 X_7 , si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de

50

55

60

Pro, Gly, Phe, Asn y Arg.

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

En algunos casos, el péptido de inserción tiene desde 1 a 4 aminoácidos espaciadores (Y_1 - Y_4) en el terminal amino y/o en el terminal carboxilo de una cualquiera de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60). Los aminoácidos espaciadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, leucina, alanina, glicina y serina.

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

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

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

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

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

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

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

VIRIÓN DE VAA RECOMBINANTE

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

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

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

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

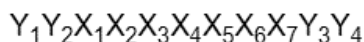
Por ejemplo, el sitio de inserción puede estar entre los aminoácidos 587 y 588 de VAA2, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA1 entre los aminoácidos 575 y 576 de VAA5, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA6, entre los aminoácidos 589 y 590 de VAA7, entre los aminoácidos 590 y 591 de VAA8, entre los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

Péptidos de inserción

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

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

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



5

donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser, y Thr;

X_1 , si está presente, se selecciona de Leu, Asn, y Lys;

10 X_2 se selecciona de Gly, Glu, Ala, y Asp;

X_3 se selecciona de Glu, Thr, Gly, y Pro;

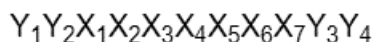
X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gln, y Lys;

X_5 se selecciona de Thr y Ala;

X_6 se selecciona de Arg, Asn, y Thr;

15 X_7 , si está presente, se selecciona de Pro y Asn.

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



20

donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;

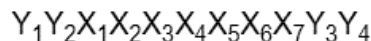
25 cada uno de X_1 - X_4 es cualquier aminoácido;

X_5 es Thr;

X_6 es Arg; y

X_7 es Pro.

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



35

donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;

X_1 , si está presente, se selecciona de Leu y Asn;

X_2 , si está presente, se selecciona de Gly y Glu;

40 X_3 se selecciona de Glu y Thr;

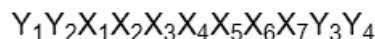
X_4 se selecciona de Thr y Ile;

X_5 es Thr;

X_6 es Arg; y

45 X_7 es Pro.

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



50

donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;

X_1 , si está presente, es Lys;

55 X_2 se selecciona de Ala y Asp;

X_3 se selecciona de Gly y Pro;

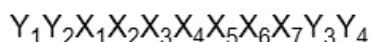
X_4 se selecciona de Gln y Lys;

X_5 se selecciona de Thr y Ala;

X_6 se selecciona de Asn y Thr;

60 X_7 , si está presente, es Asn.

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



donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Leu, Asn, Arg, Ala, Ser y Lys;
 X_2 es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Gly, Glu, Ala, Val, Thr y Asp;
 X_3 es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Glu, Thr, Gly, Asp o Pro;
 X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gly, Lys, Asp y Gln;
 X_5 es un aminoácido polar, un alcohol (un aminoácido que tiene un grupo hidroxilo libre), o un aminoácido hidrófobo; o se selecciona de Thr, Ser, Val y Ala;
 X_6 es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Arg, Val, Lys, Pro, Thr y Asn; y
 X_7 , si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Pro, Gly, Phe, Asn y Arg.

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

En algunos casos, el péptido de inserción tiene desde 1 a 4 aminoácidos espaciadores (Y_1 - Y_4) en el terminal amino y/o en el terminal carboxilo de una cualquiera de LGETTRP (SEQ ID NO:13), NETITRP (SEQ ID NO:14), KAGQANN (SEQ ID NO:15), KDPKTTN (SEQ ID NO:16), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), y STGKVPN (SEQ ID NO:60). Aminoácidos espaciadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, leucina, alanina, glicina y serina.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula de Müller, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula de Müller por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula bipolar, en comparación con la infectividad de la célula bipolar por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula bipolar, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula bipolar por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula amacrina, en comparación con la infectividad de la célula amacrina por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula amacrina, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula amacrina por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula horizontal, en comparación con la infectividad de la célula horizontal por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto presenta infectividad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de una célula horizontal, cuando se administra por inyección intravítrea, en comparación con la infectividad de la célula horizontal por un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, cuando se administra por inyección intravítrea.
- En algunos casos, un virión de VAAr objeto presenta capacidad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, de atravesar la membrana limitante interna (MLI), en comparación con la capacidad de un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental de atravesar la MLI.
- En algunos casos, un virión de VAAr objeto presenta capacidad incrementada al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, o más de 50 veces, cuando se administra por inyección intravítrea, de atravesar la membrana limitante interna (MLI), en comparación con la capacidad de un virión de VAA que comprende la correspondiente proteína de la cápside de VAA parental de atravesar la MLI cuando se administra por inyección intravítrea.
- Un virión de VAAr objeto puede cruzar la MLI, y también puede atravesar capas celulares, incluyendo células de Müller, células amacrinas, etc., para alcanzar las células fotorreceptoras y/o células de EPR. Por ejemplo, un virión de VAAr objeto, cuando se administra por inyección intravítrea, puede atravesar la MLI, y también puede atravesar capas celulares, incluyendo las células de Müller, células amacrinas, etc., para alcanzar las células fotorreceptoras o células de EPR.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto infecta selectivamente una célula retiniana, por ejemplo, un virión de VAAr objeto infecta una célula retiniana con 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más de 50 veces más de especificidad que una célula no retiniana, por ejemplo, una célula fuera del ojo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto infecta selectivamente una célula retiniana, por ejemplo, un virión de VAAr infecta una célula fotorreceptora con 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más de 50 veces más de especificidad que una célula no retiniana, por ejemplo, una célula fuera del ojo.
- En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto infecta selectivamente una célula fotorreceptora, por ejemplo, un virión de VAAr objeto infecta una célula fotorreceptora con 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, o más

de 50 veces más de especificidad que una célula no fotorreceptora presente en el ojo, por ejemplo, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, etc.

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

Productos génicos

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

ARN interferente

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

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

Aptámeros

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

Polipéptidos

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

Opsinas sensibles a la luz adecuadas incluyen, por ejemplo, una opsina sensible a la luz como se describe en la Publicación de Patente americana N° 2007/0261127 (por ejemplo, ChR2; Chop2); Publicación de Patente americana

Nº 2001/0086421; Publicación de Patente americana Nº 2010/0015095; y Diester y col. (2011) *Nat. Neurosci.* 14:387.

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

Polipéptidos adecuados también incluyen: CHM (coroideremia (proteína 1 acompañante Rab)), un polipéptido que, cuando es defectuoso o está perdido, causa coroideremia (véase, por ejemplo, Donnelly y col. (1994) *Hum. Mol. Genet.* 3:1.017; y van Bokhoven y col. (1994) *Hum. Mol. Genet.* 3:1.041); y homólogo de Crumbs 1 (CRB1), un polipéptido que, cuando es defectuoso o está perdido, causa amaurosis congénita de Leber y retinitis pigmentosa (véase, por ejemplo, den Hollander y col. (1999) *Nat. Genet.* 23:217; y Nº de Acceso de GenBank CAM23328).

Polipéptidos adecuados también incluyen polipéptidos que, cuando son defectuosos o están perdidos, conducen a acromatopsia, donde tales polipéptidos incluyen, por ejemplo, subunidad alfa del canal regulado de GMPc del cono fotorreceptor (CNGA3) (véase, por ejemplo, Nº de acceso de GenBank NP_001289; y Booij y col. (2011) *Ophthalmology* 118:160-167); subunidad beta del canal catiónico regulado de GMPc del cono fotorreceptor (CNGB3) (véase, por ejemplo, Kohl y col. (2005) *Eur. J. Hum. Genet.* 13(3):302); proteína de unión a nucleótido de guanina (G proteína), polipéptido 2 de actividad de transducción alfa (GNAT2) (ACHM4); y ACHM5; y polipéptidos que, cuando son defectuosos o deficientes, conducen a diversas formas de daltonismo (por ejemplo, L-opsina, M-opsina y S-opsina). Véase, Mancuso y col. (2009) *Nature* 461(7.265):784-787.

Endonucleasas específicas de sitio

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

Además de la desactivación de un alelo defectuoso, también se puede usar una endonucleasa específica a sitio para estimular la recombinación homóloga con un ADN donante que codifica una copia funcional de la proteína codificada por el alelo defectuoso. Por tanto, por ejemplo, un virión de VAAr objeto tanto se puede usar para administrar una endonucleasa específica a sitio que desactiva un alelo defectuoso, como se puede usar para administrar una copia funcional del alelo defectuoso, dando como resultado la reparación del alelo defectuoso, proporcionando de ese modo la producción de una proteína retiniana funcional (por ejemplo, retinosquisina funcional, EPR65 funcional, periferina funcional, etc.). Véase, por ejemplo, Li y col. (2011) *Nature* 475:217. En algunas realizaciones, un virión de VAAr objeto comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una endonucleasa específica a sitio; y una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una copia funcional de un alelo defectuoso, donde la copia funcional codifica una proteína retiniana funcional. Las proteínas retinianas funcionales incluyen, por ejemplo, retinosquisina, EPR65, proteína 1 que interactúa con el regulador de GTPasa en la retinitis pigmentosa (RGPR), periferina, periferina-2 y similares.

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

Secuencias reguladoras

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

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

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

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

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

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

La presente divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad de la retina, comprendiendo el método la administración a un individuo que lo necesite de una cantidad eficaz de un virión de VAAr objeto como se describió anteriormente. Un virión de VAAr objeto se puede administrar por inyección intraocular, por inyección intravítrea, o por cualquier otro modo conveniente o vía de administración. Otros modos convenientes o vías de administración incluyen, por ejemplo, intravenoso, intranasal, etc.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" caerá en un intervalo relativamente amplio que se puede determinar a través de la experimentación y/o los ensayos clínicos. Por ejemplo, por inyección *in vivo*, es decir, inyección directamente

en el ojo, una dosis terapéuticamente eficaz estará en el orden de desde aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{15} de los viriones de VAAr, por ejemplo, desde aproximadamente 10^8 a 10^{12} viriones de VAAr. Para la transducción *in vitro*, una cantidad eficaz de viriones de VAAr a administrar a células estará en el orden de desde aproximadamente 10^8 a aproximadamente 10^{13} de los viriones de VAAr. Otras dosis eficaces fácilmente pueden ser establecidas por un experto en la técnica a través de pruebas rutinarias que establecen curvas de respuesta de dosis.

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

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

ÁCIDOS NUCLEICOS Y CÉLULAS HOSPEDADORAS

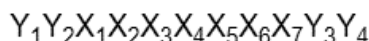
La presente divulgación proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside de virus adenoasociado (VAA) variante objeto como se describió anteriormente, donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de desde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

Péptidos de inserción

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

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

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



donde:

cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser, y Thr;

X_1 , si está presente, se selecciona de Leu, Asn, y Lys;

X_2 se selecciona de Gly, Glu, Ala, y Asp;

X_3 se selecciona de Glu, Thr, Gly, y Pro;

X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gln, y Lys;

X_5 se selecciona de Thr y Ala;

X_6 se selecciona de Arg, Asn, y Thr;

X_7 , si está presente, se selecciona de Pro y Asn.

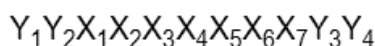
Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIa:



donde:

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

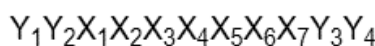
- 15 Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula IIb:



20 donde:

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

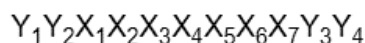
- 30 Como otro ejemplo, un péptido de inserción puede ser un péptido de desde 5 a 11 aminoácidos de longitud, donde el péptido de inserción es de Fórmula III:



35 donde:

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

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



donde:

- 55 cada uno de Y_1 - Y_4 , si está presente, se selecciona independientemente de Ala, Leu, Gly, Ser y Thr;
 X_1 , si está presente, es un aminoácido positivamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Leu, Asn, Arg, Ala, Ser y Lys;
 X_2 es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Gly, Glu, Ala, Val, Thr y Asp;
 X_3 es un aminoácido negativamente cargado o un aminoácido no cargado; o se selecciona de Glu, Thr, Gly, Asp o Pro;
 X_4 se selecciona de Thr, Ile, Gly, Lys, Asp y Gln;
 X_5 es un aminoácido polar, un alcohol (un aminoácido que tiene un grupo hidroxilo libre), o un aminoácido

hidrófobo; o se selecciona de Thr, Ser, Val y Ala;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

En algunas realizaciones, una célula hospedadora objeto genéticamente modificada incluye, además de un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos codificante de una proteína de la cápside de VAA variante, como se describió anteriormente, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos codificante de una

o más proteínas rep de VAA. En otras realizaciones, una célula hospedadora objeto comprende además un vector de VAAr. Un virión de VAAr se puede generar usando una célula hospedadora objeto. Métodos de generación de un virión de VAAr están descritos en, por ejemplo, la Publicación de Patente americana N° 2005/0053922 y Publicación de Patente americana 2009/0202490.

Ejemplos

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

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

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

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

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

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

Tabla 1

Clon	Frecuencia aproximada (%)	Frecuencia
$\sim^{588}$ LGETTRP $\sim$ (SEQ ID NO:13)	64	31
$\sim^{588}$ NETITRP $\sim$ (SEQ ID NO:14)	12	5
$\sim^{588}$ KAGQANN $\sim$ (SEQ ID NO:15)	6	3
$\sim^{588}$ KDPKTTN $\sim$ (SEQ ID NO:16)	4	2
$\sim^{588}$ KDPTTTR $\sim$ (SEQ ID NO:57)		2
$\sim^{588}$ RAGGSVG (SEQ ID NO:58)		1
$\sim^{588}$ AVDTTKF (SEQ ID NO:59)		1
$\sim^{588}$ STGKVPN (SEQ ID NO:60)		1

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

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

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

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

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

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

Figura 2. La variante 7M8 de VAA2 (derecha) demuestra mayores niveles de transducción de fotorreceptor intravítrea en relación con VAA2 (izquierda). El microscopio confocal de secciones de retina transversales tres semanas después de la inyección intravítrea de 2 µl de 1x10¹² gv/ml de 7M8 de VAA2 y scCAG GFP de VAA2 en ratones adultos. Las flechas rojas (arriba) indican el núcleo fotorreceptor y la flecha azul (arriba) indica segmentos exteriores de fotorreceptor.

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

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

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

Ejemplo 2: Tratamiento de retinosquiasis

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ojo de un macaco. Los datos se muestran en la Figura 18.

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

REFERENCIAS

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

LISTADO DE SECUENCIAS

- 45 <110> The Regents of the University of California
- <120> Viriones de virus adenoasociado con cápside variante y métodos de uso de los mismos
- 50 <130> AHB/FP7270689
- <140> EP
- <141> 20-04-2012
- 55 <150> EP12774323.5
- <151> 20-04-2012
- <150> PCT/US2012/034413
- <151> 20-04-2012
- 60 <150> 61/478.355
- <151> 22-04-2011
- <160> 64
- 65 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 733

<212> PRT

5 <213> Virus adenoasociado-2

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175

Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro
 180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly
 195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
 210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
 260 265 270

Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
 275 280 285

Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
 290 295 300

Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
 305 310 315 320

Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
 325 330 335

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
 340 345 350

Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
 355 360 365

Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
 370 375 380

Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
 385 390 395 400

Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
 405 410 415

Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
 420 425 430

Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr
 435 440 445

Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln
 450 455 460

Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly
 465 470 475 480

Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn
 485 490 495

Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
 500 505 510

Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
 515 520 525

Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
 530 535 540

Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr
 545 550 555 560

Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
 565 570 575

Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr
 580 585 590

Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
 595 600 605

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
 610 615 620

Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys

ES 2 791 499 T3

625	630							635							640	
His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	Asn	
				645					650					655		
Pro	Ser	Thr	Thr	Phe	Ser	Ala	Ala	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr	Gln	
			660					665					670			
Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln	Lys	
		675					680					685				
Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Ile	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn	Tyr	
	690					695					700					
Asn	Lys	Ser	Val	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	Thr	Asn	Gly	Val	Tyr	
705					710					715					720	
Ser	Glu	Pro	Arg	Pro	Ile	Gly	Thr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Arg				
				725					730							

<210> 2
<211> 42
<212> PRT
<213> Virus adenoasociado-2

<400> 2

```

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

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

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

```

<210> 3
<211> 42
<212> PRT
<213> Virus adenoasociado-2

<400> 3

ES 2 791 499 T3

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

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

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

<210> 4

<211> 42

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-5

<400> 4

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

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

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

10

<210> 5

<211> 42

<212> PRT

15 <213> Virus adenoasociado-VAA-6

<400> 5

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

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

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

20

<210> 6

<211> 42

<212> PRT

25 <213> Virus adenoasociado-VAA-

<400> 6

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

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

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

<210> 7

<211> 42

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-VAA-8

<400> 7

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

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

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

10

<210> 8

<211> 42

<212> PRT

15 <213> Virus adenoasociado-VAA-9

<400> 8

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

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

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

20

<210> 9

<211> 42

<212> PRT

<213> Virus adenoasociado-VAA-10

25

<400> 9

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

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

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

<210> 10

<211> 224

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 10

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

10

ES 2 791 499 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 11

<211> 247

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 11

Met Thr Ile Leu Phe Leu Thr Met Val Ile Ser Tyr Phe Gly Cys Met
1 5 10 15

10

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

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

<400> 12

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

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

485

490

495

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

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

Leu Phe Lys Lys Ser
530

<210> 13

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido sintético

<400> 13

Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro
1 5

15

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Péptido sintético

25 <400> 14

Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro
1 5

30 <210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35

<223> Péptido sintético

<400> 15

Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn
1 5

40

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5 <400> 16

Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn
1 5

<210> 17

10 <211> 27

<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>

15

<223> Oligonucleótido sintético

<400> 17

20 cgcaaucagu gaaugcuuau acauccg 27

<210> 18

<211> 5541

<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

30

<400> 18

ES 2 791 499 T3

agcttggatc caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta	60
actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta	120
ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgataaa atcctggttg ctgtctcttt	180
atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcaactgtg tttgctgacg	240
caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt	300
tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg ccttgcccg cgtggaacag	360
gggctcggct gttgggcact gacaattccg tgggtgtgtc ggggaagctg acgtcctttc	420
catggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc	480
cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct gctgcgggct ctgcggcctc	540
ttccgcgtct tcgagatctg cctcgactgt gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg	600
cccctcccc gtgccttctt tgacctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata	660
aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt	720
ggggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc aggcattgctg gggactcgag	780
ttaagggcga attcccgatt aggatcttcc tagagcatgg ctacgtagat aagtagcatg	840
gcgggttaat cattaactac aaggaacccc tagtgatgga gttggccact ccctctctgc	900
gcgctcgctc gctcactgag gccggggcgc caaaggtcgc ccgacgcccg ggctttgccc	960
gggcggcctc agtgagcgag cgagcgcgca gccttaatta acctaattca ctggccgctg	1020

ES 2 791 499 T3

ttttacaacg	togtgactgg	gaaaaccctg	gcgttaccca	acttaatcgc	cttgacagc	1080
atcccccttt	cgccagctgg	cgtaatagcg	aagaggcccc	caccgatcgc	ccttcccaac	1140
agttgcgcag	cctgaatggc	gaatgggacg	cgccctgtag	cggcgcatta	agcgcggggg	1200
gtgtggtggt	tacgcgcagc	gtgaccgcta	cacttgccag	cgccctagcg	cccgtcctt	1260
tcgctttctt	cccttccttt	ctcgccacgt	tcgcgggctt	tccccgtcaa	gctctaaatc	1320
gggggctccc	tttaggggtc	cgatttagtg	ctttacggca	cctcgacccc	aaaaaacttg	1380
attaggtgga	tggttcacgt	agtgggcat	cgccccgata	gacggttttt	cgccctttga	1440
cgctggagtt	cacgttcctc	aatagtggac	tcttgttcca	aactggaaca	acactcaacc	1500
ctatctcggt	ctattctttt	gatttataag	ggatttttcc	gatttcggcc	tattggttaa	1560
aaaatgagct	gatttaacaa	aaatttaacg	cgaattttta	caaaatatta	acgtttataa	1620
tttcaggtgg	catctttcgg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttgttta	tttttctaaa	1680
tacattcaaa	tatgtatccg	ctcatgagac	aataaccctg	ataaatgctt	caataatatt	1740
gaaaaaggaa	gagtatgagt	attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	ttttttgogg	1800
cattttgcct	tccgtttttt	gctcaccag	aaacgctggg	gaaagtaaaa	gatgctgaag	1860
atcagttggg	tgcacgagtg	ggttacatcg	aactggatct	caatagtggg	aagatccttg	1920
agagttttcg	ccccgaagaa	cgttttccaa	tgatgagcac	ttttaaggtt	ctgctatgtg	1980
gcgcggtatt	atcccgatt	gacgcggggc	aagagcaact	cggtcgccgc	atacactatt	2040
ctcagaatga	cttggttgag	tactcaccag	tcacagaaaa	gcattcttacg	gatggcatga	2100
cagtaagaga	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtga	taacactgcg	gccaacttac	2160
ttctgacaac	gatcgaggga	ccgaaggagc	taaccgcttt	tttgacacac	atgggggatc	2220
atgtaactcg	ccttgatcgt	tgggaaccgg	agctgaatga	agccatacca	aacgacgagc	2280
gtgacaccac	gatgcctgta	gtaatggtaa	caacggttgcg	caaactatta	actggcgaac	2340
tacttactct	agcttcccgg	caacaattaa	tagactggat	ggaggcggat	aaagttgcag	2400
gaccacttct	gcgctcggcc	cttcgggctg	gctggtttat	tgctgataaa	tctggagccg	2460
gtgagcgtgg	gtctcgcggt	atcattgcag	cactggggcc	agatggtaag	ccctcccgtg	2520
tcgtagttat	ctacacgacg	gggagtcagg	caactatgga	tgaacgaaat	agacagatcg	2580
ctgagatagg	tgcctcactg	attaagcatt	ggtaactgtc	agaccaagtt	tactcatata	2640
tacttttagat	tgattttaaaa	cttcattttt	aattttaaaag	gatctaggtg	aagatccttt	2700
ttgataatct	catgacccaa	atcccttaac	gtgagttttc	gttcactga	gcgtcagacc	2760
ccgtagaaaa	gatcaaagga	tcttcttgag	atcctttttt	tctgcgcgta	atctgctgct	2820
tgcaaacaaa	aaaaccaccg	ctaccagcgg	tggtttggtt	gccggatcaa	gagctaccaa	2880
ctctttttcc	gaaggtaact	ggcttcagca	gagcgcagat	accaaatact	gtccttctag	2940

tgtagccgta	gtagggccac	cacttcaaga	actctgtagc	accgcctaca	tacctcgctc	3000
tgctaatacct	gttaccagtg	gctgctgcc	gtggcgataa	gtcgtgtctt	accgggttgg	3060
actcaagacg	atagttaccg	gataaggcgc	agcggtcggg	ctgaacgggg	ggttcgtgca	3120
cacagcccag	cttgagcgga	acgacctaca	ccgaactgag	atacctacag	cgtgagctat	3180
gagaaagcgc	cacgcttccc	gaaggagaaa	aggcggacag	gtatccggta	agcggcaggg	3240
tcggaacagg	agagcgcacg	agggagcttc	cagggggaaa	cgcctggtat	ctttatagtc	3300
ctgtcggggt	tcgccacctc	tgacttgagc	gtcgattttt	gtgatgctcg	tcaggggggc	3360
ggagcctatg	gaaaaacgcc	agcaacgcgg	cctttttacg	gttcctggcc	ttttgctgcg	3420
gttttgctca	catgttcttt	cctgcgttat	cccctgattc	tgtggataac	cgtattaccg	3480
cctttgagtg	agctgatacc	gctcgccgca	gccgaacgac	cgagcgcagc	gagtcagtga	3540
gcgaggaagc	ggaagagcgc	ccaatacgca	aaccgcctct	ccccgcgcgt	tggccgattc	3600
attaatgcag	ctggcacgac	aggtttcccg	actggaaagc	gggcagtgag	cgcaacgcaa	3660
ttaatgtgag	ttagctcact	cattagggac	ccaggcttt	acactttatg	cttcggctc	3720
gtatgttggtg	tggaattgtg	agcggataac	aatttcacac	aggaaacagc	tatgaccatg	3780
attacgccag	atttaattaa	ggctgcgcgc	tcgctcgctc	actgaggccg	cccgggcaaa	3840
gcccgggcgt	cgggcgacct	ttggtcgccc	ggcctcagtg	agcgcgcgag	cgcgcagaga	3900
gggagtggcc	aactccatca	ctaggggttc	cttgtagtta	atgattaacc	cgccatgcta	3960
cttatctacg	tagccatgct	ctaggaagat	cggaattcgc	ccttaagcta	gcagatcttc	4020
cccacctagc	cacctggcaa	actgctcctt	ctctcaaagg	cccaaaccatg	gcctcccaga	4080
ctgcaacccc	caggcagtc	ggccctgtct	ccacaacctc	acagccaccc	tggacggaat	4140
ctgcttcttc	ccacatttga	gtcctcctca	gccctgagc	tcctctgggc	agggctgttt	4200
ctttccatct	ttgtattccc	aggggcctgc	aaataaatgt	ttaatgaacg	aacaagagag	4260
tgaattccaa	ttccatgcaa	caaggattgg	gctcctgggc	cctaggctat	gtgtctggca	4320
ccagaaacgg	aagctgcag	ttgcagcccc	tgccctcatg	gagctcctcc	tgtcagagga	4380
gtgtggggac	tggatgactc	cagaggtaac	ttgtggggga	acgaacaggt	aaggggctgt	4440
gtgacgagat	gagagactgg	gagaataaac	cagaaagtct	ctagctgtcc	agaggacata	4500
gcacagaggc	ccatggtccc	tatttcaaac	ccaggccacc	agactgagct	gggaccttgg	4560
gacagacaag	tcatgcagaa	gttaggggac	cttctcctcc	cttttctctgg	atggatcctg	4620
agtaccttct	cctcctgac	ctcaggcttc	ctcctagtgt	caccttggcc	cctcttagaa	4680
gccaattagg	ccctcagttt	ctgcagcggg	gattaatatg	attatgaaca	cccccaatct	4740
cccagatgct	gattcagcca	ggagcttagg	agggggaggt	cactttataa	gggtctgggg	4800

```

gggtcagaac ccagagtcac cccctgaatt ctgcagatat ccatcacact ggcggccgcg      4860
ccaccatgtc acgcaagata gaaggctttt tgttattact tctctttggc tatgaagcca      4920
cattgggatt atcgtctacc gaggatgaag gcgaggaccc ctggtaccaa aaagcatgca      4980
agtgcgattg ccaaggagga cccaatgctc tgtggctctgc aggtgccacc tccttggact      5040
gtataccaga atgcccatac cacaagcctc tgggttttgc gtcaggggag gtcacaccgg      5100
accagatcac ctgctctaac cgggagcagt atgtgggctg gtattcttcg tggactgcaa      5160
acaaggcccg gctcaacagt caaggctttg ggtgtgcctg gctctccaag ttccaggaca      5220
gtagccagtg gttacagata gatctgaagg agatcaaagt gatttcaggg atcctcacc      5280
aggggcgctg tgacatcgat gagtggatga ccaagtacag cgtgcagtac aggaccgatg      5340
agcgctgaa ctggatttac tacaaggacc agactggaaa caaccgggtc ttctatggca      5400
actcggaccg cacctccacg gttcagaacc tgctgcgggc ccccatcatc tcccgcttca      5460
tccgcctcat cccgctgggc tggcacgtcc gcattgccat ccgcatggag ctgctggagt      5520
gcgtcagcaa gtgtgcctga a                                              5541

```

<210> 19

<211> 346

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 19

```

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

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

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

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

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

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

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

Phe Leu Val Ala Leu Cys Cys Phe Leu Leu Arg Gly Ser Leu Glu Asn

```

ES 2 791 499 T3

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

<210> 20

<211> 470

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

ES 2 791 499 T3

<400> 20

```

Met Ser His His Pro Ser Gly Leu Arg Ala Gly Phe Ser Ser Thr Ser
1          5          10          15

Tyr Arg Arg Thr Phe Gly Pro Pro Pro Ser Leu Ser Pro Gly Ala Phe
          20          25          30

Ser Tyr Ser Ser Ser Ser Arg Phe Ser Ser Ser Arg Leu Leu Gly Ser
          35          40          45

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

Ala Gly Ala Gly Ala Leu Leu Arg Leu Pro Ser Glu Arg Leu Asp Phe
65          70          75          80

Ser Met Ala Glu Ala Leu Asn Gln Glu Phe Leu Ala Thr Arg Ser Asn
          85          90          95

Glu Lys Gln Glu Leu Gln Glu Leu Asn Asp Arg Phe Ala Asn Phe Ile
          100          105          110

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

Leu Ser Gln Ala Arg Gly Gln Glu Pro Ala Arg Ala Asp Gln Leu Cys
          130          135          140

Gln Gln Glu Leu Arg Glu Leu Arg Arg Glu Leu Glu Leu Leu Gly Arg
145          150          155          160

Glu Arg Asp Arg Val Gln Val Glu Arg Asp Gly Leu Ala Glu Asp Leu
          165          170          175

Ala Ala Leu Lys Gln Arg Leu Glu Glu Glu Thr Arg Lys Arg Glu Asp
          180          185          190

Ala Glu His Asn Leu Val Leu Phe Arg Lys Asp Val Asp Asp Ala Thr
          195          200          205

Leu Ser Arg Leu Glu Leu Glu Arg Lys Ile Glu Ser Leu Met Asp Glu
          210          215          220

Ile Glu Phe Leu Lys Lys Leu His Glu Glu Glu Leu Arg Asp Leu Gln
225          230          235          240

```

ES 2 791 499 T3

Val Ser Val Glu Ser Gln Gln Val Gln Gln Val Glu Val Glu Ala Thr
245 250 255

Val Lys Pro Glu Leu Thr Ala Ala Leu Arg Asp Ile Arg Ala Gln Tyr
260 265 270

Glu Ser Ile Ala Ala Lys Asn Leu Gln Glu Ala Glu Glu Trp Tyr Lys
275 280 285

Ser Lys Tyr Ala Asp Leu Ser Asp Ala Ala Asn Arg Asn His Glu Ala
290 295 300

Leu Arg Gln Ala Lys Gln Glu Met Asn Glu Ser Arg Arg Gln Ile Gln
305 310 315 320

Ser Leu Thr Cys Glu Val Asp Gly Leu Arg Gly Thr Asn Glu Ala Leu
325 330 335

Leu Arg Gln Leu Arg Glu Leu Glu Glu Gln Phe Ala Leu Glu Ala Gly
340 345 350

Gly Tyr Gln Ala Gly Ala Ala Arg Leu Glu Glu Glu Leu Arg Gln Leu
355 360 365

Lys Glu Glu Met Ala Arg His Leu Arg Glu Tyr Gln Glu Leu Leu Asn
370 375 380

Val Lys Met Ala Leu Asp Ile Glu Ile Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Leu
385 390 395 400

Glu Gly Glu Glu Ser Arg Ile Ser Val Pro Val His Ser Phe Ala Ser
405 410 415

Leu Asn Ile Lys Thr Thr Val Pro Glu Val Glu Pro Pro Gln Asp Ser
420 425 430

His Ser Arg Lys Thr Val Leu Ile Lys Thr Ile Glu Thr Arg Asn Gly
435 440 445

Glu Val Val Thr Glu Ser Gln Lys Glu Gln Arg Ser Glu Leu Asp Lys
450 455 460

Ser Ser Ala His Ser Tyr
465 470

<210> 21
<211> 1286
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 21

```

Met Ser His Leu Val Asp Pro Thr Ser Gly Asp Leu Pro Val Arg Asp
1          5          10          15

Ile Asp Ala Ile Pro Leu Val Leu Pro Ala Ser Lys Gly Lys Asn Met
20          25          30

Lys Thr Gln Pro Pro Leu Ser Arg Met Asn Arg Glu Glu Leu Glu Asp
35          40          45

Ser Phe Phe Arg Leu Arg Glu Asp His Met Leu Val Lys Glu Leu Ser
50          55          60

Trp Lys Gln Gln Asp Glu Ile Lys Arg Leu Arg Thr Thr Leu Leu Arg
65          70          75          80

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

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

Leu Ser Met His Gln Arg Pro Gln Met His Arg Leu Gln Gly His Phe
115         120         125

His Cys Val Gly Pro Ala Ser Pro Arg Arg Ala Gln Pro Arg Val Gln
130         135         140

Val Gly His Arg Gln Leu His Thr Ala Gly Ala Pro Val Pro Glu Lys
145         150         155         160

Pro Lys Arg Gly Pro Arg Asp Arg Leu Ser Tyr Thr Ala Pro Pro Ser
165         170         175

Phe Lys Glu His Ala Thr Asn Glu Asn Arg Gly Glu Val Ala Ser Lys
180         185         190

Pro Ser Glu Leu Val Ser Gly Ser Asn Ser Ile Ile Ser Phe Ser Ser
195         200         205

Val Ile Ser Met Ala Lys Pro Ile Gly Leu Cys Met Pro Asn Ser Ala
210         215         220

His Ile Met Ala Ser Asn Thr Met Gln Val Glu Glu Pro Pro Lys Ser
225         230         235         240

```

Pro Glu Lys Met Trp Pro Lys Asp Glu Asn Phe Glu Gln Arg Ser Ser
245 250 255

Leu Glu Cys Ala Gln Lys Ala Ala Glu Leu Arg Ala Ser Ile Lys Glu
260 265 270

Lys Val Glu Leu Ile Arg Leu Lys Lys Leu Leu His Glu Arg Asn Ala
275 280 285

Ser Leu Val Met Thr Lys Ala Gln Leu Thr Glu Val Gln Glu Ala Tyr
290 295 300

Glu Thr Leu Leu Gln Lys Asn Gln Gly Ile Leu Ser Ala Ala His Glu
305 310 315 320

Ala Leu Leu Lys Gln Val Asn Glu Leu Arg Ala Glu Leu Lys Glu Glu
325 330 335

Ser Lys Lys Ala Val Ser Leu Lys Ser Gln Leu Glu Asp Val Ser Ile
340 345 350

Leu Gln Met Thr Leu Lys Glu Phe Gln Glu Arg Val Glu Asp Leu Glu
355 360 365

Lys Glu Arg Lys Leu Leu Asn Asp Asn Tyr Asp Lys Leu Leu Glu Ser
370 375 380

Met Leu Asp Ser Ser Asp Ser Ser Ser Gln Pro His Trp Ser Asn Glu
385 390 395 400

Leu Ile Ala Glu Gln Leu Gln Gln Gln Val Ser Gln Leu Gln Asp Gln
405 410 415

Leu Asp Ala Glu Leu Glu Asp Lys Arg Lys Val Leu Leu Glu Leu Ser
420 425 430

Arg Glu Lys Ala Gln Asn Glu Asp Leu Lys Leu Glu Val Thr Asn Ile
435 440 445

Leu Gln Lys His Lys Gln Glu Val Glu Leu Leu Gln Asn Ala Ala Thr
450 455 460

Ile Ser Gln Pro Pro Asp Arg Gln Ser Glu Pro Ala Thr His Pro Ala
465 470 475 480

Val Leu Gln Glu Asn Thr Gln Ile Glu Pro Ser Glu Pro Lys Asn Gln
485 490 495

Glu Glu Lys Lys Leu Ser Gln Val Leu Asn Glu Leu Gln Val Ser His
 500 505 510

Ala Glu Thr Thr Leu Glu Leu Glu Lys Thr Arg Asp Met Leu Ile Leu
 515 520 525

Gln Arg Lys Ile Asn Val Cys Tyr Gln Glu Glu Leu Glu Ala Met Met
 530 535 540

Thr Lys Ala Asp Asn Asp Asn Arg Asp His Lys Glu Lys Leu Glu Arg
 545 550 555 560

Leu Thr Arg Leu Leu Asp Leu Lys Asn Asn Arg Ile Lys Gln Leu Glu
 565 570 575

Gly Ile Leu Arg Ser His Asp Leu Pro Thr Ser Glu Gln Leu Lys Asp
 580 585 590

Val Ala Tyr Gly Thr Arg Pro Leu Ser Leu Cys Leu Glu Thr Leu Pro
 595 600 605

Ala His Gly Asp Glu Asp Lys Val Asp Ile Ser Leu Leu His Gln Gly
 610 615 620

Glu Asn Leu Phe Glu Leu His Ile His Gln Ala Phe Leu Thr Ser Ala
 625 630 635 640

Ala Leu Ala Gln Ala Gly Asp Thr Gln Pro Thr Thr Phe Cys Thr Tyr
 645 650 655

Ser Phe Tyr Asp Phe Glu Thr His Cys Thr Pro Leu Ser Val Gly Pro
 660 665 670

Gln Pro Leu Tyr Asp Phe Thr Ser Gln Tyr Val Met Glu Thr Asp Ser
 675 680 685

Leu Phe Leu His Tyr Leu Gln Glu Ala Ser Ala Arg Leu Asp Ile His
 690 695 700

Gln Ala Met Ala Ser Glu His Ser Thr Leu Ala Ala Gly Trp Ile Cys
 705 710 715 720

Phe Asp Arg Val Leu Glu Thr Val Glu Lys Val His Gly Leu Ala Thr
 725 730 735

Leu Ile Gly Ala Gly Gly Glu Glu Phe Gly Val Leu Glu Tyr Trp Met

ES 2 791 499 T3

740					745					750					
Arg	Leu	Arg	Phe	Pro	Ile	Lys	Pro	Ser	Leu	Gln	Ala	Cys	Asn	Lys	Arg
	755						760					765			
Lys	Lys	Ala	Gln	Val	Tyr	Leu	Ser	Thr	Asp	Val	Leu	Gly	Gly	Arg	Lys
	770					775					780				
Ala	Gln	Glu	Glu	Glu	Phe	Arg	Ser	Glu	Ser	Trp	Glu	Pro	Gln	Asn	Glu
785					790					795					800
Leu	Trp	Ile	Glu	Ile	Thr	Lys	Cys	Cys	Gly	Leu	Arg	Ser	Arg	Trp	Leu
				805					810					815	
Gly	Thr	Gln	Pro	Ser	Pro	Tyr	Ala	Val	Tyr	Arg	Phe	Phe	Thr	Phe	Ser
			820					825					830		
Asp	His	Asp	Thr	Ala	Ile	Ile	Pro	Ala	Ser	Asn	Asn	Pro	Tyr	Phe	Arg
		835					840					845			
Asp	Gln	Ala	Arg	Phe	Pro	Val	Leu	Val	Thr	Ser	Asp	Leu	Asp	His	Tyr
	850					855					860				
Leu	Arg	Arg	Glu	Ala	Leu	Ser	Ile	His	Val	Phe	Asp	Asp	Glu	Asp	Leu
865					870					875					880
Glu	Pro	Gly	Ser	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ala	Arg	Val	Pro	Leu	Leu	Pro	Leu
				885					890					895	
Ala	Lys	Asn	Glu	Ser	Ile	Lys	Gly	Asp	Phe	Asn	Leu	Thr	Asp	Pro	Ala
			900					905					910		
Glu	Lys	Pro	Asn	Gly	Ser	Ile	Gln	Val	Gln	Leu	Asp	Trp	Lys	Phe	Pro
		915					920					925			
Tyr	Ile	Pro	Pro	Glu	Ser	Phe	Leu	Lys	Pro	Glu	Ala	Gln	Thr	Lys	Gly
	930					935					940				
Lys	Asp	Thr	Lys	Asp	Ser	Ser	Lys	Ile	Ser	Ser	Glu	Glu	Glu	Lys	Ala
945					950					955					960
Ser	Phe	Pro	Ser	Gln	Asp	Gln	Met	Ala	Ser	Pro	Glu	Val	Pro	Ile	Glu
				965					970					975	
Ala	Gly	Gln	Tyr	Arg	Ser	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Glu	Arg
			980					985					990		

ES 2 791 499 T3

Lys Glu	Lys Glu His Gln Val Val	Ser Tyr Ser Arg Arg	Lys His Gly
995	1000	1005	
Lys Arg	Ile Gly Val Gln Gly	Lys Asn Arg Met Glu	Tyr Leu Ser
1010	1015	1020	
Leu Asn	Ile Leu Asn Gly Asn	Thr Pro Glu Gln Val	Asn Tyr Thr
1025	1030	1035	
Glu Trp	Lys Phe Ser Glu Thr	Asn Ser Phe Ile Gly	Asp Gly Phe
1040	1045	1050	
Lys Asn	Gln His Glu Glu Glu	Glu Met Thr Leu Ser	His Ser Ala
1055	1060	1065	
Leu Lys	Gln Lys Glu Pro Leu	His Pro Val Asn Asp	Lys Glu Ser
1070	1075	1080	
Ser Glu	Gln Gly Ser Glu Val	Ser Glu Ala Gln Thr	Thr Asp Ser
1085	1090	1095	
Asp Asp	Val Ile Val Pro Pro	Met Ser Gln Lys Tyr	Pro Lys Ala
1100	1105	1110	
Asp Ser	Glu Lys Met Cys Ile	Glu Ile Val Ser Leu	Ala Phe Tyr
1115	1120	1125	
Pro Glu	Ala Glu Val Met Ser	Asp Glu Asn Ile Lys	Gln Val Tyr
1130	1135	1140	
Val Glu	Tyr Lys Phe Tyr Asp	Leu Pro Leu Ser Glu	Thr Glu Thr
1145	1150	1155	
Pro Val	Ser Leu Arg Lys Pro	Arg Ala Gly Glu Glu	Ile His Phe
1160	1165	1170	
His Phe	Ser Lys Val Ile Asp	Leu Asp Pro Gln Glu	Gln Gln Gly
1175	1180	1185	
Arg Arg	Arg Phe Leu Phe Asp	Met Leu Asn Gly Gln	Asp Pro Asp
1190	1195	1200	
Gln Gly	His Leu Lys Phe Thr	Val Val Ser Asp Pro	Leu Asp Glu
1205	1210	1215	
Glu Lys	Lys Glu Cys Glu Glu	Val Gly Tyr Ala Tyr	Leu Gln Leu
1220	1225	1230	

ES 2 791 499 T3

Trp Gln Ile Leu Glu Ser Gly Arg Asp Ile Leu Glu Gln Glu Leu
1235 1240 1245

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

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

Glu Met Thr Glu Asp Leu Phe Ser
1280 1285

<210> 22

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-1

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 23

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-6

<400> 23

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 24

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-3

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 25

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-2

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 26

<211> 243

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-8

<400> 26

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Lys Asn

<210> 27

<211> 243

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 27

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

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

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

ES 2 791 499 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Lys Asn

<210> 28

<211> 241

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-rh8

<400> 28

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

10

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

Asn

<210> 29

<211> 243

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-10

<400> 29

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

Ile Lys Asn

ES 2 791 499 T3

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

5

<400> 30

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asn Thr Ala Ala Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala
          180          185          190

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

```

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

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

Lys Asn

<210> 31

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-9

<400> 31

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 32

<211> 239

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<400> 32

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 791 499 T3

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

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

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

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

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

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

<210> 33

<211> 240

5 <212> PRT

<213> Virus adenoasociado-5

<400> 33

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 34

<211> 250

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr

ES 2 791 499 T3

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

<210> 35

<211> 250

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 35

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala		
1	5	10
His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr		
20	25	30
Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn		
35	40	45
Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln		
50	55	60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 36

<211> 250

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 36

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

ES 2 791 499 T3

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

<210> 37

<211> 253

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

5 <400> 37

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 38

<211> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 39

<211> 251

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Asn Asp Gly Val Asp

130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

<210> 40

<211> 253

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 41

<211> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 41

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

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

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

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

<210> 42

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 42

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

<211> 248
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 43

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

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

Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
245

<210> 44

<211> 250

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

10

<400> 44

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Leu

ES 2 791 499 T3

165

170

175

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

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

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

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

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

<210> 45

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<400> 45

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

15 <210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 46

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

25

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

35 <400> 47

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

[illegible]

ES 2 791 499 T3

Ala Ala Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala
1 5 10

<210> 53
<211> 9
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético
10
<400> 53

Gly Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala
1 5

15 <210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 54

Gly Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala
1 5

25

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético

35 <400> 55

Gly Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala
1 5

40 <210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Péptido sintético

<400> 56

Gly Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala
1 5

50

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético

5 <400> 57

Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg
1 5

10 <210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 58

Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly
1 5

20 <210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 59

30 <210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 60

Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe
1 5

40 <210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 61

Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn
1 5

50 <210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 62

Leu Ala Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg Ala
1 5 10

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido sintético
 <400> 62

	Leu	Ala	Arg	Ala	Gly	Gly	Ser	Val	Gly	Ala
10	1				5					10

<210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

20 <400> 63

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

<210> 64
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 30 <223> Polipéptido sintético

<400> 64

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

35

REIVINDICACIONES

1. Un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr), o una composición farmacéutica que comprende dicho virión, para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad ocular en un individuo que lo necesite, en donde la composición comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y en donde el virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr) comprende:
 - a) una proteína de la cápside de VAA variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en donde la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), KDTDTTR (SEQ ID NO:57), RAGGSVG (SEQ ID NO:58), AVDTTKF (SEQ ID NO:59), STGKVPN (SEQ ID NO:60), LAKDITTTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LAAVDITTKFA (SEQ ID NO:63) y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64); y
 - b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico;
 en donde la proteína de la cápside variante infecta una célula retiniana.
2. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en donde el sitio de inserción está dentro de los aminoácidos 570 a 611 de la proteína de la cápside del VAA2 expuesta en SEQ ID NO:1, o la correspondiente posición en la proteína de la cápside de otro serotipo de VAA.
3. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según las reivindicaciones 1 a 2, en donde la célula retiniana es un fotorreceptor, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal o una célula del epitelio pigmentario de la retina.
4. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho tratamiento es por inyección intraocular.
5. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho tratamiento es por inyección intravítrea.
6. El virión de VAAr o la composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la enfermedad ocular es glaucoma, retinitis pigmentosa, degeneración macular, retinosquiasis, amaurosis congénita de Leber, retinopatía diabética, acromatopsia o daltonismo.
7. Un virión de virus adenoasociado recombinante (VAAr) que comprende:
 - a) una proteína de la cápside de VAA variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante comprende una inserción de un péptido en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una correspondiente proteína de la cápside de VAA parental, en donde la inserción comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de LALGETTRPA (SEQ ID NO:45); LANETITRPA (SEQ ID NO:46), LAKAGQANNA (SEQ ID NO:47), LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:48), LAKDITTTTRA (SEQ ID NO:61), LARAGGSVGA (SEQ ID NO:62), LAAVDITTKFA (SEQ ID NO:63) y LASTGKVPNA (SEQ ID NO:64), y en donde la proteína de la cápside variante confiere infectividad de una célula retiniana; y
 - b) un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto génico.
8. El virión de VAAr de la reivindicación 7, en donde el sitio de inserción está dentro de los aminoácidos 570 a 611 de la proteína de la cápside de VAA2 o de la correspondiente posición en la proteína de la cápside de otro serotipo de VAA.
9. El virión de VAAr de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde la célula retiniana es un fotorreceptor, una célula ganglionar de la retina, una célula de Müller, una célula bipolar, una célula amacrina, una célula horizontal o una célula del epitelio pigmentario de la retina.
10. El virión de VAAr de la reivindicación 7, en donde el sitio de inserción está dentro de los aminoácidos 587-588 de la proteína de la cápside de VAA2 expuesta en SEQ ID NO:1, o de la correspondiente posición en la proteína de la cápside de otro serotipo de VAA.
11. El virión del VAAr de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde el producto génico es un ARN interferente, un aptámero o un polipéptido.
12. El virión de VAAr de la reivindicación 11, en donde el polipéptido se selecciona del grupo que consiste en: factor neurotrófico derivado de la glía, factor 2 de crecimiento de fibroblastos, neurturina, factor neurotrófico ciliar, factor de crecimiento nervioso, factor neurotrófico derivado de cerebro, factor de crecimiento epidérmico, rodopsina, inhibidor de apoptosis ligado a X, retinosquiasina, EPR65, proteína 1 que interactúa con GTPasa en la retinitis pigmentosa,

periferina, periferina 2, una rodopsina y Sonic hedgehog.

13. Una composición farmacéutica que comprende:

- 5 a) un virión de virus adenoasociado recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12; y
 b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

14. Un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside de virus adenoasociado (VAA) variante, en donde la proteína de la cápside de VAA variante es como se define en
10 una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12.

15. Una célula hospedadora aislada, genéticamente modificada, que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 14.

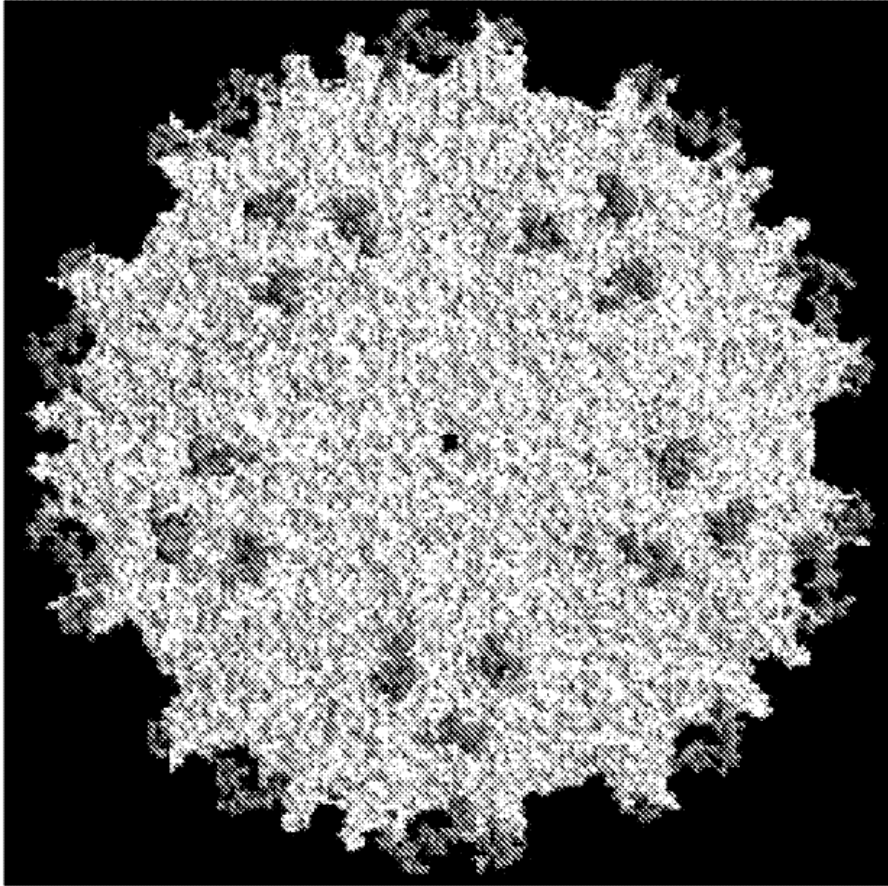
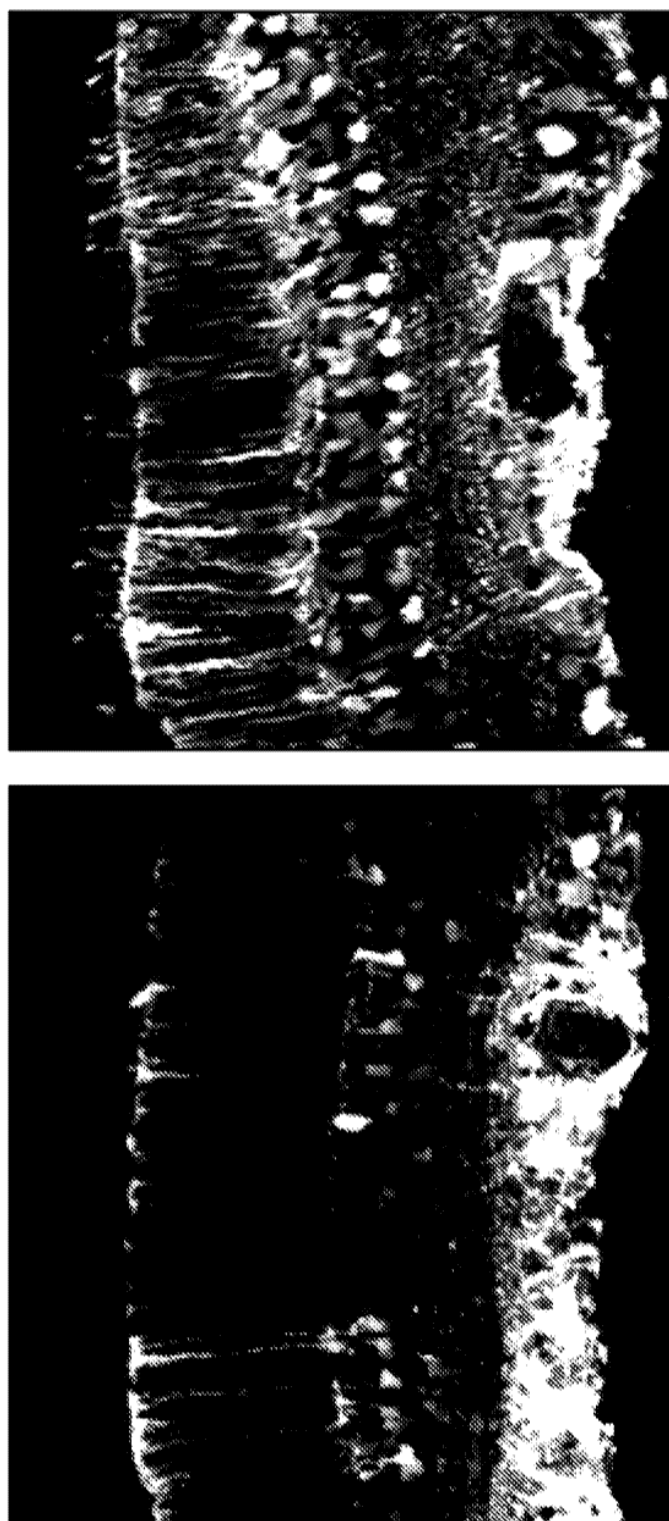


FIG. 1



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

VAA2.CAG.GFP
(serotipo parental)

FIG. 2

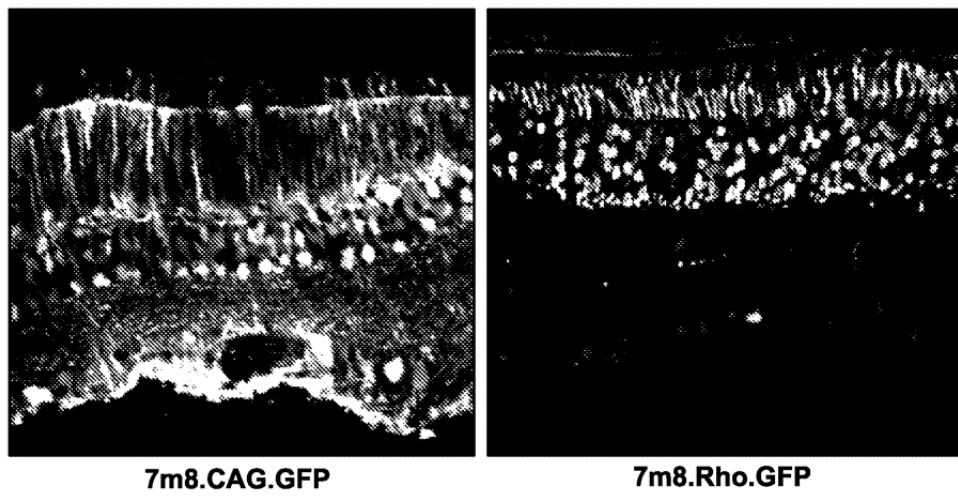


FIG. 3

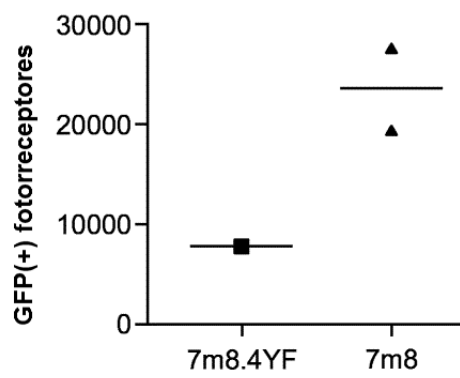


FIG. 4

VAA2 VP1 1 MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD
VAA2 VP1 61 KGEFVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLYKNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ
VAA2 VP1 121 AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDAD
VAA2 VP1 181 SVPDPQLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVI
VAA2 VP1 241 TTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDWQRLI
VAA2 VP1 301 NNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTIANNILTSVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQG
VAA2 VP1 361 CLPPFPADVFMVPQYGYLTINNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVVF
VAA2 VP1 421 HSSYAHSQSLDRIMNPLIDQYLYLSRTNTPSGTTTQSRQLQFSQAGASDIRDQSRNWLPG
VAA2 VP1 481 PCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNPGPAMASHKDDDEKFFFPQSGVL
VAA2 VP1 541 IFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATAADVNTQGV
VAA2 VP1 601 LPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTVPVNPSTT
VAA2 VP1 661 FSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSkrwnPEIQYTSNynksVNVDFTVDTNGVY
VAA2 VP1 721 SEPRPIGTRYLTR (SEQ ID NO:1)

FIG. 5

VAA-2	570	PVATEQYGSVSTNLQRG <u>NR</u> QAATADVNTQGVLPGMVWQDRDV	611	(SEQ ID NO:2)
VAA-1	571	PVATERFGTVAVNFQSSST <u>DP</u> ATGDVHAMGALPGMVWQDRDV	612	(SEQ ID NO:3)
VAA-5	560	RVAYNVGGQMATNNQ <u>SS</u> TTAPATGTYNLQEIIVPGSVWMERDV	601	(SEQ ID NO:4)
VAA-6	571	PVATERFGTVAVNLQSSST <u>DP</u> ATGDVHVMGALPGMVWQDRDV	612	(SEQ ID NO:5)
VAA-7	572	PVATEEYGI VSSNLQAA <u>NT</u> AAQTQVVNNQGALPGMVWQNRDV	613	(SEQ ID NO:6)
VAA-8	573	PVATEEYGI VADNLQQQ <u>NT</u> APQIGTVNSQGALPGMVWQNRDV	614	(SEQ ID NO:7)
VAA-9	571	PVATESYGQVATNHQSA <u>QA</u> QAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDV	612	(SEQ ID NO:8)
VAA-10	573	PVATEQYGVVADNLQ <u>QA</u> NTGTPIVGNVNSQGALPGMVWQNRDV	614	(SEQ ID NO:9)

FIG. 6

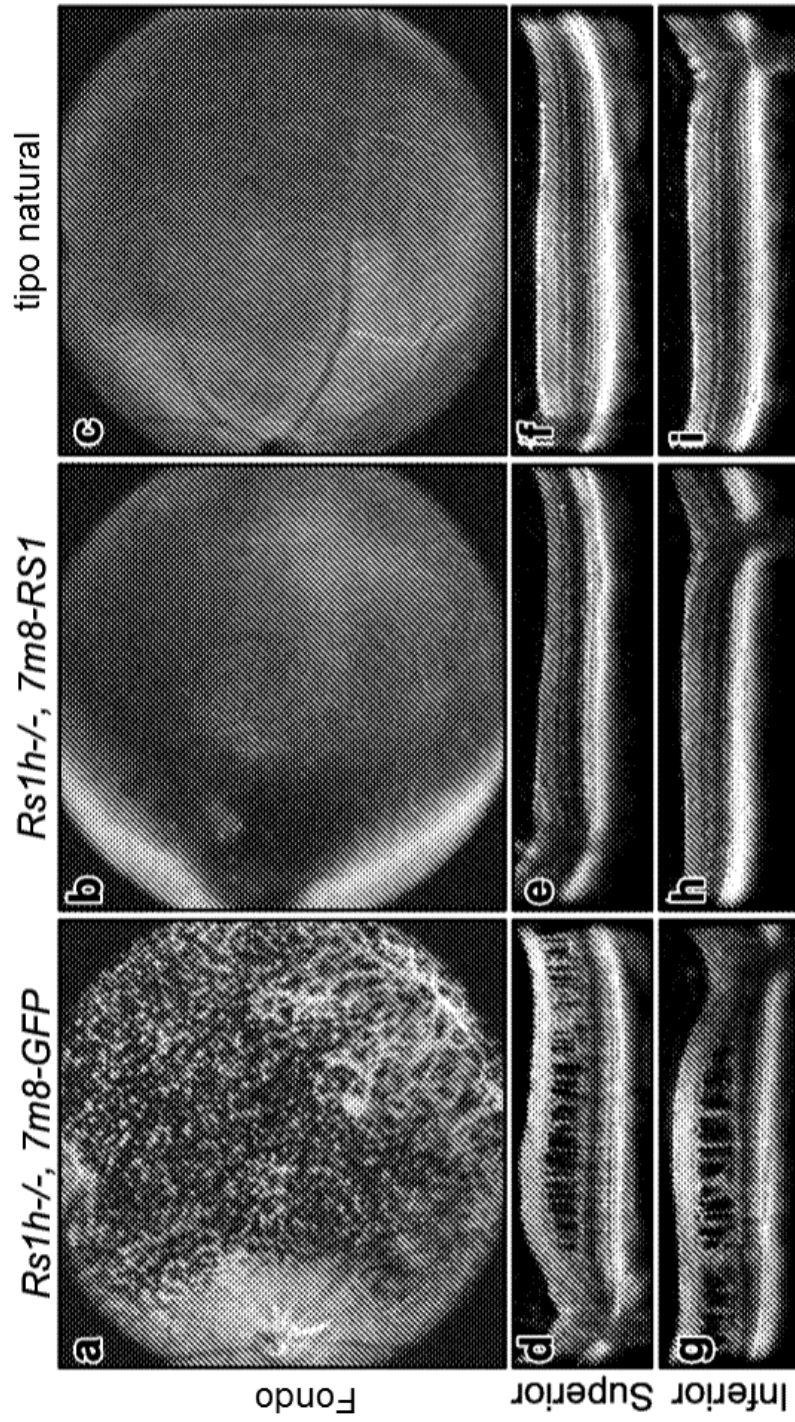


FIG. 7

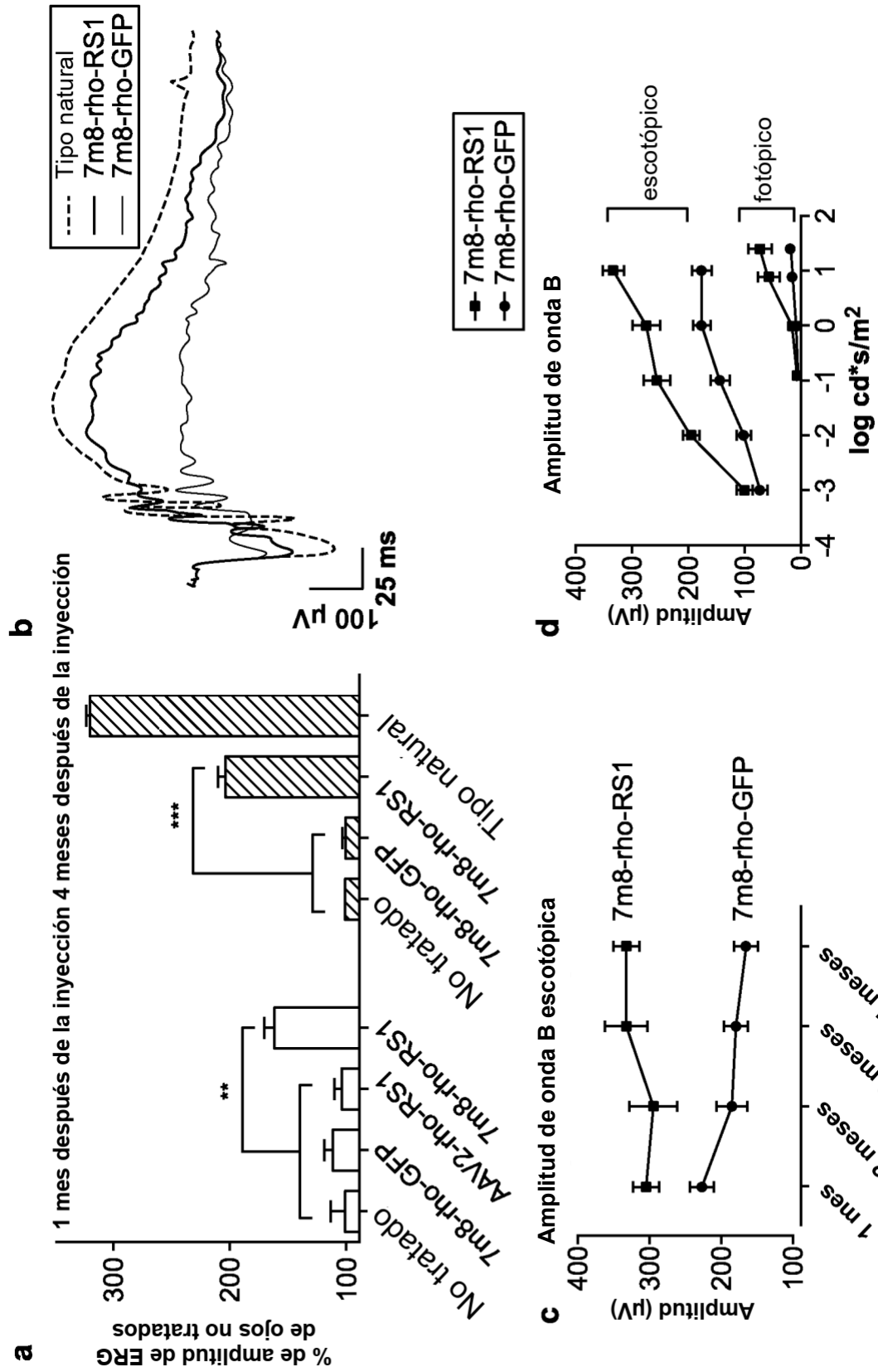


FIG. 8

Tiempo después de la inyección

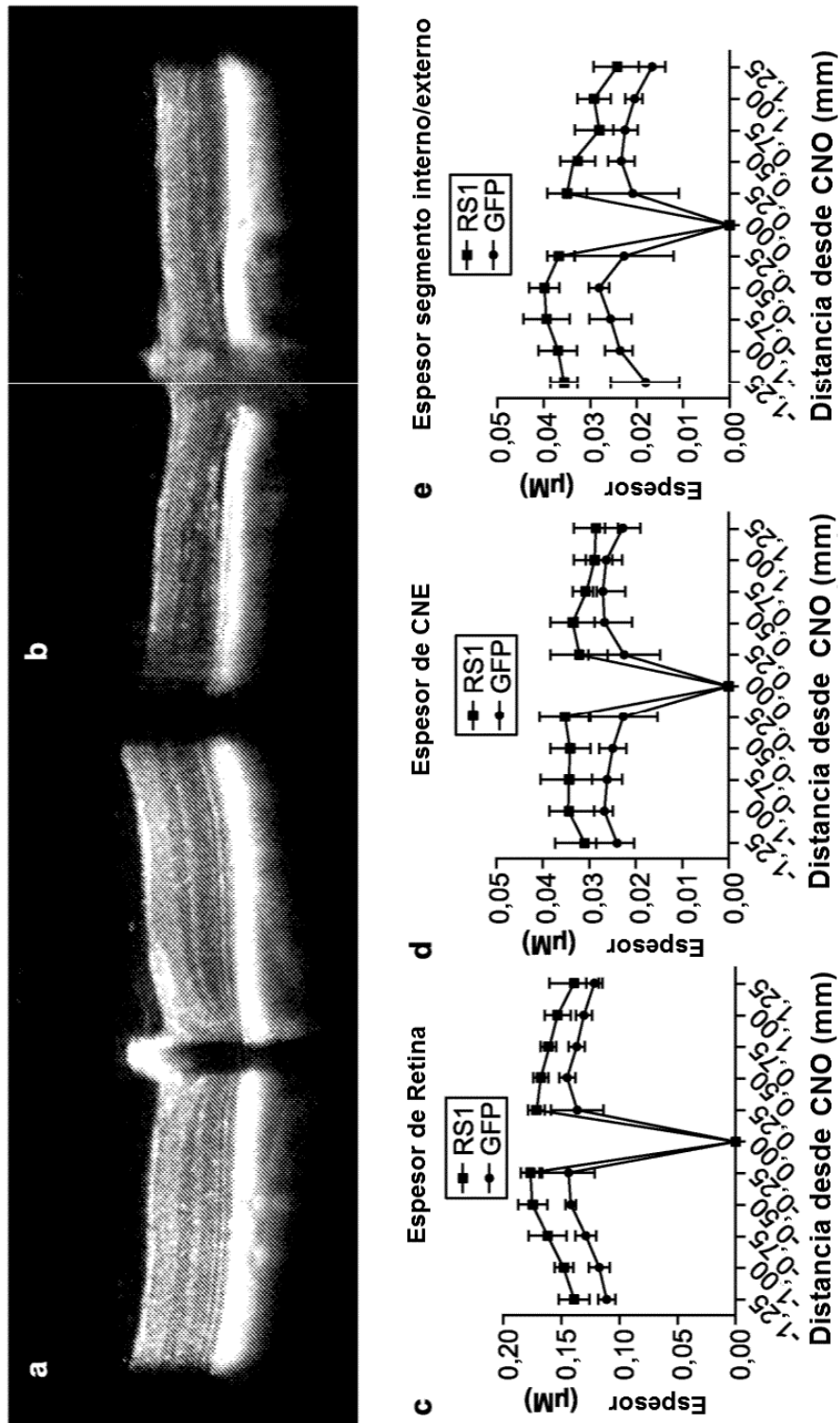


FIG. 9

Retinosquisina-1

Homo sapiens

GenBank CAI42483

```
1 msrkiegfll lllfgyeatl glsstedege dpwyqkackc dcqggpnalw sagatsldci
61 pecpyhkpig fesgevtpdq itcsnpegyv gwysswtank arlnsqgfgc awlskfqdss
121 qwlqidlkei kvisgiltqg rcdidewmtk ysvqyrtder lnwiyykdqt gnnrvfygns
181 drtstvnll rpplisrfir liplgwhvri airmellecv skca (SEQ ID NO:10)
```

FIG. 10

Factor neurotrófico derivado de cerebro

Homo sapiens

GenBank CAA62632

```
1 mtilfltmvi syfgcmkaap mkeanirggg glaypgvrth gtlesvngpk agsrgltsla
61 dtfehvieel ldedhkvrpn eenkdadly tsrvmlssqv plepplflfll eeyknyldaa
121 nmsmmvlrhs dparrgelsv cdsisewvta adkktavdms ggtvtvlekv pvskgqlkqy
181 fyetkcnpmg ytkegcrgid krhwnsqcrt tqsyvraltm dskkrigwrf iridtsvcvt
241 ltikrgr (SEQ ID NO:11)
```

FIG. 11

EPR65

Homo sapiens

GenBank AAC39660

```

1  msiquehpag  gykklfetve  elsspltahv  tgriplwltg  sllrcgpglf  evgsepfyh1
61  fdgqallhkf  dfkeghvtyh  rrfirtdayv  ramtekrivi  tefgtcafpd  pcknifsrff
121 syfrgvevtd  nalvnvypvg  edyyactetn  fitkinpetl  etikqvdlcn  yvsvngatah
181 phiendgtvy  nigncfgknf  siaynivkip  plqadkedpi  skseiivvqfp  csdrfkpsyv
241 hsfgltpnyi  vfvetpvkin  lfkflsswsl  wganymdcfe  snetmgvwlh  iadkkrkkyl
301 nnkyrtspfn  lfhhintyed  ngflivdlcc  wkgfefvyny  lylanlrenw  eevkknarka
361 ppevrryv1  plnidkadtg  knlvtlpntt  atailcsdet  iwlepevlfs  gprqafefpq
421 inyqkycgkp  ytyayglgln  hfvpdr1ckl  nvtkketvwv  qepdsypsep  ifvshpdale
481 eddgvvlsvv  vspgagqkpa  yllilnakdl  sevaraeevi  nipvtfhg1f  kks (SEQ ID NO:12)

```

FIG. 12

1 agcttggatc caatcaacct ctggattaca aaattttgtga aagattgact ggtatttctta
 61 actatgttgc tccttttacg ctatgtgat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta
 121 ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgataaa atcctggttg ctgtctcttt
 181 atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac cctgtcagct cctttccggg actttcgctt
 241 caaccccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt
 301 tccccctccc tattgccacg gcggaactca tgcgcgcctg ccttgcccgc tgctggacag
 361 gggctcggct gttgggcact gacaattccg tgggtttgtc ggggaagctg acgtcccttc
 421 catggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgagg gacgtccttc tgctacgtcc
 481 cttcggccct caatccacg gaccttctt cccgcggcct gctgcggct ctgcggcctc
 541 ttccgcgtct tcgagatctg cctcgactgt gccttctagt tgccagccat ctgtgttttg
 601 cccctcccc gtgccttctt tgacctgga aggtgccact cccactgtcc ttctctaata
 661 aaatgaggaa attgcacgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt
 721 ggggcaggac agcaaggggg aggatggga agacaatagc aggcacgtctg gggactcgag
 781 ttaagggcga attcccgatt aggatcttcc tagagcatgg ctacgtagat aagtagcatg
 841 gcgggttaat cattaactac aaggaaacccc tagtgatgga gttggccact cctctctgc
 901 gcgctcgctc gctcactgag gccgggcgac caaaggctgc ccgacgccc ggctttgccc
 961 gggcgccctc agtgagcgag cgagcgcga gccttaatta acctaatca ctggccgtcg
 1021 ttttacaacg tcgtgactgg gaaaaccctg gcgttaccga acttaatgc ctgcagcac
 1081 atcccccttt cggcagctgg cgtaatagcg agaggcccc caccgatgc ccttcccaac
 1141 agttgcgcag cctgaatggc gaatgggacg cggcctgtag cggcgcatca agcgcggcgg
 1201 gtgtgtgtgt tacgcgcagc gtgaccgcta caattgccag cggcctagcg cccgtcctt
 1261 tcgctttctt ccttctctt ctgcgccagt tcgcccgtt tccccgtcaa gctctaaatc
 1321 gggggctccc tttaggggtc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg
 1381 attaggggtga tggttcacgt agtggggccat cgccccgata gacggttttt cgcccttga
 1441 cgctggagtt cacgttcctc aatagtgagc tcttggtcca aactggaaca acactcaacc
 1501 ctatctcggt ctattctttt gatttataag ggaattttcc gatttcggcc tattggttaa
 1561 aaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaatttttaa caaaatatta acgtttataa
 1621 ttccagggtg catctttcgg gaaatgtgc gcggaacccc tatttgttta ttttctaaa
 1681 tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt
 1741 gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcg
 1801 cattttgcct tcctgttttt gctcaccacg aaacgctggt gaaagtataa gatgctgaag

FIG. 13A

1861 atcagtttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactgatct caatagtgt aagatccttg
 1921 agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg
 1981 gcgcggtatt atcccgatt gacgcccggc aagagcaact cggtcgccc atacactatt
 2041 ctcaagaatga cttgggttgag tactcacccg tcacagaaaa gcatcttac gatggcatga
 2101 cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac
 2161 ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc
 2221 atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc
 2281 gtgacaccac gatgcctgta gtaatggtaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac
 2341 tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttagcag
 2401 gaccacttct gcgctcgcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg
 2461 gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgtg
 2521 tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg
 2581 ctgagatagg tgcctcactg attaaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata
 2641 tacttttagat tgatttaaaa cttcatTTTT gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc
 2701 ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc
 2761 ccgtagaaaa gatcaaaagg tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct
 2821 tgcaaaacaaa aaaaccacgg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa
 2881 ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca ggcgcagat accaaatact gtccttctag
 2941 ttagagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgctc
 3001 tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtggtgtctt accgggttgg
 3061 actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca
 3121 cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat
 3181 gagaaagcg cactgtccc cagggagaa aggcggacag gtatccggta agcggcaggg
 3241 tcggaacagg agagcgacg agggagcttc caggggaaa cgcctggat cttatagtc
 3301 ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc
 3361 ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgagg cctttttacg gttcctggcc ttttgctgcg
 3421 gttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg
 3481 cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtcaatga
 3541 gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct cccgcgcgt tggccgattc
 3601 attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc ggcagtgag cgcaacgcaa
 3661 ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac ccagggtttt acattttatg cttccggctc

FIG. 13B

3721 gtatgttgtg tggaaattgtg agcggataac aatttcacac aggaacacagc tatgaccatg
 3781 attacgccag atttaattaa ggctgcgcgc togtctgcgc actgaggccg cccgggcaaa
 3841 gccggggcgt cgggcgacct ttggtgcgcc ggccctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga
 3901 gggagtggcc aactccatca ctagggggttc ctgtagtta atgattaacc cgccatgcta
 3961 cttatctacg tagccatgct ctagggaagat cggaattcgc ctttaagcta g**agatcttc**
 4021 **ccacactagc cacctggcaa actgtcctctt ctctcaaagg cccaaacatg gcctcccaga**
 4081 **ctgcaacccc caggcagtcg gccctgtctt ccacaacctc acagccaccc tggacgggaat**
 4141 **ctgcttcttc ccacatttga gtcctcctca gccctcagc tcctctgggc agggctgttt**
 4201 **ctttccatct ttgtattccc aggggcctgc aaataaatgt ttaatgaacg aacaagagag**
 4261 **tgaattccaa ttccatgcaa caaggattgg gctcctgggc cctaggctat gtgtctggca**
 4321 **ccagaaacgg aagctgcagg ttgcagcccc tgcctcatg gagctcctcc tgtcagagga**
 4381 **gtgtggggac tggatgactc cagaggtaac ttgtggggga acgaacaggt aaggggctgt**
 4441 **gtgacgagat gagagactgg gagaataaac cagaaagtct ctagtgtcc agaggacata**
 4501 **gcacagaggg ccattggtccc tatttcaaac ccaggccacc agactgagct gggaccttgg**
 4561 **gacagacaag tcatgcagaa gttaggggac cttctcctcc cttttcctgg atggatcctg**
 4621 **agtaccttct cctccctgac ctacggcttc ctctagtgt cacttggcc cctcttagaa**
 4681 **gccaatagg ccctcagttt ctgcagcggg gattaatatg attatgaaca ccccaatct**
 4741 **ccagatgct gattcagcca ggagcttagg agggggagggt cactttataa gggctctggg**
 4801 **gggtcagaac ccagagtcat cccctgaatt ctgcagatat ccatacacat ggcggccgcg**
 4861 ccacc**atgtc** acgcaagata gaaggctttt tgttattact tctcttggc tatgaagcca
 4921 cattgggatt atcgtctacc gaggatgaag gcgaggaccc ctggtaccaa aaagcatgca
 4981 agtgcgattg ccaaggagga ccaaatgctc tgtgtctgc agtgccacc tccttggact
 5041 gtataccaga atgcccatac cacaagcctc tgggtttcga gtcaggggag gtcacaccgg
 5101 accagatcac ctgctctaac ccggagcagt atgtgggctg gtattcttcg tggactgcaa
 5161 acaaggcccc gctcaacagt caaggctttg ggtgtgcctg gctctccaag ttccaggaca
 5221 gtagccagtg gttacagata gatctgaagg agatcaaatg gatttcaggg atcctcacc
 5281 aggggcgctg tgacatcgat ggtggatga ccaagtacag cgtgcagtac aggaccgatg
 5341 agcgcctgaa ctggatttac tacaaggacc agactggaaa caaccgggtc ttctatggca
 5401 actcggaccg cacctccacg gttcagaacc tgctcggcc ccccatcatc tcccgcttca
 5461 tccgcctcat cccgctgggc tggcacgtcc gcattgccat ccgatggag ctgctggagt
 5521 gcgtcagcaa gtgtgcct**tga** a (SEQ ID NO:18)

FIG. 13C

Periferina-2

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

FIG. 14

Periferina

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

FIG. 15

Proteína 1 que interactúa con RPGR

```

1 mshlvdptsg dlpvrldidai plvlpaskgk nmktqpplsr mnreeledsf frlredhmlv
61 kelswkqgde ikrlrttllr ltaagrldrv aeeaaaplset arrgqkagwr qrlsmhqrpq
121 mhrllqghfhc vgpasprraq prvqvghrql htagapvppek pkrgrprdrls ytappsfkeh
181 atnenrgeva skpselvsqs nsiisfssvi smakpiglcm pnsahimasn tmqveeppks
241 pekmpkden feqrssleca qkaaelrasi kekvelirlk kllhernasl vmtkaqltev
301 qeayetllqk nqgilsaahc allkqvnelr aelkeeskka vskksqledv silqmtlkef
361 qervedleke rklldndnydk lleslmdssd sssqphwsne liaeqlqqqv sqlqddldae
421 ledkrkvllc lsrekaqned lklevtnilq khkqevellq naatisqppd rqsepathpa
481 vlqentqiep sepkngeekk lsqvlnelqv shaettelle ktrdmlilqr kinvcyqeel
541 eammtkadnd nrhkeklr ltrlldlkn rikqlegilr shdlptseql kdwaygtrpl
601 slcletlpah gdedkvdisl lhqgenlfel hihqafitsa alaqagdtqp ttftctysfyd
661 fethctplsv gpqplydfts qyvmetdself lhylqeasar ldihqamase hstlaagwic
721 fdrvletvek vhglatliga ggeefgvley wmlrfrpikp slqacnkrkk aqvylstdvl
781 ggrkaqeef rseswepqne lwieitkccg lrsrwlgtqp spyavyrfft fsdhdtaaiip
841 asnnpyfrdq arfpvlvtst ldhylrreal sihvfdedl epgsylgrar vpllplakne
901 sikgdfnltd paekpngsiq vqldwkfpyi ppsflkpea qtkgkdtkds skisseeka
961 sfpsqdqmas pevpieaggy rskrkpphgg erkekehqv sysrrkhgkr igvqgknrme
1021 ylslnilngn tpeqvnytew kfsetnsfig dgfkngheee emtlshsalk qkeplhpvnd
1081 kesseggssev seaqtdsdd vivppmsqky pkadsekmci eivslafype aevmsdenik
1141 qvyveykfyd lplsetetpv slrkpragee ihfhfskvid ldpqeqqgrr rflfdmlngq
1201 dpdqghlkft vvsdpldeek keceevgyay lqlwqilesq rdileqeldi vspedlatpi
1261 grlkvslqaa avlhaiykem tedlfs (SEQ ID NO:21)

```

FIG. 16

FIG. 17A

VAA 1	KDEDKFFPMSGVMI	FGK--ESAGASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNF	584
VAA 6	KDDKDKFFPMSGVMI	FGK--ESAGASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNL	584
VAA 3	KDDEEKFFPMSGVMI	FGK--EGTTASNAELD-NVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNL	584
VAA 2	KDDEEKFFPMSGVMI	FGK--QGSEKTNVDIE-KVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	583
VAA 8	KDDEERFFPMSGVMI	FGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNL	586
VAA 8.1	KDDEERFFPMSGVMI	FGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNL	586
VAA 8 rh8	KDDDRFFPMSGVMI	FGK--QGAGNDGVDYS-QVLIITDEEEIKATNPVATEEYGAVAINN	584
VAA 10	KDDEERFFPMSGVMI	FGK--QGAGRDNVDYS-SVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	586
VAA 7	KDDEDFFPMSGVMI	FGK--TGAT-NKTTL-NVLMTNEEEIRPTNPVATEEYGIVSSNL	585
VAA 9	KEGEDRFFPLSGSLI	IFGK--QGTGRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYQGVATNH	584
VAA 9.1	KEGEDRFFPLSGSLI	IFGK--QGTGRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYQGVATNH	584
VAA 5	NLQGSNTYALENTMIFNS	QNPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNN	573
	:	.. : . : : * . . . : : * . . . : : * . . . : : *	
VAA 1	QSSSTDPATGDVHAM	GALPGMVWQDRDVLQGP	644
VAA 6	QSSSTDPATGDVHM	GALPGMVWQDRDVLQGP	644
VAA 3	QSSNTAPTGTGNHQ	GALPGMVWQDRDVLQGP	644
VAA 2	QSGNRQAATAADVNT	QGVLPGMVWQDRDVLQGP	643
VAA 8	QQQNTAPQIGTVNSQ	GALPGMVWQNRDVLQGP	646
VAA 8.1	QGGQAQAQIGTVNSQ	GALPGMVWQNRDVLQGP	646
VAA 8 rh8	QAAANTQAQTGLVHN	QGVIPGMVWQNRDVLQGP	644
VAA 10	QQAANTGPIVGNVNSQ	GALPGMVWQNRDVLQGP	646
VAA 7	QAAANTAAQTQVNVN	QGALPGMVWQNRDVLQGP	645
VAA 9	QSAQAQAQTGWVQN	QGILPGMVWQDRDVLQGP	644
VAA 9.1	QSGQAQAQTGWVQN	QGILPGMVWQDRDVLQGP	644
VAA 5	QSSTTAPATGTYNLQE	IVPGSVWMERDVLQGP	633
	*	: : : : : * . . . : : * . . . : : * . . . : : *	

FIG. 17B

VAA 1	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:22)
VAA 6	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:23)
VAA 3	PQIMIK-	650	(SEQ	ID	NO:24)
VAA 2	PQILIKN	650	(SEQ	ID	NO:25)
VAA 8	PQILIKN	653	(SEQ	ID	NO:26)
VAA 8.1	PQILIKN	653	(SEQ	ID	NO:27)
VAA 8 rh8	PQILIKN	651	(SEQ	ID	NO:28)
VAA 10	PQILIKN	653	(SEQ	ID	NO:29)
VAA 7	PQILIKN	652	(SEQ	ID	NO:30)
VAA 9	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:31)
VAA 9.1	PQILIK-	650	(SEQ	ID	NO:32)
VAA 5	PMMLIKN	640	(SEQ	ID	NO:33)
	* :	**			

FIG. 17C

VAA 1	--TFSYTFEEVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSSAQNKDLLFSRGS	467
VAA 6	--TFSYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSSAQNKDLLFSRGS	467
VAA 3	---FSTYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQGTTS	467
VAA 2	---FSTYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTQSRQLFSQAG	466
VAA 8	NFQFTYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQTT-GGTANTQTLGFSQGG	469
VAA 8.1	NFQFTYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQTT-GGTANTQTLGFSQGG	469
VAA 8 rh8	FQFSYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLVRTQTTGTGQTILAFSQAGPS	469
VAA 10	NFEFSYTFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQST-GGTQGTQQLLFSQAG	469
VAA 7	-FEFSYSFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLARTQSNPGGTAGNRELQFYQGG	469
VAA 9	-FQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTI--NGSGQNQQTLKFSVAG	467
VAA 9.1	-FQFSYEFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTI--NGSGQNQQTLKFSVAG	467
VAA 5	NFEFTYNFEEVPPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLYRFSVTN-----NTGGVQFNKNL	453
VAA 1	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASH	527
VAA 6	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASH	527
VAA 3	PQMSLQARNWLPGPCYRQQRVSKTANDNNNSNFPWTAASKYHLNGRDSLVPNPGPAMASH	527
VAA 2	ASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNPGPAMASH	526
VAA 8	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQNNNSNFAWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATH	529
VAA 8.1	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQNNNSNFAWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATH	529
VAA 8 rh8	S--MANQARNWVPGPCYRQQRVSTTTNQNNNSNFAWTGAACKLNGRDSLMPNPGVAMASH	527
VAA 10	PANMSAQAKNWLPGPCYRQQRVSTTLNQNNNSNFAWTGATKYHLNGRDSLVPNPGVAMATH	529
VAA 7	PSTMAEQAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQNNNSNFAWTGATKYHLNGRNSLVNPGVAMATH	529
VAA 9	PSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPFGASSWALNGRNSLMNPGPAMASH	527
VAA 9.1	PSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPFGASSWALNGRNSLMNPGPAMASH	527
VAA 5	AGRYANTYKNWFGPMGRGTQGNLGSVGNRASVSFAFATNRMEELEGASYQVPPQPNGMTN	513

FIG. 18A

VAA 1	KDDEKFFPMSGVMIFGK--ESAGASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNF	584
VAA 6	KDDKDKFFPMSGVMIFGK--ESAGASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNL	584
VAA 3	KDDEEKFFPMHGNLIFGK--EGTTASNAELD-NVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANL	584
VAA 2	KDDEEKFFPQSGVLIFGK--QGSEKTNVDIE-KVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	583
VAA 8	KDDEERFFPNSGILIFGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNL	586
VAA 8.1	KDDEERFFPNSGILIFGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNL	586
VAA 8 rh8	KDDDDRFFPSSGVLIFGK--QGAGNDGVDYS-QVLLITDEEEIKATNPVATEEYGAVAINN	584
VAA 10	KDDEERFFPSSGVLIFGK--QGAGRDNVDYS-SVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVWADNL	586
VAA 7	KDDEDRFFPSSGVLIFGK--TGAT-NKTLE-NVIMTNEEEIRPTNPVATEEYGIVSSNL	585
VAA 9	KEGEDRFFPLSGSLIFGK--QGTGRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGVQVATNH	584
VAA 9.1	KEGEDRFFPLSGSLIFGK--QGTGRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGVQVATNH	584
VAA 5	NLQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNN	573
VAA 1	QSSST <u>DLALGETTRPAP</u> ATGDDVHAMGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPP	
VAA 6	QSSST <u>DLALGETTRPAP</u> ATGDDVHMALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 3	QSSNTAPTTGTNVHQGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP	644
VAA 2	QRGNLALGETTRPAPAAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 8	QQNLALGETTRPATAPIGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 8.1	QQQRLGETTRPAAQAI GTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 8 rh8	QAANLALGETTRPATQAQTGLVHNQGVIPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 10	QQAALGETTRPAA NTGPIVGNVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 7	QAANLALGETTRPATAAQTQVNVNQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 9	QSAQAALGETTRPAQAQTGWVQNQGI LPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 9.1	QSGQAALGETTRPAQAATGWVQNQGI LPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP	
VAA 5	QSLALGETTRPAS ^T TAPATGTYNLQEI VPGSVMERDVYLQGPWAKIPETGAHFHPSPAMGGFGLKHPP	

FIG. 18B

VAA 1	PQILIK-	(SEQ ID NO: 34)
VAA 6	PQILIK-	(SEQ ID NO: 35)
VAA 3	PQIMIK-	(SEQ ID NO: 24)
VAA 2	PQILIKN	(SEQ ID NO: 36)
VAA 8	PQILIKN	(SEQ ID NO: 37)
VAA 8.1	PQILIKN	(SEQ ID NO: 38)
VAA 8 rh8	PQILIKN	(SEQ ID NO: 39)
VAA 10	PQILIKN	(SEQ ID NO: 40)
VAA 7	PQILIKN	(SEQ ID NO: 41)
VAA 9	PQILIK-	(SEQ ID NO: 42)
VAA 9.1	PQILIK-	(SEQ ID NO: 43)
VAA 5	PMMLIKN	(SEQ ID NO: 44)

FIG. 18C

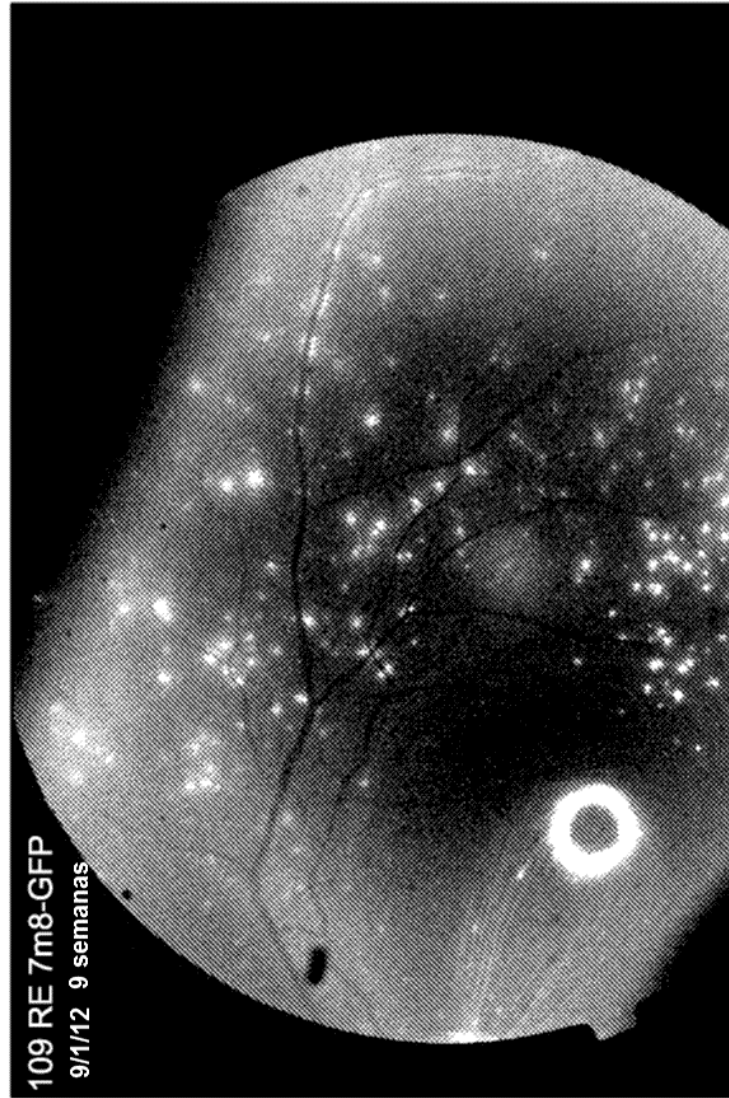


FIG. 19