

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 813 650**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2015.01)

C07K 14/33 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2011 E 16181227 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3106170**

54 Título: **Toxinas clostridiales degradables**

30 Prioridad:

20.05.2010 US 346578 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
24.03.2021

73 Titular/es:

**ALLERGAN, INC. (100.0%)
2525 Dupont Drive
Irvine, CA 92612, US**

72 Inventor/es:

**STEWART, LANCE E.;
GHANSHANI, SANJIV;
FERNANDEZ-SALAS, ESTER;
GILMORE, MARCELLA A.;
FRANCIS, JOSEPH y
AOKI, KEI ROGER**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 813 650 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

Toxinas clostridiales degradables

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de EE.UU. número de serie 61/346.578, presentada el 20 de mayo de 2010.

10 La capacidad de las toxinas clostridiales, tales como, p. ej., neurotoxinas botulínicas (BoNTs), BoNT/A, BoNT/B, BoNT/C1, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F y BoNT/G, y neurotoxina tetánica (TeNT), para inhibir la transmisión neuronal, se ha explotado en una amplia variedad de aplicaciones terapéuticas y cosméticas, véase, p. ej. William J. Lipham, COSMETIC AND CLINICAL APPLICATIONS OF BOTULINUM TOXIN (Slack, Inc., 2004). Las toxinas clostridiales disponibles en el comercio como composiciones farmacéuticas incluyen preparaciones de BoNT/A, tales como, p. ej., BOTOX® (Allergan, Inc., Irvine, CA), DYSPORT®/RELOXIN®, (Beaufour Ipsen, Porton Down, Inglaterra), NEURONOX® (Medy-Tox, Inc., Ochang-myeon, Corea del Sur) BTX-A (Lanzhou Institute Biological Products, China) y XEOMIN® (Merz Pharmaceuticals, GmbH., Frankfurt, Alemania); y preparaciones de BoNT/B, tales como, p. ej., MYOBLOC™/NEUROBLOC™ (Elan Pharmaceuticals, San Francisco, CA). Como ejemplo, BOTOX® está actualmente aprobado en uno o más países para las siguientes indicaciones: acalasia, espasticidad en adultos, fisura anal, dolor de espalda, blefaroespasmó, bruxismo, distonía cervical, temblor hereditario, arrugas del entrecejo o líneas faciales hiperkinéticas, dolor de cabeza, espasmo hemifacial, hiperactividad de la vejiga, hiperhidrosis, parálisis cerebral juvenil, esclerosis múltiple, trastornos mioclónicos, arrugas nasolabiales, disfonía espasmódica, estrabismo y trastorno del nervio VII.

25 Un tratamiento de la toxina clostridial inhibe la liberación de neurotransmisores alterando el proceso exocitótico usado para secretar el neurotransmisor en la hendidura sináptica. La industria farmacéutica tiene un gran deseo de expandir el uso de terapias con toxinas clostridiales más allá de sus aplicaciones miorelajantes actuales para tratar dolencias basadas en nervios sensoriales, tales como, p. ej., diferentes tipos de dolor crónico, inflamación neurogénica y trastornos urogenitales, así como otros trastornos, tales como, p. ej., la pancreatitis. Un procedimiento que se está usando actualmente para expandir las terapias basadas en toxinas clostridiales implica modificar una toxina clostridial de modo que la toxina modificada tiene una capacidad alterada de dirigirse a la célula para una célula que no es diana de toxina clostridial. La capacidad redirigida se logra sustituyendo un dominio de direccionamiento natural de una toxina clostridial por un dominio de direccionamiento que muestra una actividad de unión preferencial por un receptor que no es de toxina clostridial presente en una célula que no es diana de toxina clostridial. Dichas modificaciones en un dominio de direccionamiento dan como resultado una toxina clostridial quimérica llamada Proteína moduladora de exocitosis vesicular dirigida (TVEMP) que es capaz de unirse selectivamente a un receptor que no es de toxina clostridial (receptor diana) presente en una célula que no es diana de toxina clostridial (redirigida). Una toxina clostridial quimérica con una actividad de dirigirse a una célula que no es diana de toxina clostridial, se puede unir a un receptor presente en la célula que no es diana de toxina clostridial, trasladarse al citoplasma y ejercer su efecto proteolítico en el complejo SNARE de la célula que no es diana de toxina clostridial.

40 Las terapias con toxinas clostridiales y toxinas clostridiales quiméricas se usan satisfactoriamente para muchas indicaciones. En general, la administración de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica es bien tolerada. Sin embargo, la administración en algunas aplicaciones puede ser un desafío debido a las mayores dosis necesarias para lograr el efecto beneficioso. Dosis mayores pueden aumentar la probabilidad de que la toxina o toxina clostridial quimérica se mueva a través de los fluidos intersticiales y los sistemas circulatorios, tales como, p. ej., el sistema cardiovascular y el sistema linfático, del cuerpo, produciendo la dispersión indeseable de la toxina o toxina clostridial quimérica a zonas a las que no está dirigido el tratamiento. Dicha dispersión puede conducir a efectos secundarios indeseables, tales como, p. ej., inhibición de la liberación de neurotransmisores en neuronas que no son el objetivo del tratamiento con toxinas o parálisis de un músculo que no es objetivo del tratamiento. Por ejemplo, un paciente al que se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un tratamiento con BoNT/A en los músculos del cuello para la torticolis puede desarrollar disfagia debido a la dispersión de la toxina en la orofaringe. Por lo tanto, sigue siendo necesario mejorar las toxinas clostridiales o toxinas clostridiales quiméricas que sean eficaces en el sitio de tratamiento, pero tengan efectos de despreciables a mínimos en zonas que no son el objetivo del tratamiento con toxina.

55 El crecimiento del uso clínico, terapéutico y cosmético de las toxinas clostridiales y toxinas clostridiales quiméricas en tratamientos que requieren dosis mayores necesita que la industria farmacéutica desarrolle toxinas clostridiales o toxinas clostridiales quiméricas modificadas que sean eficaces en el sitio diana de aplicación, pero reduzcan o prevengan los posibles efectos secundarios asociados con la dispersión de las toxinas a un sitio no deseado. La presente memoria descriptiva proporciona nuevas toxinas clostridiales modificadas y toxinas clostridiales quiméricas que reducen o previenen los efectos secundarios indeseados asociados con la dispersión de toxinas en zonas no seleccionadas. Estas y otras ventajas son útiles para las diferentes aplicaciones clínicas, terapéuticas y cosméticas tales como, p. ej., el tratamiento de trastornos neuromusculares, trastornos neuropáticos, trastornos oculares, dolor, lesiones musculares, dolor de cabeza, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, trastornos endocrinos, cánceres, trastornos óticos y líneas faciales hiperkinéticas, así como otros trastornos donde la administración de una toxina clostridial o una toxina clostridial quimérica a un mamífero, puede producir un efecto beneficioso.

El documento WO 02/44199 divulga neurotoxinas botulínicas que se han modificado mediante la inserción de un sitio de escisión de inactivación en el dominio de unión o dominio de traslocación, mediante lo cual los constructos resultantes no comprenden los sitios de escisión de trombina dobles específicos.

Breve descripción de los dibujos

La **FIG. 1** muestra un esquema del paradigma actual de la liberación de neurotransmisores e intoxicación por toxina clostridial en una neurona central y periférica. La figura 1A muestra un esquema del mecanismo de liberación de neurotransmisores de una neurona central y periférica. El proceso de liberación se puede describir como que comprende dos etapas: 1) amarre de la vesícula, donde la proteína SNARE unida a vesícula de una vesícula que contiene moléculas neurotransmisoras se asocia con las proteínas SNARE unidas a membrana situadas en la membrana plasmática; y 2) la liberación de neurotransmisor, donde la vesícula se fusiona con la membrana plasmática y las moléculas neurotransmisoras son exocitosadas. La figura 1B muestra un esquema del mecanismo de intoxicación para la actividad de toxina tetánica y botulínica en una neurona central y periférica. Este proceso de intoxicación se puede describir como que comprende cuatro etapas: 1) unión al receptor, donde la toxina clostridial se une a un sistema receptor clostridial e inicia el proceso de intoxicación; 2) internalización del complejo, donde después de la unión de la toxina, se produce la endocitosis de una vesícula que contiene el sistema de toxina/receptor en la célula; 3) traslocación de la cadena ligera, donde se cree que ocurren múltiples procesos, que incluyen, p. ej., cambios en el pH interno de las vesículas, formación de un poro canal que comprende el dominio NH de la cadena pesada de la toxina clostridial, separación de la cadena ligera de la toxina clostridial de la cadena pesada, y liberación de la cadena ligera activa, y 4) modificación de la diana enzimática, donde la cadena ligera activada de la toxina clostridial escinde de forma proteolítica su sustrato diana SNARE, tal como p. ej., SNAP-25, VAMP o syntaxina, previniendo de esta forma el amarre de la vesícula y la liberación de neurotransmisor.

La **FIG. 2** muestra la organización del dominio de las toxinas clostridiales naturales. La forma monocatenaria representa la organización lineal de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático, un dominio de traslocación y un dominio de unión. La región de bucle bicatenario situada entre los dominios de traslocación y enzimático se representa mediante los corchetes de doble SS. Esta región comprende un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario endógeno que tras la escisión proteolítica con una proteasa natural, tal como, p. ej., una proteína de toxina clostridial endógena o una proteasa natural producida en el entorno, convierte la forma monocatenaria de la toxina en forma bicatenaria. Encima de la forma monocatenaria, se representa la región H_{CC} del dominio de unión de la toxina clostridial. Esta región comprende el dominio de β -trébol que comprende en una organización lineal de amino a carboxilo, un pliegue α , una vuelta de horquilla β 4/ β 5, un pliegue β , una vuelta de horquilla β 8/ β 9 y un pliegue γ .

La **FIG. 3** muestra toxinas clostridiales o toxinas clostridiales quiméricas con un dominio de unión situado en el extremo amino de la toxina. La figura 3A representa una forma de polipéptido monocatenaria de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento de unión, un elemento de traslocación, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P) y un elemento terapéutico. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria. La figura 3B representa la forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento de unión, un elemento terapéutico, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P) y un elemento de traslocación. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria.

La **FIG. 4** muestra toxinas clostridiales o toxinas clostridiales quiméricas con un dominio de unión situado en el extremo amino de la toxina. La figura 4A representa una forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento terapéutico, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P), un elemento de unión y un elemento de traslocación. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria. La figura 4B representa la forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento de traslocación, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P), un elemento de unión y un elemento terapéutico. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria. La figura 4C representa la forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento terapéutico, un elemento de unión, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P), y un elemento de traslocación. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria. La figura 4D representa la forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento de traslocación, un elemento de unión, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P), y un elemento terapéutico. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria.

La **FIG. 5** muestra toxinas clostridiales o toxinas clostridiales quiméricas con un dominio de unión situado en el extremo amino de la toxina. La figura 5A representa una forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento terapéutico, una región de bucle bicatenario que

comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P), un elemento de traslocación y un elemento de unión. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria. La figura 5B representa la forma de polipéptido simple de una toxina o quimera con una organización lineal de amino a carboxilo que comprende un elemento de traslocación, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno (P), un elemento terapéutico y un elemento de unión. Tras la escisión proteolítica con una proteasa P, la forma monocatenaria de la toxina o quimera se convierte en la forma bicatenaria.

Descripción detallada

La presente memoria descriptiva describe toxinas clostridiales modificadas y toxinas clostridiales quiméricas modificadas que se pueden inactivar rápidamente de un sitio o sitios no deseados explotando la presencia de proteasas presentes en los fluidos intersticiales y sistemas circulatorios, tales como, p. ej., el sistema cardiovascular y el sistema linfático. Esto se debe que las toxinas clostridiales modificadas y toxinas clostridiales quiméricas modificadas descritas en la presente memoria descriptiva comprenden un sitio de escisión de proteasa para una proteasa presente en un fluido intersticial y/o un sistema circulatorio como se describe en las reivindicaciones. La presencia de dicho sitio de escisión de proteasa hace que la toxina clostridial modificada o toxina clostridial quimérica modificada sea susceptible a la escisión proteolítica por su proteasa cognada, lo que convierte en inactivas a dichas toxinas modificadas. Por ejemplo, en situaciones donde una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica modificada para comprender un sitio de escisión para una proteasa de la matriz extracelular se ha difundido al fluido intersticial, esta toxina modificada o toxina clostridial quimérica modificada puede ser escindida eficazmente por la proteasa de la matriz extracelular cognada. Como otro ejemplo, en situaciones donde una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica modificada para comprender un sitio de escisión para una proteasa de la sangre, se ha difundido en el sistema cardiovascular, esta toxina modificada o toxina clostridial quimérica modificada puede ser escindida eficazmente por la proteasa cognada de la sangre. Como otro ejemplo más, en situaciones donde una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica modificada para comprender un sitio de escisión para una proteasa linfática se ha difundido en el sistema linfático, esta toxina modificada o toxina clostridial quimérica modificada puede ser escindida eficazmente por la proteasa linfática cognada. Por lo tanto, el uso de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio o sitios de escisión para proteasas presentes en el fluido intersticial y/o sistema circulatorio, disminuirá o eliminará dicha toxina clostridial o toxina clostridial quimérica de un sitio no deseado, reduciendo o previniendo así los efectos secundarios indeseables asociados con la difusión de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica a un sitio no deseado.

Por lo tanto, se proporciona una neotoxina botulínica, en donde la neotoxina botulínica comprende una variante de SEQ ID NO: 1, en donde dicha variantes se caracteriza por un sitio de escisión de trombina doble en SEQ ID NO: 1, concretamente un primer sitio de escisión de trombina, en donde los aminoácidos VPRGS se han insertado después del aminoácido L en la posición 881 de SEQ ID NO: 1, y el sitio de escisión consiste por tanto en SEQ ID NO: 114, y un segundo sitio de escisión de trombina en donde los aminoácidos VPRG se han insertado después de L en la posición 891 en SEQ ID NO: 1, en donde la variante tiene actividad de neurotoxina botulínica. Dichas toxinas descritas comprenden un dominio enzimático de toxina clostridial, un dominio de traslocación de toxina clostridial, un dominio de unión a toxina clostridial, una región de bucle bicatenario que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno, y un sitio de escisión de inactivación situado dentro de una región de sitios de escisión de inactivación. La adición del sitio de escisión de inactivación aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional.

La presente invención proporciona moléculas de polinucleótidos que codifican una toxina clostridial o una toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva y definida adicionalmente en las reivindicaciones. Una molécula de polinucleótido que codifica dicha toxina clostridial o toxina clostridial quimérica puede comprender además un vector de expresión.

Otros aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan una composición que comprende una toxina clostridial o una toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. Una composición que comprende dicha toxina clostridial o toxina clostridial quimérica puede ser una composición farmacéutica. Dicha composición farmacéutica puede comprender, además de una toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva un vehículo farmacéutico, un componente farmacéutico o ambos.

La invención también proporciona un método para producir una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva y definida adicionalmente en las reivindicaciones, comprendiendo el método la etapa de expresar en una célula una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, en donde la expresión de la molécula de polinucleótido produce la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica codificada. En otros aspectos, el método comprende las etapas de introducir en una célula una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, y expresar la molécula de polinucleótido, en donde la expresión de la molécula de polinucleótido produce la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica codificada.

Las toxinas clostridiales producidas por *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium baratii* y *Clostridium butyricum* son las más ampliamente usadas en tratamientos terapéuticos y cosméticos en seres humanos y otros mamíferos. Las cepas de *C. botulinum* producen siete tipos antigénicamente distintos de toxinas botulínicas (BoNT), que se han identificado investigando los brotes de botulismo en el hombre (BoNT/A, /B, /E y /F), animales (BoNT/C1 y /D) o aislados del suelo (BoNT/G). Las BoNT tienen una identidad de aminoácidos de aproximadamente 35% entre sí y comparten la misma organización de dominios funcionales y arquitectura estructural general. Los expertos en la técnica reconocen que dentro de cada tipo de toxina clostridial puede haber subtipos que difieren algo en su secuencia de aminoácidos, y también en los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas. Por ejemplo, actualmente hay 5 subtipos de BoNT/A, BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5, con subtipos específicos que muestran una identidad de aminoácidos de aproximadamente 84% a 93% cuando se comparan con el subtipo BoNT/A de SEQ ID NO: 1. Como otro ejemplo, hay actualmente 5 subtipos de BoNT/B, BoNT/B1, BoNT/B2, BoNT/B3, BoNT/Bnp y BoNT/Bbv, con subtipos específicos que muestran una identidad de aminoácidos de 93% a 96% cuando se comparan con el subtipo BoNT/B de ID NO: 6. Como otro ejemplo más, hay actualmente tres subtipos de BoNT/E, BoNT/E1, BoNT/E2 y BoNT/E3, con subtipos específicos que muestran una identidad de aminoácidos de 95% a 99% cuando se comparan con el subtipo BoNT/E de SEQ ID NO: 15. Aunque los 7 BoNT serotipos tienen estructura y propiedades farmacológicas similares, cada uno presenta también características bacteriológicas heterogéneas. En cambio, la toxina tetánica (TeNT) es producida por un grupo uniforme de *C. tetani*. Otros dos tipos de especies de clostridios, *C. baratii* y *C. butyricum*, producen toxinas, BaNT y BuNT, que son similares a BoNT/F y BoNT/E, respectivamente.

Cada una de las toxinas es traducida como un polipéptido monocatenario de aproximadamente 150 kDa que posteriormente es escindido por escisión proteolítica dentro de un bucle disulfuro por una proteasa natural (FIG. 1). Esta escisión se produce dentro de la región discreta de bucle bicatenario creado entre dos restos de cisteína que forman un puente disulfuro. Este procesamiento postraducciona produce una molécula bicatenaria que comprende una cadena ligera (LC) de aproximadamente 50 kDa y una cadena pesada de aproximadamente (HC) 100 kDa mantenidas entre sí por el enlace disulfuro sencillo e interacciones no covalentes entre las dos cadenas. La proteasa natural usada para convertir la molécula monocatenaria en bicatenaria actualmente no se conoce. En algunos serotipos, tales como, p. ej., BoNT/A, la proteasa natural es producida de forma endógena por el serotipo bacteriano y la escisión se produce dentro de la célula antes de que la toxina sea liberada al entorno. Sin embargo, en otros serotipos, tales como, p. ej., BoNT/E, parece que la cepa bacteriana no produce una proteasa endógena capaz de convertir la forma monocatenaria de la toxina en la forma bicatenaria. En estas situaciones, la toxina es liberada de la célula como una toxina monocatenaria que posteriormente se convierte en la forma bicatenaria mediante una proteasa natural encontrada en el entorno.

Cada molécula bicatenaria madura comprende tres dominios funcionalmente distintos: 1) un dominio enzimático situado en la LC que incluye una región de metaloproteasa que contiene actividad de endopeptidasa dependiente de cinc que se dirige específicamente a componentes nucleares del aparato de liberación de neurotransmisores; 2) un dominio de traslocación contenido dentro de la mitad amino terminal de la HC (H_N) que facilita la liberación de la LC de las vesículas intracelulares en el citoplasma de la célula diana; y 3) un dominio de unión encontrado dentro de la mitad carboxilo terminal de la HC (H_C) que determina la actividad de unión y especificidad de unión de la toxina al complejo receptor situado en la superficie de la célula diana. D. B. Lacy y R. C. Stevens, "Sequence Homology and Structural Analysis of the Clostridial Neurotoxins", *J. Mol. Biol.* 291: 1091-1104 (1999). El dominio H_C comprende dos características estructurales distintas de tamaño aproximadamente igual, separadas por una hélice α , designadas subdominios H_{CN} y H_{CC}. La tabla 1 da regiones límite aproximadas para cada dominio y subdominio encontrado en las toxinas clostridiales de ejemplo.

Tabla 1. Regiones y secuencias de referencia de toxinas clostridiales

Toxina	SEQ ID NO:	LC	Bucle bicatenario	H _N	H _C		
					H _{CN}	Conector α	H _{CC}
BoNT/A	1	M1/P2-L429	C430-C454	I455-I873	I874-N1080	E1081-Q1091	S1092-L1296
BoNT/B	6	M1/P2-M436	C437-C446	I447-I860	L861-S1067	Q1068-Q1078	S1079-E1291
BoNT/C1	11	M1/P2-F436	C437-C453	R454-I868	N869-D1081	G1082-L1092	Q1093-E1291
BoNT/D	13	M1/T2-V436	C437-C450	I451-I864	N865-S1069	N1069-Q1079	I1080-E1276
BoNT/E	15	M1/P2-F411	C412-C426	I427-I847	K848-D1055	E1056-E1066	P1067-K1252
BoNT/F	18	M1/P2-F428	C429-C445	I446-I865	K866-D1075	K1076-E1086	P1087-E1274
BoNT/G	21	M1/P2-M435	C436-C450	I451-I865	S866-N1075	A1076-Q1086	S1087-E1297
TeNT	22	M1/P2-L438	C439-C467	I468-L881	K882-N1097	P1098-Y1108	L1109-D1315
BaNT	23	M1/P2-L420	C421-C435	I436-I857	I858-D1064	K1065-E1075	P1076-E1268
BuNT	24	M1/P2-F411	C412-C426	I427-I847	K848-D1055	E1056-E1066	P1067-K1251

La unión, traslocación y actividad enzimática de estos tres dominios funcionales son todos necesarios para la toxicidad. Aunque no se conocen todavía con precisión todos los detalles de este proceso, el mecanismo de intoxicación celular completo por el cual las toxinas clostridiales entran en una neurona e inhiben la liberación de neurotransmisores es similar, independientemente del serotipo y subtipo. Aunque los autores de la invención no desean estar limitados por la siguiente descripción, el mecanismo de intoxicación se puede describir como que comprende al menos cuatro etapas: 1) unión al receptor, 2) internalización del complejo, 3) traslocación de la cadena ligera, y 4) modificación de la diana enzimática (FIG. 3). El proceso es iniciado cuando el dominio H_C de una toxina clostridial se une a un sistema de receptor específico de toxina situado en la superficie de la membrana plasmática de una célula diana. La especificidad de unión de un complejo receptor se cree que se logra, en parte por combinaciones específicas de gangliósidos y receptores de proteína que parece que comprenden claramente cada complejo receptor de toxina clostridial. Una vez unidos, los complejos de toxina/receptor son internalizados por endocitosis y las vesículas internalizadas son clasificadas a rutas intracelulares específicas. Parece que la etapa de traslocación es producida por la acidificación del compartimento de vesícula. Parece que este proceso inicia dos reorganizaciones estructurales dependientes del pH importantes que aumentan la hidrofobicidad y promueven la formación de la forma bicaenaria de la toxina. Una vez activada la endopeptidasa la cadena ligera de la toxina es liberada de la vesícula intracelular al citosol donde parece que se dirige específicamente a uno de tres componentes nucleares conocidos del aparato de liberación de neurotransmisores. Estas proteínas nucleares, proteínas de membrana asociadas a vesícula (VAMP)/sinaptobrevina, proteína asociada a sinaptosoma de 25 kDa (SNAP-25) y syntaxina, son necesarias para el amarre a la vesícula sináptica y fusión en el terminal nervioso y constituyen miembros de la familia de proteínas receptores de fijación de factor sensible a N-etilmaleimida soluble (SNARE). BoNT/A y BoNT/E escinden SNAP-25 en la región carboxilo terminal liberando un segmento de 9 o 26 aminoácidos, respectivamente, y BoNT/C1 también escinde SNAP-25 cerca del extremo carboxilo. Los serotipos botulínicos BoNT/B, BoNT/D, BoNT/F y BoNT/G, y la toxina tetánica, actúan en la parte central conservada de VAMP, y liberan la parte amino terminal de VAMP al citosol. BoNT/C1 escinde la syntaxina en un solo sitio cerca de la superficie de la membrana citosólica. La proteólisis selectiva de los SNARE sinápticos explica el bloqueo de la liberación de neurotransmisores producido por las toxinas clostridiales in vivo. Las dianas de la proteína SNARE de toxinas clostridiales son comunes para la exocitosis en una variedad de tipos no neuronales; en estas células, como en las neuronas, la actividad de peptidasa de cadena ligera inhibe la exocitosis, p. ej., Yann Humeau et al., "How Botulinum y Tetanus Neurotoxins Block Neurotransmitter Release", 82(5) *Biochimie*. 427-446 (2000); Kathryn Turton et al., "Botulinum y Tetanus Neurotoxins: Structure, Function y Therapeutic Utility", 27(11) *Trends Biochem. Sci.* 552-558. (2002); Giovanna Lalli et al., "The Journey of Tetanus and Botulinum Neurotoxins in Neurons", 11(9) *Trends Microbiol.* 431-437, (2003).

Las estructuras cristalinas tridimensionales de BoNT/A, BoNT/B y el dominio H_C de TeNT indican que los tres dominios funcionales de las neurotoxinas clostridiales son dominios estructuralmente diferentes que son compartidos por todas las toxinas clostridiales. El motivo consenso HEXXH de la cadena ligera forma el bolsillo de unión de cinc tetraédrico del sitio catalítico situado en la hendidura profunda de la superficie de proteína que es accesible por un canal. La estructura de los dominios H_N y H_C consiste principalmente en topologías de láminas β que están unidas a una sola hélice α . El dominio H_N de forma cilíndrica comprende dos hélices α anfipáticas largas que parecen el motivo bobina enrollada encontrado en algunas proteínas víricas. El dominio H_N también forma un bucle largo no estructurado llamado la "cinta de traslocación", que envuelve alrededor de una hendidura grande con carga negativa de la cadena ligera que bloquea el acceso del átomo de cinc al bolsillo de unión catalítica del sitio activo. El dominio H_C comprende dos características estructurales distintas de tamaño aproximadamente igual que indican función. La primera, designada el dominio H_{CN} , está situada en la mitad amino del dominio H_C . El dominio H_{CN} forma un plegado de barril β de tipo rollo de gelatina. El dominio H_{CC} es el segundo dominio que comprende el dominio H_C . El dominio carboxilo terminal comprende un dominio de β -trébol modificado que forma tres regiones de unión de hidrato de carbono distintas que se parecen al resto de unión de hidratos de carbono encontrado en muchas proteínas que se unen a azúcares, tales como, p. ej., amiloide P del suero, sialidasa, cryIA, endotoxina δ insecticida y lecitinas. Estudios bioquímicos indican que la estructura del dominio de trébol β del dominio H_{CC} parece que media la unión a componentes que contienen hidratos de carbono específicos del receptor de toxina clostridial en la superficie celular, véase, p. ej., Krzysztof Ginalski et al., "Structure-based Sequence Alignment for the Beta-Trefoil Subdomain of the Clostridial Neurotoxin Family Provides Residue Level Information About the Putative Ganglioside Binding Site", 482(1-2) *FEBS Lett.* 119-124 (2000). El dominio H_C se inclina alejándose del dominio H_N exponiendo los bucles de la superficie y haciéndolos accesibles para la unión. No se producen contacto entre la cadena ligera y el dominio H_C .

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una toxina clostridial. Las reivindicaciones se refieren a la toxina clostridial BoNT/A. Como se usa en la presente memoria, la expresión "toxina clostridial" se refiere a cualquier neurotoxina producida por una cepa de toxina clostridial que ejecuta el mecanismo celular completo por el cual una toxina clostridial intoxica una célula, y abarca la unión de una toxina clostridial a un complejo receptor de afinidad baja o alta, la internalización del complejo de toxina/receptor, la traslocación de la cadena ligera de la toxina clostridial al citoplasma y la modificación enzimática de un sustrato de toxina clostridial. Una toxina clostridial comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un dominio de traslocación de toxina clostridial y un dominio de unión de toxina clostridial. Las toxinas clostridiales de ejemplo incluyen las producidas por un *Clostridium botulinum*, un *Clostridium tetani*, un *Clostridium baratii* y un *Clostridium butyricum*.

Una toxina clostridial incluye, sin limitación, variantes naturales de la toxina clostridial, tales como, p. ej., isoformas de la toxina clostridial y subtipos de la toxina clostridial; variantes no naturales de la toxina clostridial, tales como, p. ej., variantes conservadoras de la toxina clostridial, variantes no conservadoras de la toxina clostridial y fragmentos de toxina clostridial activos de los mismos o cualquier combinación de los mismos. Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante de toxina clostridial", sea natural o no, se refiere a una toxina clostridial que tiene al menos un cambio de aminoácido de la región correspondiente de las secuencias de referencia descritas (tabla 1) y se puede describir en porcentaje de identidad respecto a la correspondiente región de esa secuencia de referencia. Como ejemplos no limitantes, una variante de BoNT/A de SEQ ID NO: 1 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 1; una variante de BoNT/B de SEQ ID NO: 6 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 6; una variante de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 11; una variante de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 13; una variante de BoNT/E de SEQ ID NO: 15 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 15; una variante de BoNT/F de SEQ ID NO: 18 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 18; una variante de BoNT/G de SEQ ID NO: 21 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 21; una variante de TeNT c de SEQ ID NO: 22 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 22; una variante de BaNT de SEQ ID NO: 23 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 23; y una variante de BuNT de SEQ ID NO: 24 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparada con la o las correspondientes posiciones de la SEQ ID NO: 24.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante natural de toxina clostridial" se refiere a cualquier toxina clostridial producida sin la ayuda de cualquier manipulación humana, incluyendo sin limitación, isoformas de la toxina clostridial producidas a partir de transcritos empalmados de forma alternativa, isoformas de la toxina clostridial producidas por mutación espontánea y subtipos de toxina clostridial. Los ejemplos no limitantes de una isoforma de toxina clostridial incluyen, p. ej., isoformas BoNT/A, isoformas BoNT/B, isoformas BoNT/C1, isoformas BoNT/D, isoformas BoNT/E, isoformas BoNT/F, isoformas BoNT/G, isoformas TeNT, isoformas BaNT e isoformas BuNT. Los ejemplos no limitantes de un subtipo de toxina clostridial incluyen, p. ej., subtipos de BoNT/A BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5; subtipos de BoNT/B BoNT/B1, BoNT/B2, BoNT/B3, BoNT/B bivalente y BoNT/B no proteolítico; subtipos de BoNT/C1 BoNT/C1-1 y BoNT/C1-2; subtipos de BoNT/E BoNT/E1, BoNT/E2, y BoNT/E3; subtipos de BoNT/F BoNT/F1, BoNT/F2 y BoNT/F3; y subtipos de BuNT BuNT-1 y BuNT-2. Otros ejemplos no limitantes de un subtipo de toxina clostridial incluyen, p. ej., subtipos de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5; subtipos de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10; subtipos de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12; subtipos de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17; subtipos de BoNT/F SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, y SEQ ID NO: 20; y subtipos de BuNT de SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 25.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no natural de toxina clostridial" se refiere a cualquier toxina clostridial producida con ayuda de manipulación humana, incluyendo sin limitación, toxinas clostridiales producidas por modificación genética usando mutagénesis aleatoria o diseño racional y toxinas clostridiales producidas por síntesis química. Los ejemplos no limitantes de variantes no naturales de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de toxina clostridial, variantes no conservadoras de toxina clostridial y fragmentos activos de toxina clostridial.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante conservadora de toxina clostridial" se refiere a una toxina clostridial que tiene al menos un aminoácido sustituido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene al menos una propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de la toxina clostridial de referencia (tabla 1). Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, tamaño similar, topografía, carga, hidrofobicidad, hidrofiliidad, lipofiliidad, capacidad de unión covalente, capacidad de enlace de hidrógeno, una propiedad fisicoquímica o similar o cualquier combinación de los mismos. Una variante conservadora de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante de toxina clostridial, y puede sustituir a la toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Una variante conservadora de toxina clostridial puede sustituir 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400 o 500 o más aminoácidos de la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante conservadora de toxina clostridial. Una variante conservadora de toxina clostridial también puede sustituir al menos 5, 10, 15, 20 o 25 aminoácidos contiguos de la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante conservadora de la toxina clostridial. Los ejemplos no limitantes de una variante conservadora de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de BoNT/A, variantes conservadoras de BoNT/B, variantes conservadoras de BoNT/C1, variantes

conservadoras de BoNT/D, variantes conservadoras de BoNT/E, variantes conservadoras de BoNT/F, variantes conservadoras de BoNT/G, variantes conservadoras de TeNT, variantes conservadoras de BaNT y variantes conservadoras de BuNT.

5 Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no conservadora de toxina clostridial" se refiere a una toxina clostridial en la que 1) se elimina al menos un aminoácido de la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de toxina clostridial; 2) se añade al menos un aminoácido a la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de toxina clostridial; o 3) se sustituye al menos un aminoácido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que no comparte ninguna propiedad similar con el aminoácido original de la secuencia de la toxina clostridial de referencia (tabla 1). Una variante no conservadora de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de toxina clostridial, y puede sustituir a la toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente invención. Una variante no conservadora de toxina clostridial puede eliminar uno o más aminoácidos, dos o más aminoácidos, tres o más aminoácidos, cuatro o más aminoácidos, cinco o más aminoácidos y diez o más aminoácidos de la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de toxina clostridial. Una variante no conservadora de toxina clostridial puede añadir uno o más aminoácidos, dos o más aminoácidos, tres o más aminoácidos, cuatro o más aminoácidos, cinco o más aminoácidos y diez o más aminoácidos a la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de toxina clostridial. Una variante no conservadora de toxina clostridial puede sustituir 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400 o 500 o más aminoácidos de la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de toxina clostridial. Una variante no conservadora de toxina clostridial también puede sustituir al menos 5, 10, 15, 20 o 25 aminoácidos contiguos de la toxina clostridial de referencia en la que se basa la variante no conservadora de la toxina clostridial. Los ejemplos no limitantes de una variante no conservadora de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes no conservadoras de BoNT/A, variantes no conservadoras de BoNT/B, variantes no conservadoras de BoNT/C1, variantes no conservadoras de BoNT/D, variantes no conservadoras de BoNT/E, variantes no conservadoras de BoNT/F, variantes no conservadoras de BoNT/G, variantes no conservadoras de TeNT, variantes no conservadoras de BaNT y variantes no conservadoras de BuNT.

También está contemplado que cualquiera de una variedad de fragmentos de toxina clostridial BoNT/A puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva, con la condición de que estos fragmentos activos puedan ejecutar el mecanismo celular completo por el cual una toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato. Por lo tanto, aspectos de esta realización pueden incluir fragmentos de toxina clostridial que tienen una longitud de, p. ej., al menos 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 o al menos 1200 aminoácidos. Otros aspectos de esta realización pueden incluir fragmentos de toxina clostridial que tienen una longitud de, p. ej., como máximo 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 o como máximo 1200 aminoácidos.

También está contemplado que cualquiera de una variedad de fragmentos de toxina clostridial que comprenden la cadena ligera, pueden ser útiles en aspectos de la presente memoria descriptiva, con la condición de que estos fragmentos de cadena ligera puedan dirigirse específicamente a los componentes nucleares de la liberación de neurotransmisores y así participar en la ejecución del mecanismo celular completo por el cual una toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato. Las cadenas ligeras de toxinas clostridiales tienen aproximadamente 420-460 aminoácidos de longitud y comprenden un dominio enzimático de toxina clostridial (tabla 1). La investigación ha mostrado que no es necesaria la longitud entera de la cadena ligera de la toxina clostridial para la actividad enzimática del dominio enzimático de la toxina clostridial. Como un ejemplo no limitante, los primeros ocho aminoácidos de una cadena ligera de BoNT/A no son necesarios para la actividad enzimática. Como otro ejemplo no limitante, los primeros ocho aminoácidos de una cadena ligera de TeNT no son necesarios para la actividad enzimática. Igualmente, el extremo carboxilo de la cadena ligera no es necesario para la actividad. Como un ejemplo no limitante, los últimos 32 aminoácidos de la cadena ligera de BoNT/A no son necesarios para la actividad enzimática. Como otro ejemplo no limitante, los últimos 31 aminoácidos de la cadena ligera de TeNT no son necesarios para la actividad enzimática. Por lo tanto, aspectos de esta realización incluyen una cadena ligera de toxina clostridial que comprende un dominio enzimático de toxina clostridial que tiene una longitud de, p. ej., al menos 350, 375, 400, 425 o 450 aminoácidos. Otros aspectos de esta realización incluyen una cadena ligera de toxina clostridial que comprende un dominio enzimático de toxina clostridial que tiene una longitud de, p. ej., como máximo 350, 375, 400, 425 o 450 aminoácidos.

También está contemplado que cualquiera de una variedad de regiones H_N de toxina clostridial que comprenden un dominio de traslocación de toxina clostridial puede ser útiles en aspectos de la presente memoria descriptiva, con la condición de que estos fragmentos activos puedan facilitar la liberación de la LC de las vesículas intracelulares al citoplasma de la célula diana y así participar en la ejecución del mecanismo celular completo por el cual una toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato. Las regiones H_N de las cadenas pesadas de toxinas clostridiales tienen aproximadamente 410-430 aminoácidos de longitud y comprenden un dominio de traslocación de toxina clostridial (tabla 1). La investigación ha mostrado que no es necesaria la longitud completa de la región H_N de una cadena pesada de toxina clostridial para la actividad de traslocación del dominio de traslocación de toxina clostridial. Por lo tanto, aspectos de esta realización pueden incluir regiones H_N de toxina clostridial que comprenden un dominio de traslocación de toxina clostridial que tiene una longitud de, p. ej., al menos 350, 375, 400 o 425 aminoácidos. Otros aspectos de esta realización pueden incluir regiones H_N de toxina clostridial que comprenden el dominio de traslocación de toxina clostridial que tiene una longitud de, p. ej., como máximo 350, 375, 400 o 425 aminoácidos.

- También está contemplado que cualquiera de una variedad de regiones H_C de toxina clostridial que comprenden un dominio de unión de toxina clostridial puede ser útiles en aspectos de la presente memoria descriptiva con la condición de que estos fragmentos activos puedan determinar la actividad de unión y especificidad de unión de la toxina al complejo receptor situado en la superficie de la célula diana y facilitar el mecanismo celular completo por el cual una toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato. Las regiones H_C de las cadenas pesadas de toxinas clostridiales tienen aproximadamente 400-440 aminoácidos de longitud y comprenden un dominio de unión (tabla 1). La investigación ha mostrado que no es necesaria la longitud entera de la región H_C de una cadena pesada de toxina clostridial para la actividad de unión del dominio de unión de la toxina clostridial. Por lo tanto, aspectos de esta realización pueden incluir regiones H_C de toxina clostridial que comprenden un dominio de unión que tiene una longitud de, p. ej., al menos 350, 375, 400 o 425 aminoácidos. Otros aspectos de esta realización pueden incluir regiones H_C de toxina clostridial que comprenden un dominio de unión que tiene una longitud de, p. ej., como máximo 350, 375, 400 o 425 aminoácidos.
- Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos de alineamiento de secuencias para determinar el porcentaje de identidad, incluyendo, sin limitar, métodos globales, métodos locales y métodos híbridos, tales como, p. ej., métodos de aproximación de segmentos. Los protocolos para determinar el porcentaje de identidad son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.
- Los métodos globales alinean secuencias desde el principio al final de la molécula y determinan el mejor alineamiento sumando puntuaciones de parejas de restos individuales e imponiendo penalizaciones por huecos. Los métodos no limitantes incluyen, p. ej., CLUSTAL W, véase, p. ej., Julie D. Thompson et al., "CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice", 22(22) *Nucleic Acids Research* 4673-4680 (1994); y refinamiento iterativo, véase, p. ej., Osamu Gotoh, "Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments", 26(4) *J. Mol. Biol.* 823-838 (1996).
- Los métodos locales alinean secuencias identificando uno o más motivos conservados compartidos por todas las secuencias introducidas. Los métodos no limitantes incluyen, p. ej., Match-box, véase, p. ej., Eric Depiereux y Ernest Feytmans, "Match-Box: A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences", 8(5) *CABIOS* 501-509 (1992); muestreo de Gibbs, véase, p. ej., C. E. Lawrence et al., "Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment", 262(5131) *Science* 208-214 (1993); Align-M, véase, p. ej., Ivo Van Walle et al., "Align-M - A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences", 20(9) *Bioinformatics*, 1428-1435 (2004).
- Los métodos híbridos combinan aspectos funcionales de los métodos tanto globales como locales. Los métodos no limitantes incluyen, p. ej., comparación de segmento a segmento, véase, p. ej., Burkhard Morgenstern et al., "Multiple DNA and Protein Sequence Alignment Based On Segment-To-Segment Comparison", 93(22) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 12098-12103 (1996); T-Coffee, véase, p. ej., Cédric Notredame et al., "T-Coffee: A Novel Algorithm for Multiple Sequence Alignment", 302(1) *J. Mol. Biol.* 205-217 (2000); MUSCLE, véase, p. ej., Robert C. Edgar, "MUSCLE: Multiple Sequence Alignment With High Score Accuracy and High Throughput", 32(5) *Nucleic Acids Res.* 1792-1797 (2004); y DIALIGN-T, véase, p. ej., Amarendran R Subramanian et al., "DIALIGN-T: An Improved Algorithm for Segment-Based Multiple Sequence Alignment", 6(1) *BMC Bioinformatics* 66 (2005).
- La presente memoria descriptiva describe diferentes variantes de polipéptidos donde un aminoácido se sustituye por otro, tal como, p. ej., variantes de toxina clostridial, variantes del dominio enzimático de toxina clostridial, variantes del dominio de traslocación de toxina clostridial, variantes del dominio de unión de toxina clostridial, variantes del dominio de unión que no son de toxina clostridial, y variantes del sitio de escisión de proteasa. Una sustitución se puede evaluar por una variedad de factores, tales como, p. ej., las propiedades físicas del aminoácido que se sustituye (tabla 2) o cómo toleraría el aminoácido original una sustitución (tabla 3). Las selecciones de qué aminoácido se puede sustituir por otro aminoácido en un polipéptido son conocidas para el experto en la técnica.

TABLA 2. Propiedades de los aminoácidos

Propiedad	Aminoácidos
Alifático	G, A, I, L, M, P, V
Aromático	F, H, W, Y
Ramificado en C-beta	I, V, T
Hidrófobo	C, F, I, L, M, V, W
Polar pequeño	D, N, P
No polar pequeño	A, C, G, S, T

TABLA 2. Propiedades de los aminoácidos

Propiedad	Aminoácidos
Polar grande	E, H, K, Q, R, W, Y
No polar grande	F, I, L, M, V
Cargado	D, E, H, K, R
No cargado	C, S, T
Negativo	D, E
Positivo	H, K, R
Ácido	D, E
Básico	K, R
Amida	N, Q

TABLA 3. Sustituciones de aminoácidos

Aminoácido	Sustitución favorecida	Sustituciones neutras	Sustitución desfavorecida
A	G, S, T	C, E, I, K, M, L, P, Q, R, V	D, F, H, N, Y, W
C	F, S, Y, W	A, H, I, M, L, T, V	D, E, G, K, N, P, Q, R
D	E, N	G, H, K, P, Q, R, S, T	A, C, I, L,
E	D, K, Q	A, H, N, P, R, S, T	C, F, G, I, L, M, V, W, Y
F	M, L, W, Y	C, I, V	A, D, E, G, H, K, N, P, Q, R, S, T
G	A, S	D, K, N, P, Q, R	C, E, F, H, I, L, M, T, V, W, Y
H	N, Y	C, D, E, K, Q, R, S, T, W	A, F, G, I, L, M, P, V
I	V, L, M	A, C, T, F, Y	D, E, G, H, K, N, P, Q, R, S, W
K	Q, E, R	A, D, G, H, M, N, P, S, T	C, F, I, L, V, W, Y
L	F, I, M, V	A, C, W, Y	D, E, G, H, K, N, P, Q, R, S, T
M	F, I, L, V	A, C, R, Q, K, T, W, Y	D, E, G, H, N, P, S
N	D, H, S	E, G, K, Q, R, T	A, C, F, I, L, M, P, V, W, Y
P	-	A, D, E, G, K, Q, R, S, T	C, F, H, I, L, M, N, V, W, Y
Q	E, K, R	A, D, G, H, M, N, P, S, T	C, F, I, L, V, W, Y
R	K, Q	A, D, E, G, H, M, N, P, S, T	C, F, I, L, V, W, Y
S	A, N, T	C, D, E, G, H, K, P, Q, R, T	F, I, L, M, V, W, Y
T	S	A, C, D, E, H, I, K, M, N, P, Q, R, V	F, G, L, W, Y
V	I, L, M	A, C, F, T, Y	D, E, G, H, K, N, P, Q, R, S, W
W	F, Y	H, L, M	A, C, D, E, G, I, K, N, P, Q, R, S, T, V
Y	F, H, W	C, I, L, M, V	A, D, E, G, K, N, P, Q, R, S, T

Matthew J. Betts y Robert, B. Russell, "Amino Acid Properties and Consequences of Substitutions", pág. 289-316, *In Bioinformatics for Geneticists*, (eds Michael R. Barnes, Ian C. Gray, Wiley, 2003).

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un dominio de traslocación de toxina clostridial y un dominio de unión de toxina clostridial. En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial comprende una variante de toxina clostridial natural, tal como, p. ej., una isoforma de toxina clostridial o un subtipo de toxina clostridial. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial comprende una variante no natural de toxina clostridial, tal como, p. ej., una variante conservadora de toxina clostridial, una variante no conservadora de toxina clostridial o un fragmento activo de toxina clostridial o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial comprende un dominio enzimático de toxina clostridial o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de toxina clostridial o un fragmento activo del mismo, un

dominio de unión de toxina clostridial o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. La toxina clostridial de la invención comprende BoNT/A.

En otra realización, un aminoácido hidrófobo en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido hidrófobo. Los ejemplos de aminoácidos hidrófobos incluyen, p. ej., C, F, I, L, M, V y W. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido alifático en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido alifático. Los ejemplos de aminoácidos alifáticos incluyen, p. ej., A, I, L, P y V. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido aromático en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido aromático. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido de apilamiento en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido de apilamiento. Los ejemplos de aminoácidos de apilamiento incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En un aspecto más de esta realización, un aminoácido polar en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido polar. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen, p. ej., D, E, K, N, Q, y R. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido menos polar o indiferente en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido menos polar o indiferente. Los ejemplos de aminoácidos menos polares o indiferentes incluyen, p. ej., A, H, G, P, S, T e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga positiva en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga positiva. Los ejemplos de aminoácidos con carga positiva incluyen, p. ej., K, R, y H. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga negativa en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga negativa. Los ejemplos de aminoácidos con carga negativa incluyen, p. ej., D y E. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido pequeño en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido pequeño. Los ejemplos de aminoácidos pequeños incluyen, p. ej., A, D, G, N, P, S y T. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido ramificado en el C-beta en una posición particular en la cadena de polipéptido de la toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido ramificado en el C-beta. Los ejemplos de aminoácidos ramificados en el C-beta incluyen, p. ej., I, T y V.

La toxina clostridial comprende una BoNT/A. En un aspecto de esta realización, una BoNT/A comprende un dominio enzimático de BoNT/A, un dominio de traslocación de BoNT/A y un dominio de unión de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/A comprende la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/A comprende una variante natural de BoNT/A, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/A o un subtipo de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/A comprende una variante natural de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/A o un subtipo de BoNT/A. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/A comprende una variante no natural de BoNT/A, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/A, una variante no conservadora de BoNT/A o un fragmento activo de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/A comprende una variante no natural de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/A, una variante no conservadora de BoNT/A, un fragmento activo de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/A comprende un dominio enzimático de BoNT/A o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/A o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/A o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/A que comprende un dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5.

En una realización de referencia, una toxina clostridial comprende una BoNT/B. En un aspecto de esta realización, una BoNT/B comprende un dominio enzimático de BoNT/B, un dominio de traslocación de BoNT/B y un dominio de unión de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/B comprende la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/B comprende una variante natural de BoNT/B, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/B o un subtipo de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/B comprende una variante natural de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/B o un subtipo de BoNT/B. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/B comprende una variante no natural de BoNT/B, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/B, una variante no conservadora de BoNT/B, un fragmento activo de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/B comprende una variante no natural de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/B, una variante no conservadora de BoNT/B, un fragmento activo de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/B comprende un dominio enzimático de BoNT/B o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/B o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/B o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/B comprende un dominio enzimático de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/B comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 102; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a las SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a las SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10.

En un aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BoNT/C1. En un aspecto de esta realización, una BoNT/C1 comprende un dominio enzimático de BoNT/C1, un dominio de traslocación de BoNT/C1 y un dominio de unión de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/C1 comprende la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/C1 comprende una variante natural de BoNT/C1, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/C1 o un subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/C1 comprende una variante natural de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/C1 o un subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/C1 comprende una variante no natural de BoNT/C1 variante, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/C1, una variante no conservadora de BoNT/C1, un fragmento activo de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/C1 comprende una variante no natural de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/C1, una variante no conservadora de BoNT/C1, un fragmento activo de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/C1 comprende un dominio enzimático de BoNT/C1 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/C1 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/C1, fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/C1 comprende un dominio enzimático de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de

aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 3; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12.

5 En un aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BoNT/D. En un aspecto de esta realización, una BoNT/D comprende un dominio enzimático de BoNT/D, un dominio de traslocación de BoNT/D y un dominio de unión de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/D comprende la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/D comprende una variante natural de BoNT/D, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/D o un subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/D comprende una variante natural de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/D o un subtipo de BoNT/D. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/D comprende una variante no natural de BoNT/D, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/D, una variante no conservadora de BoNT/D, un fragmento activo de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/D comprende una variante no natural de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/D, una variante no conservadora de BoNT/D, un fragmento activo de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/D comprende un dominio enzimático de BoNT/D o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/D o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/D o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/D comprende un dominio enzimático de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEX ID NO: 14 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14.

En otro aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BoNT/E. En un aspecto de esta realización, una BoNT/E comprende un dominio enzimático de BoNT/E, un dominio de traslocación de BoNT/E y un dominio de unión de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/E comprende la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/E comprende una variante natural de BoNT/E, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/E o un subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/E comprende una variante natural de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/E o un subtipo de BoNT/E. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/E comprende una variante no natural de BoNT/E, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/E, una variante no conservadora de BoNT/E, un fragmento activo de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/E comprende una variante no natural de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/E, una variante no conservadora de BoNT/E, un fragmento activo de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/E comprende un dominio enzimático de BoNT/E o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/E o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/E o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/E comprende un dominio enzimático de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta

realización, una BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17.

En otro aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BoNT/F. En un aspecto de esta realización, una BoNT/F comprende un dominio enzimático de BoNT/F, un dominio de traslocación de BoNT/F y un dominio de unión de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/F comprende la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/F comprende una variante natural de BoNT/F, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/F o un subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/F comprende una variante natural de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/F o un subtipo de BoNT/F. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/F comprende una variante no natural de BoNT/F, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/F, una variante no conservadora de BoNT/F, un fragmento activo de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/F comprende una variante no natural de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/F, una variante no conservadora de BoNT/F, un fragmento activo de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/F comprende un dominio enzimático de BoNT/F o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/F o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/F o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/F comprende un dominio enzimático BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20.

En otro aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BoNT/G. En un aspecto de esta realización, una BoNT/G comprende un dominio enzimático de BoNT/G, un dominio de traslocación de BoNT/G y un dominio de unión de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/G comprende la SEQ ID NO: 21. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/G comprende una variante natural de BoNT/G, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/G o un subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, una BoNT/G comprende una variante natural de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una isoforma de BoNT/G o un subtipo de BoNT/G de SEQ ID NO: 21. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/G comprende una variante no natural de BoNT/G, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/G, una variante no conservadora de BoNT/G o un fragmento activo de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/D comprende una variante no natural de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de BoNT/G, una variante no conservadora de BoNT/G, un fragmento activo de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/G comprende un dominio enzimático de BoNT/G o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/G o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/G o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BoNT/G comprende un dominio enzimático de BoNT/G de SEQ ID NO: 21 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BoNT/G de SEQ ID NO: 21 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BoNT/G de SEQ ID NO: 21 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, una BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 21; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, una

BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 21; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 21.

En otro aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una TeNT. En un aspecto de esta realización, una TeNT comprende un dominio enzimático de TeNT, un dominio de traslocación de TeNT y un dominio de unión de TeNT. En un aspecto de esta realización, una TeNT comprende la SEQ ID NO: 22. En otro aspecto de esta realización, una TeNT comprende una variante natural de TeNT, tal como, p. ej., una isoforma de TeNT o un subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, una TeNT comprende una variante natural de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una isoforma de TeNT o un subtipo de TeNT. En otro aspecto más de esta realización, una TeNT comprende una variante no natural de TeNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de TeNT, una variante no conservadora de TeNT, un fragmento activo de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una TeNT comprende una variante no natural de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una variante conservadora de TeNT, una variante no conservadora de TeNT, un fragmento activo de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una TeNT comprende un dominio enzimático de TeNT o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de TeNT o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de TeNT o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una TeNT comprende un dominio enzimático de TeNT de SEQ ID NO: 22 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de TeNT de SEQ ID NO: 22 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de TeNT de SEQ ID NO: 22 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una TeNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, una TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 22; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, una TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 22; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 22.

En otro aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BaNT. En un aspecto de esta realización, una BaNT comprende un dominio enzimático de BaNT, un dominio de traslocación de BaNT y un dominio de unión de BaNT. En otro aspecto de esta realización, una BaNT comprende la SEQ ID NO: 23. En otro aspecto de esta realización, una BaNT comprende una variante natural de BaNT, tal como, p. ej., una isoforma de BaNT o un subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, una BaNT comprende una variante natural de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una isoforma de BaNT o un subtipo de BaNT. En otro aspecto más de esta realización, una BaNT comprende una variante no natural de BaNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de BaNT, una variante no conservadora de BaNT o un fragmento activo de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BaNT comprende una variante no natural de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de BaNT, una variante no conservadora de BaNT, un fragmento activo de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BaNT comprende un dominio enzimático de BaNT o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BaNT o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BaNT o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BaNT comprende un dominio enzimático de BaNT de SEQ ID NO: 23 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BaNT de SEQ ID NO: 23 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BaNT de SEQ ID NO: 23 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, una BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 23; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, una BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 23; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 23.

En otro aspecto de referencia, una toxina clostridial comprende una BuNT. En un aspecto de esta realización, una BuNT comprende un dominio enzimático de BuNT, un dominio de traslocación de BuNT, y un dominio de unión de BuNT. En otro aspecto de esta realización, una BuNT comprende la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otro aspecto de esta realización, una BuNT comprende una variante natural de BuNT, tal como, p. ej., una isoforma de BuNT o un subtipo de BuNT. En otro aspecto de esta realización, una BuNT comprende una variante natural de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., una isoforma de BuNT o un subtipo de BuNT. En otro aspecto más de esta realización, una BuNT comprende una variante no natural de BuNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de BuNT, una variante no conservadora de BuNT, un fragmento activo de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BuNT comprende una variante no natural de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., una variante conservadora de BuNT, una variante no conservadora de BuNT, un fragmento activo de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BuNT comprende un dominio enzimático de BuNT o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BuNT o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BuNT, un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, una BuNT comprende un dominio enzimático de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25 o un fragmento activo del mismo, un dominio de traslocación de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25 o un fragmento activo del mismo, un dominio de unión de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25 o un fragmento activo del mismo o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, una BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, una BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, una BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "toxina clostridial quimérica" o "quimeras de toxina clostridial" se refiere a una molécula que comprende al menos una parte de una toxina clostridial y una parte de al menos otra proteína para formar una toxina con al menos una propiedad diferente de las toxinas clostridiales de referencia de la tabla 1. Los ejemplos no limitantes de quimeras de toxinas clostridiales incluyen una toxina clostridial que comprende un dominio enzimático que no es de toxina clostridial, una toxina clostridial que comprende un dominio de traslocación que no es de toxina clostridial, una toxina clostridial que comprende un dominio de unión que no es de toxina clostridial, o cualquier combinación de los mismos. Otro ejemplo no limitante de una quimera de toxina clostridial incluye una toxina clostridial que comprende un dominio enzimático de una toxina clostridial diferente, una toxina clostridial que comprende un dominio de traslocación de una toxina clostridial diferente, una toxina clostridial que comprende un dominio de unión de una toxina clostridial diferente o cualquier combinación de los mismos.

Una clase de toxina clostridial quimérica comprende una toxina clostridial modificada donde el dominio enzimático o parte del mismo, dominio de traslocación o parte del mismo, y/o dominio de unión o parte del mismo de una toxina clostridial natural se modifica o se sustituye por un dominio enzimático o parte del mismo, dominio de traslocación o parte del mismo y/o dominio de unión o parte del mismo de una toxina clostridial diferente. Como ejemplo no limitante, el dominio de unión de BoNT/A se puede sustituir por el dominio de unión de BoNT/B produciendo toxina clostridial quimérica que comprende un dominio enzimático de BoNT/A, un dominio de traslocación de BoNT/A, y un dominio de unión de BoNT/B. Dichas quimeras de toxinas clostridiales se describen, p. ej., en J. Oliver Dolly et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, patente de EE.UU. 7,132,259, que se incorpora por referencia en su totalidad. Como otro ejemplo no limitante, se puede insertar el motivo de leucina de BoNT/A en la cadena ligera de una BoNT/E con el fin de aumentar la persistencia biológica. Dichas quimeras de toxinas clostridiales se describen, p. ej., en Lance E. Steward et al., *Leucine-based Motif and Clostridial Toxins*, publicación de patente de EE.UU. 2003/0027752 (6 de Feb., 2003); Lance E. Steward et al., *Clostridial Neurotoxin Compositions and Modified Clostridial Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2003/0219462 (27 de nov., 2003); y Lance E. Steward et al., *Clostridial Neurotoxin Compositions and Modified Clostridial Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2004/0220386 (4 de nov., 2004).

Otra clase de toxina clostridial quimérica comprende una toxina clostridial donde el dominio de unión de una toxina clostridial natural se modifica o sustituye por un dominio de unión de una toxina no clostridial. Dichas quimeras de toxina clostridial tienen una actividad de unión celular alterada porque la toxina modificada puede p. ej., 1) usar el mismo receptor presente en la superficie de una célula diana de toxina clostridial natural que el usado por la toxina clostridial natural, referido como una actividad de unión celular potenciada para una célula diana de toxina clostridial natural; 2) usar un receptor diferente presente en la superficie de una célula diana de toxina clostridial natural, referido como una actividad de unión celular alterada para una célula diana de toxina clostridial natural; o 3) usar un receptor

diferente presente en la superficie de la célula que no es diana de toxina clostridial, referido como una actividad de unión celular alterada para una célula diana de toxina clostridial no natural, una toxina redirigida o una TVEMP.

Una toxina clostridial quimérica puede ser toxina clostridial con una actividad de unión celular potenciada capaz de intoxicar una célula diana de toxina clostridial natural, p. ej., una neurona motora. Una forma de lograr esta actividad de unión potenciada es modificando el dominio de unión endógeno de una toxina clostridial natural con el fin de potenciar una actividad de unión celular de la toxina por su receptor natural. Dichas modificaciones en un dominio de direccionamiento producen, p. ej., una actividad de unión celular potenciada que aumenta la afinidad de unión por un receptor de toxina clostridial endógeno presente en una célula diana de toxina clostridial natural; una actividad de unión celular potenciada que aumenta la especificidad de unión por un subgrupo de receptores de toxina clostridial endógenos presentes en una célula diana de toxina clostridial natural; o una actividad de unión celular potenciada que aumenta tanto la afinidad de unión como la especificidad de unión. Los ejemplos no limitantes de toxinas clostridiales modificadas y actividad de unión celular potenciada para un receptor de toxina clostridial natural se describen, p. ej., en Lance E. Steward et al., *Modified Clostridial Toxins with Enhanced Targeting Capabilities For Endogenous Clostridial Toxin Receptor Systems*, publicación de patente de EE.UU. 2008/0096248; Lance E. Steward, *Modified Clostridial Toxins with Enhanced Translocation Capabilities and Enhanced Targeting Activity for Clostridial Toxin Target Cells*, publicación de patente internacional 2008/105901.

Una toxina clostridial quimérica puede ser una toxina clostridial con una actividad de unión celular alterada capaz de intoxicar una célula diana de toxina clostridial natural, p. ej., una neurona motora. Una forma de lograr esta capacidad alterada es sustituyendo el dominio de unión endógeno de una toxina clostridial natural por un dominio de unión de otra molécula que se une con preferencia a un receptor diferente presente en la superficie de una célula diana de toxina clostridial natural. Dicha modificación de un dominio de unión produce una toxina modificada que puede unirse con preferencia a un receptor que no es de toxina clostridial presente en una célula diana de toxina clostridial. Esta actividad de unión potenciada para una célula diana de toxina clostridial natural permite administrar dosis eficaces menores de una toxina clostridial modificada a un individuo porque se suministrará más toxina a la célula diana. Por lo tanto, las toxinas clostridiales modificadas con una actividad de unión potenciada reducirán la dispersión indeseada de la toxina a zonas a las que no está dirigido el tratamiento, reduciendo o previniendo de esta forma los efectos secundarios indeseables asociados con la difusión de una toxina clostridial a un sitio no deseado. Los ejemplos no limitantes de toxinas clostridiales modificadas con una capacidad de unión alterada por una célula diana de toxina clostridial se describen, p. ej., en Lance E. Steward et al., *Multivalent Clostridial Toxin Derivatives and Methods of Their Use*, patente de EE.UU. 7,514,088; Lance E. Steward et al., *Modified Clostridial Toxins with Altered Targeting Capabilities For Clostridial Toxin Target Cells*, publicación de patente de EE.UU. 2008/0161543; Lance E. Steward, *Modified Clostridial Toxins with Enhanced Translocation Capabilities and Altered Targeting Activity for Clostridial Toxin Target Cells*, publicación de patente de EE.UU. 2008/0241881; Lance E. Steward et al., *Multivalent Clostridial Toxin Derivatives and Methods of Their Use*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0048431; Lance E. Steward et al., *Modified Clostridial Toxins with Altered Targeting Capabilities For Clostridial Toxin Target Cells*, publicación de patente internacional WO 2007/106115.

Una toxina clostridial quimérica puede ser una toxina clostridial con una actividad de unión celular alterada capaz de intoxicar una célula distinta de una célula diana de toxina clostridial, p. ej., una célula distinta de una neurona motora. Llamadas TVEMP, estas moléculas logran esta intoxicación usando un receptor diana presente en una célula que no es diana de toxina clostridial. Esta capacidad redirigida se logra sustituyendo un dominio de unión natural de una toxina clostridial por un dominio de unión que muestre una actividad de unión preferente por un receptor que no es de toxina clostridial presente en una célula que no es diana de toxina clostridial. Dichas modificaciones de un dominio de unión producen una toxina modificada que es capaz de unirse con preferencia a un receptor que no es de toxina clostridial presente en una célula que no es diana de toxina clostridial. Una toxina clostridial quimérica con una actividad de direccionamiento alterada por una célula que no es diana de toxina clostridial puede unirse a un receptor diana, traslocarse al citoplasma, y ejercer su efecto proteolítico en el complejo SNARE de la célula que no es diana de toxina clostridial. Los ejemplos no limitantes de quimeras de toxina clostridial con una actividad de direccionamiento alterada por una célula que no es diana de toxina clostridial se describen, p. ej., en Keith A. Foster et al., *Clostridial Toxin Derivatives Able To Modify Peripheral Sensory Afferent Functions*, patente de EE.UU. 5,989,545; Clifford C. Shone et al., *Recombinant Toxin Fragments*, patente de EE.UU. 6,461,617; Conrad P. Quinn et al., *Methods and Compounds for the Treatment of Mucus Hypersecretion*, patente de EE.UU. 6,632,440; Lance E. Steward et al., *Methods and Compositions for the Treatment of Pancreatitis*, patente de EE.UU. 6,843,998; J. Oliver Dolly et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, patente de EE.UU. 7,132,259; Stephan Donovan, *Clostridial Toxin Derivatives and Methods For Treating Pain*, patente de EE.UU. 7,244,437; Stephan Donovan, *Clostridial Toxin Derivatives and Methods For Treating Pain*, patente de EE.UU. 7,413,742; Stephan Donovan, *Clostridial Toxin Derivatives and Methods For Treating Pain*, patente de EE.UU. 7,415,338; Lance E. Steward et al., *Multivalent Clostridial Toxin Derivatives and Methods of Their Use*, patente de EE.UU. 7,514,088; Keith A. Foster et al., *Inhibition of Secretion from Non-neural Cells*, publicación de patente de EE.UU. 2006/0216283; Keith A. Foster, *Fusion Proteins*, publicación de patente de EE.UU. 2008/0064092; Keith A. Foster, *Fusion Proteins*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0035822; Lance E. Steward et al., *Multivalent Clostridial Toxin Derivatives and Methods of Their Use*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0048431; Keith A. Foster, *Non-Cytotoxic Protein Conjugates*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0162341; Keith A. Foster et al., *Re-targeted Toxin Conjugates*, publicación de patente internacional WO 2005/023309; y Lance

E. Steward, *Modified Clostridial Toxins with Enhanced Translocation Capabilities and Altered Targeting Capabilities for Non-Clostridial Toxin Target Cells*, solicitud de patente internacional WO 2008/008805.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un dominio enzimático de toxina clostridial. Como se usa en la presente memoria la expresión "dominio enzimático de toxina clostridial" se refiere a cualquier polipéptido de toxina clostridial que ejecuta la etapa de modificación enzimática de la diana del proceso de intoxicación. Por lo tanto, un dominio enzimático de toxina clostridial se dirige específicamente a un sustrato de toxina clostridial y abarca la escisión proteolítica de un sustrato de toxina clostridial, tal como, p. ej., proteínas SNARE como un sustrato SNAP-25, un sustrato VAMP y un sustrato syntaxina. Los ejemplos no limitantes de un dominio enzimático de toxina clostridial incluyen, p. ej., un dominio enzimático de BoNT/A, un dominio enzimático de BoNT/B, un dominio enzimático de BoNT/C1, un dominio enzimático de BoNT/D, un dominio enzimático de BoNT/E, un dominio enzimático de BoNT/F, un dominio enzimático de BoNT/G, un dominio enzimático de TeNT, un dominio enzimático de BaNT y un dominio enzimático de BuNT.

Un dominio enzimático de toxina clostridial incluye, sin limitación, variantes de dominio enzimático de toxina clostridial, tales como, p. ej., isoformas de dominio enzimático de toxina clostridial y subtipos de dominio enzimático de toxina clostridial; y variantes no naturales de dominio enzimático de toxina clostridial, tales como, p. ej., variantes conservadoras de dominio enzimático de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio enzimático de toxina clostridial, fragmentos activos de dominio enzimático de toxina clostridial de los mismos o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante de dominio enzimático de toxina clostridial", sea natural o no natural, se refiere a un dominio enzimático de toxina clostridial que tiene al menos un cambio de aminoácido de la región correspondiente de las secuencias de referencia descritas (tabla 1) y se puede describir en porcentaje de identidad respecto a la región correspondiente de esa secuencia de referencia. Salvo que se indique de forma expresa, las variantes de dominio enzimático de toxina clostridial útiles para la práctica de las realizaciones descritas son variantes que ejecutan la etapa de modificación enzimática de la diana del proceso de intoxicación. Como ejemplos no limitantes, una variante de dominio enzimático de BoNT/A tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-429 de SEQ ID NO: 1; una variante de dominio enzimático de BoNT/B tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 6; una variante de dominio enzimático de BoNT/C1 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 11; una variante de dominio enzimático de BoNT/D tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 13; una variante de dominio enzimático de BoNT/E tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-411 de SEQ ID NO: 15; una variante de dominio enzimático de BoNT/F tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-428 de SEQ ID NO: 18; una variante de dominio enzimático de BoNT/G tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-438 de SEQ ID NO: 21; una variante de dominio enzimático de TeNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-438 de SEQ ID NO: 22; una variante de dominio enzimático de BaNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-420 de SEQ ID NO: 23; y una variante de dominio enzimático de BuNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 1/2-411 de SEQ ID NO: 24.

Los expertos en la técnica reconocerán que dentro de cada serotipo de toxina clostridial puede haber variantes del dominio enzimático de toxina clostridial naturales que difieren algo en la secuencia de aminoácidos, y también en los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas. Por ejemplo, actualmente hay cinco subtipos de BoNT/A, BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5, con subtipos de dominio enzimático específicos que muestran una identidad de aminoácidos de aproximadamente 80% a 95% comparado con el dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1. Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante natural de dominio enzimático de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio enzimático de toxina clostridial producido por un proceso natural que incluye, sin limitación, isoformas de dominio enzimático de toxina clostridial producidas por transcritos de empalme alternativo. Las isoformas del dominio enzimático de toxina clostridial producidas por mutación espontánea y los subtipos de dominio enzimático de toxina clostridial. Una variante natural de dominio enzimático de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante natural de dominio enzimático de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva.

Un ejemplos no limitante de una variante natural de dominio enzimático de toxina clostridial es una isoforma de dominio enzimático de toxina clostridial tal como, p. ej., una isoforma de dominio enzimático de BoNT/A, una isoforma de dominio enzimático de BoNT/B, una isoforma de dominio enzimático de BoNT/C1, una isoforma de dominio enzimático de BoNT/D, una isoforma de dominio enzimático de BoNT/E, una isoforma de dominio enzimático de BoNT/F, una

isoforma de dominio enzimático de BoNT/G, una isoforma de dominio enzimático de TeNT, una isoforma de dominio enzimático de BaNT y una isoforma de dominio enzimático de BuNT. Otro ejemplo no limitante de una variante de dominio enzimático de toxina clostridial natural es un subtipo de dominio enzimático de toxina clostridial tal como, p. ej., un dominio enzimático del subtipo BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 o BoNT/A5; un dominio enzimático del subtipo BoNT/B1, BoNT/B2, BoNT/Bbv o BoNT/Bnp; un dominio enzimático del subtipo BoNT/C1-1 o BoNT/C1-2; un dominio enzimático del subtipo BoNT/E1, BoNT/E2 y BoNT/E3; un dominio enzimático del subtipo BoNT/F1, BoNT/F2 o BoNT/F3; y un dominio enzimático del subtipo BuNT-1 o BuNT-2.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no natural de dominio enzimático de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio enzimático de toxina clostridial producido con ayuda de la manipulación humana, incluyendo, sin limitación, dominios enzimáticos de toxina clostridial producidos por manipulación genética usando mutagénesis aleatoria o diseño racional y dominios enzimáticos de toxina clostridial producidos por síntesis química. Los ejemplos no limitantes de variantes no naturales de dominio enzimático de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio enzimático de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio enzimático de toxina clostridial, variantes químicas de dominio enzimático de toxina clostridial y fragmentos activos de dominio enzimático de toxina clostridial.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial" se refiere a un dominio enzimático de toxina clostridial que tiene al menos un aminoácido sustituido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene al menos una propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia del dominio enzimático de toxina clostridial de referencia (tabla 1). Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, tamaño similar, topografía, carga, hidrofobicidad, hidrofiliidad, lipofiliidad, capacidad de unión covalente, capacidad de enlace de hidrógeno, una propiedad fisicoquímica o similar o cualquier combinación de los mismos. Una variante conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/A, variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/B, variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/C1, variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/D, variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/E, variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/F, variantes conservadoras de dominio enzimático de BoNT/G, variantes conservadoras de dominio enzimático de TeNT, variantes conservadoras de dominio enzimático de BaNT y variantes conservadoras de dominio enzimático de BuNT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial" se refiere a un dominio enzimático de toxina clostridial en el que 1) se elimina al menos un aminoácido del dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial; 2) se añade al menos un aminoácido al dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial; o 3) se sustituye al menos un aminoácido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que no comparte ninguna propiedad similar con el aminoácido original del dominio enzimático de toxina clostridial de referencia (tabla 1). Una variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio enzimático de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/A, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/B, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/C1, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/D, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/E, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/F, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BoNT/G y variantes no conservadoras de dominio enzimático de TeNT, variantes no conservadoras de dominio enzimático de BaNT y variantes no conservadoras de dominio enzimático de BuNT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "fragmento activo de dominio enzimático de toxina clostridial" se refiere a cualquiera de una variedad de fragmentos de toxina clostridial que comprenden un dominio enzimático que puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva con la condición de que estos fragmentos de dominio enzimático puedan dirigirse específicamente a los componentes nucleares del aparato de liberación de neurotransmisores y por lo tanto participar en la ejecución del mecanismo celular completo por el cual la toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato. Los dominios enzimáticos de toxinas clostridiales tienen aproximadamente 420-460 aminoácidos de longitud y comprenden un dominio enzimático (tabla 1). La investigación ha mostrado que no es necesaria la longitud entera del dominio enzimático de la toxina clostridial para la actividad enzimática del dominio enzimático. Como un ejemplo no limitante, los primeros ocho aminoácidos del dominio enzimático de BoNT/A no son necesarios para la actividad enzimática. Como otro ejemplo no limitante, los primeros ocho aminoácidos del dominio enzimático de TeNT no son necesarios para la actividad enzimática. Igualmente, el extremo carboxilo del dominio enzimático no es necesario para la actividad. Como un ejemplo no limitante, los últimos 32 aminoácidos del dominio enzimático de BoNT/A no son necesarios para la actividad enzimática. Como otro ejemplo no limitante, los últimos 31 aminoácidos del dominio enzimático de TeNT no son necesarios para la actividad

enzimática. Por lo tanto, aspectos de esta realización incluyen dominios enzimáticos de toxina clostridial que comprenden un dominio enzimático que tiene una longitud de, p. ej., al menos 350, 375, 400, 425 o 450 aminoácidos. Otros aspectos de esta realización incluyen dominios enzimáticos de toxina clostridial que comprenden un dominio enzimático que tiene una longitud de, p. ej., como máximo 350, 375, 400, 425 o 450 aminoácidos.

Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos de alineamiento de secuencias para determinar el porcentaje de identidad de variantes naturales de dominio enzimático de toxina clostridial y variantes no naturales de dominio enzimático de toxina clostridial, incluyendo, sin limitación, métodos globales, métodos locales y métodos híbridos, tales como p. ej., métodos de aproximación de segmentos. Los protocolos para determinar el porcentaje de identidad son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva comprende un dominio enzimático de toxina clostridial. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende una variante natural de dominio enzimático de toxina clostridial, tal como, p. ej., una isoforma de dominio enzimático de toxina clostridial o un subtipo de dominio enzimático de toxina clostridial. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende una variante no natural de dominio enzimático de toxina clostridial, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial, una variante no conservadora de dominio enzimático de toxina clostridial, un fragmento activo de dominio enzimático de toxina clostridial o cualquier combinación de los mismos.

En otra realización, un aminoácido hidrófobo en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido hidrófobo. Los ejemplos de aminoácidos hidrófobos incluyen, p. ej., C, F, I, L, M, V y W. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido alifático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido alifático. Los ejemplos de aminoácidos alifáticos incluyen, p. ej., A, I, L, P y V. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido aromático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido aromático. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido de apilamiento en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido de apilamiento. Los ejemplos de aminoácidos de apilamiento incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido polar en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido polar. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen, p. ej., D, E, K, N, Q y R. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido menos polar o indiferente en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido menos polar o indiferente. Los ejemplos de aminoácido menos polar o indiferentes incluyen, p. ej., A, H, G, P, S, T e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga positiva en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga positiva. Los ejemplos de aminoácidos con carga positiva incluyen, p. ej., K, R y H. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga negativa en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga negativa. Los ejemplos de aminoácidos con carga negativa incluyen, p. ej., D y E. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido pequeño en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido pequeño. Los ejemplos de aminoácidos pequeños incluyen, p. ej., A, D, G, N, P, S y T. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido ramificado en el C-beta en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio enzimático de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido ramificado en el C-beta. Los ejemplos de aminoácidos ramificados en el C-beta incluyen, p. ej., I, T y V.

El dominio enzimático de toxina clostridial de la invención comprende un dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1 como se define adicionalmente en las reivindicaciones. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende los aminoácidos 1/2-429 de la SEQ ID NO: 1. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende una variante natural de dominio enzimático BoNT/A, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/A o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., una isoforma de dominio enzimático de BoNT/A o un subtipo de dominio enzimático de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende los aminoácidos 1/2-429 de una variante natural de dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, tal como, p. ej., una isoforma de dominio enzimático de BoNT/A o un subtipo de dominio enzimático de BoNT/A. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/A, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/A, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/A, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende los aminoácidos 1/2-429 de una variante no natural de

dominio enzimático de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/A, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con los aminoácidos 1/2-429 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con los aminoácidos 1/2-429 de la SEQ ID NO: 1.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-429 de SEQ ID NO: 1; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-429 de SEQ ID NO: 1. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-429 de SEQ ID NO: 1; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-429 de SEQ ID NO: 1.

En un aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BoNT/B. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 6. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende una variante dominio enzimático natural de BoNT/B, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/B o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende una variante de dominio enzimático natural de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., una isoforma de dominio enzimático de BoNT/B o un subtipo de dominio enzimático de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende los aminoácidos 1/2-436 de una variante de dominio enzimático natural de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, tal como, p. ej., una isoforma de dominio enzimático de BoNT/B o un subtipo de dominio enzimático de BoNT/B. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/B, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/B, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/B, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende los aminoácidos 1/2-436 de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/B, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende un polipéptido

que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 6; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 6.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 6; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 6. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 6; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 6.

En un aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BoNT/C1. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 11. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/C1, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/C1 o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/C1 o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 1/2-436 de una variante natural de dominio enzimático de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/C1 o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/C1, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 1/2-436 de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 11.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30,

40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 11; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 11. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 11.

En un aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BoNT/D. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 13. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/D, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/D o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/D o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende los aminoácidos 1/2-436 de una variante natural de dominio enzimático de BoNT/D de SEQ ID NO: 13, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/D o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/D. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/D, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/D, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/D, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende los aminoácidos 1/2-436 de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/D de SEQ ID NO: 13, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/D, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 13; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con los aminoácidos 1/2-436 de SEQ ID NO: 13.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 13. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-436 de la SEQ ID NO: 13.

En otro aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BoNT/E. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende los aminoácidos 1/2-411 de SEQ ID NO: 15. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/E, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/E o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/E o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende los aminoácidos 1/2-411 de una variante natural de dominio enzimático de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/E o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/E. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/E, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/E, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/E, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende los aminoácidos 1/2-411 de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/E, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 15.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 15. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 15.

En otro aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BoNT/F. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende los aminoácidos 1/2-428 de la SEQ ID NO: 18. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/F, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/F o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/F o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende los aminoácidos 1/2-428 de una variante natural de dominio enzimático de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/F o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/F. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/F, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/F, una variante no

conservadora de dominio enzimático de BoNT/F, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende el dominio enzimático de un variante no natural de dominio enzimático de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/F, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende los aminoácidos 1/2-428 de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/F, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 1/2-428 de SEQ ID NO: 18; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 1/2-428 de la SEQ ID NO: 18.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-428 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-428 de la SEQ ID NO: 18. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-428 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-428 de la SEQ ID NO: 18.

En otro aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BoNT/G. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende los aminoácidos 1/2-4435 de la SEQ ID NO: 21. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/G, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BoNT/G o un dominio enzimático de un subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende una variante natural de dominio enzimático de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/G o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende los aminoácidos 1/2-4435 de una variante natural de dominio enzimático de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BoNT/G o un dominio enzimático de subtipo de BoNT/G. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/G, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/G, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/G, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende los aminoácidos 1/2-4435 de una variante no natural de dominio enzimático de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio enzimático de BoNT/G, un fragmento activo de dominio enzimático de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como

máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 1/2-4435 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 1/2-4435 de la SEQ ID NO: 21.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-4435 de la SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-4435 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-4435 de la SEQ ID NO: 21.

En otro aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de TeNT. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende los aminoácidos 1/2-438 de la SEQ ID NO: 22. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende una variante natural de dominio enzimático de TeNT, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de TeNT o un dominio enzimático de un subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende una variante natural de dominio enzimático de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de TeNT o un dominio enzimático de subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende los aminoácidos 1/2-438 de una variante natural de dominio enzimático de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de TeNT o un dominio enzimático de subtipo de TeNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende una variante no natural de dominio enzimático TeNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de TeNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de TeNT, un fragmento activo de dominio enzimático de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de TeNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de TeNT, un fragmento activo de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende los aminoácidos 1/2-438 de una variante no natural de dominio enzimático de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de TeNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de TeNT, un fragmento activo de dominio enzimático de TeNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 1/2-438 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 1/2-438 de la SEQ ID NO: 22.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-438 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no

contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-438 de la SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-438 de la SEQ ID NO: 22.

En otro aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BaNT. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende una variante natural de dominio enzimático de BaNT, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BaNT o un dominio enzimático de un subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende una variante natural de dominio enzimático de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BaNT o un dominio enzimático de subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende los aminoácidos 1/2-420 de una variante natural de dominio enzimático de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BaNT o un dominio enzimático de subtipo de BaNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende una variante no natural de dominio enzimático de BaNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BaNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de BaNT, un fragmento activo de dominio enzimático de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BaNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de BaNT, un fragmento activo de dominio enzimático de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende los aminoácidos 1/2-420 de una variante no natural de dominio enzimático de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BaNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de BaNT, un fragmento activo de dominio enzimático de BaNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-420 de la SEQ ID NO: 23.

En otro aspecto de referencia, un dominio enzimático de toxina clostridial comprende un dominio enzimático de BuNT. En un aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende los dominios enzimáticos de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BuNT

comprende una variante natural de dominio enzimático de BuNT, tal como, p. ej., un dominio enzimático de una isoforma de BuNT o un dominio enzimático de un subtipo de BuNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende una variante natural de dominio enzimático de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BuNT o un dominio enzimático de subtipo de BuNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende los aminoácidos 1/2-411 de una variante natural de dominio enzimático de BuNT de SEQ ID NO: 24, tal como, p. ej., un dominio enzimático de isoforma de BuNT o un dominio enzimático de subtipo de BuNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende una variante no natural de dominio enzimático de BuNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BuNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de BuNT, un fragmento activo de dominio enzimático de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende el dominio enzimático de una variante no natural de dominio enzimático de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BuNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de BuNT, un fragmento activo de dominio enzimático de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende los aminoácidos 1/2-411 de una variante no natural de dominio enzimático de BuNT de SEQ ID NO: 24, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio enzimático de BuNT, una variante no conservadora de dominio enzimático de BuNT, un fragmento activo de dominio enzimático de BuNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

En otros aspectos de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio enzimático de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio enzimático de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 1/2-411 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

El "dominio de traslocación" comprende una parte de una cadena pesada de neurotoxina clostridial que tiene una actividad de traslocación. Por "traslocación" se entiende la capacidad de facilitar el transporte de un polipéptido a través de una membrana vesicular, exponiendo de esta forma algo o todo el polipéptido al citoplasma. En las diferentes neurotoxinas botulínicas se cree que la traslocación implica un cambio conformacional alostérico de la cadena pesada causado por una disminución del pH dentro del endosoma. Parece que este cambio conformacional implica y es mediado por la mitad N-terminal de la cadena pesada y da como resultado la formación de poros en la membrana vesicular; este cambio permite el movimiento de la cadena ligera proteolítica dentro de la vesícula endosómica al citoplasma. Véase, p. ej., Lacy, et al., *Nature Struct. Biol.* 5:898-902 (Octubre 1998).

La secuencia de aminoácidos de la parte que media la traslocación de la cadena pesada de la neurona botulínica es conocida para los expertos en la técnica; además, también se conocen los restos de aminoácidos dentro de esta parte que se sabe que son esenciales para conferir actividad de traslocación. Por lo tanto, el experto en la técnica tendría capacidad, por ejemplo, para usar la mitad del péptido N-terminal de la cadena pesada natural de cualquiera de los diferentes subtipos de neurotoxinas de *Clostridium tetanus* o *Clostridium botulinum*, como un dominio de traslocación, o para diseñar un dominio de traslocación análogo alineando las secuencias primarias de las mitades N-terminales de las diferentes cadenas pesadas y seleccionando una secuencia de traslocación principal de consenso basada en características de aminoácidos conservados, polaridad, estéricas e hidrofobicidad.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un dominio de traslocación de toxina clostridial. Como se usa en la presente memoria, la expresión "dominio de traslocación de toxina clostridial" se refiere a cualquier polipéptido de toxina clostridial que puede ejecutar la etapa de traslocación del proceso de intoxicación que media la traslocación de la cadena ligera de la toxina clostridial. Por lo tanto, un dominio de traslocación de toxina clostridial facilita el movimiento de una cadena ligera de toxina clostridial a través de una membrana y abarca el movimiento de una cadena ligera de toxina clostridial a través de la membrana de una vesícula intracelular al citoplasma de una célula. Los ejemplos no limitantes de un dominio de traslocación de toxina clostridial incluyen, p. ej., un dominio de traslocación de BoNT/A, un dominio de traslocación de BoNT/B, un dominio de traslocación de BoNT/C1, un dominio de traslocación de BoNT/D, un dominio de traslocación de BoNT/E, un dominio de traslocación de BoNT/F, un dominio de traslocación de BoNT/G, un dominio de traslocación de TeNT, un dominio de traslocación de BaNT y un dominio de traslocación de BuNT.

Un dominio de traslocación de toxina clostridial incluye, sin limitación, variantes naturales de dominio de traslocación de toxina clostridial, tales como, p. ej., isoformas de dominio de traslocación de toxina clostridial y subtipos de dominio de traslocación de toxina clostridial; variantes no naturales de dominio de traslocación de toxina clostridial, tales como, p. ej., variantes conservadoras de dominio de traslocación de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de toxina clostridial, fragmentos activos de dominio de traslocación de toxina clostridial de los mismos o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante de dominio de traslocación de toxina clostridial," sea natural o no natural, se refiere a un dominio de traslocación de toxina clostridial que tiene al menos un cambio de aminoácido de la correspondiente región de las secuencias de referencia descritas (tabla 1) y se puede describir en porcentaje de identidad respecto a la correspondiente región de esa secuencia de referencia. Salvo que se indique expresamente lo contrario, las variantes de dominio de traslocación de toxina clostridial útiles para la práctica de las realizaciones descritas son variantes que ejecutan la etapa de traslocación del proceso de intoxicación que media la traslocación de la cadena ligera de toxina clostridial. Como ejemplos no limitantes, una variante dominio de traslocación de BoNT/A tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1, en aspectos de referencia una variante de dominio de traslocación de BoNT/B tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6; una variante de dominio de traslocación de BoNT/C1 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11; una variante de dominio de traslocación de BoNT/D tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13; una variante de dominio de traslocación de BoNT/E tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15; una variante de dominio de traslocación de BoNT/F tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18; una variante de dominio de traslocación de BoNT/G tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21; una variante de dominio de traslocación de TeNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22; una variante de dominio de traslocación de BaNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23; y una variante de dominio de traslocación de BuNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24.

El experto en la técnica reconoce que dentro de cada serotipo de toxina clostridial puede haber variantes de dominio de traslocación de toxina clostridial naturales que difieren algo en su secuencia de aminoácidos, y también en los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas. Por ejemplo, actualmente hay cinco subtipos de BoNT/A, BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5, con subtipos específicos de dominio de traslocación que muestran una identidad de aminoácidos de aproximadamente 85-87% comparado con el subtipo de dominio de traslocación de BoNT/A de SEQ ID NO: 1. Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante natural de dominio de traslocación de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio de traslocación de toxina clostridial producido por un procedimiento natural, incluyendo, sin limitación, isoformas de dominio de traslocación de toxina clostridial producidas por transcritos empalmados de forma alternativa, isoformas de dominio de traslocación de toxina clostridial producidas por mutación espontánea y subtipos de dominio de traslocación de toxina clostridial. Una variante natural de dominio de traslocación de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante natural de dominio de traslocación de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva.

Un ejemplo no limitante de una variante natural de dominio de traslocación de toxina clostridial es una isoforma de dominio de traslocación de toxina clostridial tal como, p. ej., una isoforma de dominio de traslocación de BoNT/A, una

isoforma de dominio de traslocación de BoNT/B, una isoforma de dominio de traslocación de BoNT/C1, una isoforma de dominio de traslocación de BoNT/D, una isoforma de dominio de traslocación de BoNT/E, una isoforma de dominio de traslocación de BoNT/F, una isoforma de dominio de traslocación de BoNT/G, una isoforma de TeNT dominio de traslocación, una isoforma de dominio de traslocación de BaNT y una isoforma de dominio de traslocación de BuNT. Otro ejemplo no limitante de una variante natural de dominio de traslocación de toxina clostridial es un subtipo de dominio de traslocación de toxina clostridial tal como, p. ej., un dominio de traslocación de subtipo BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5; un dominio de traslocación de subtipo BoNT/B1, BoNT/B2, BoNT/B bivalente y BoNT/B no proteolítica; un dominio de traslocación de subtipo BoNT/C1-1 y BoNT/C1-2; un dominio de traslocación de subtipo BoNT/E1, BoNT/E2 y BoNT/E3; un dominio de traslocación de subtipo BoNT/F1, BoNT/F2, BoNT/F3; y un dominio de traslocación de subtipo BuNT-1 y BuNT-2.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no natural de dominio de traslocación de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio de traslocación de toxina clostridial producido con ayuda de la manipulación humana, incluyendo, sin limitación, dominios de traslocación de toxina clostridial producidos por modificación genética usando mutagénesis aleatoria o diseño racional y dominios de traslocación de toxina clostridial producidos por síntesis química. Los ejemplos no limitantes de variantes no natural de dominio de traslocación de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio de traslocación de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de toxina clostridial, y fragmentos activos de dominio de traslocación de toxina clostridial.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial" se refiere a un dominio de traslocación de toxina clostridial que tiene al menos un aminoácido sustituido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene al menos una propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de dominio de traslocación de toxina clostridial (tabla 1). Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, tamaño similar, topografía, carga, hidrofobicidad, hidrofiliidad, lipofiliidad, capacidad de formar enlace covalente, capacidad de formar enlace de hidrógeno, una propiedad fisicoquímica, o similares, o cualquier combinación de las mismas. Una variante conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/A, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/B, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/C1, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/D, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/E, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/F, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/G, variantes conservadoras de dominio de traslocación de TeNT, variantes conservadoras de dominio de traslocación de BaNT y variantes conservadoras de dominio de traslocación de BuNT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial" se refiere a un dominio de traslocación de toxina clostridial en el que 1) se elimina al menos un aminoácido del dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial; 2) se añade al menos un aminoácido al dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial; o 3) se sustituye al menos un aminoácido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que no comparte ninguna propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de dominio de traslocación de toxina clostridial (tabla 1). Una variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de traslocación de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/A, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/B, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/C1, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/D, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/E, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/F, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BoNT/G, y variantes no conservadoras de dominio de traslocación de TeNT, variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BaNT y variantes no conservadoras de dominio de traslocación de BuNT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "fragmento activo de dominio de traslocación de toxina clostridial" se refiere a cualquiera de una variedad de fragmentos de toxina clostridial que comprenden el dominio de traslocación que pueden ser útiles en aspectos de la presente memoria descriptiva con la condición de que estos fragmentos activos puedan facilitar la liberación de la LC de las vesículas intracelulares al citoplasma de la célula diana y así participar en la ejecución del mecanismo celular completo por el que una toxina clostridial escinde de forma proteolítica un sustrato. Los dominios de traslocación de las cadenas pesadas de las toxinas clostridiales tienen aproximadamente 410-430 aminoácidos de longitud y comprenden un dominio de traslocación (tabla 1). La investigación ha mostrado que no es necesaria la longitud entera de un dominio de traslocación de una cadena pesada de toxina clostridial para la actividad de traslocación del dominio de traslocación. Por lo tanto, aspectos de esta invención incluyen un dominio de traslocación de toxina clostridial que tiene una longitud de, p. ej., al menos 350, 375, 400 o 425 aminoácidos. Otros

aspectos de esta realización incluyen un dominio de traslocación de toxina clostridial que tiene una longitud de, p. ej., como máximo 350, 375, 400 o 425 aminoácidos.

Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos de alineamiento para determinar el porcentaje de identidad de variantes naturales de dominio de traslocación de toxina clostridial y variantes no naturales de dominio de traslocación de toxina clostridial, incluyendo, sin limitación, métodos globales, métodos locales y métodos híbridos, tal como, p. ej., métodos de aproximación de segmentos. Los protocolos para determinar el porcentaje de identidad son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva comprende un dominio de traslocación de toxina clostridial. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un variante natural de dominio de traslocación de toxina clostridial, tal como, p. ej., una isoforma de dominio de traslocación de toxina clostridial o un subtipo de dominio de traslocación de toxina clostridial. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende una variante no natural de dominio de traslocación de toxina clostridial, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial, una variante no conservadora de dominio de traslocación de toxina clostridial, un fragmento activo de dominio de traslocación de toxina clostridial o cualquier combinación de los mismos.

En otra realización, un aminoácido hidrófobo en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido hidrófobo. Los ejemplos de aminoácidos hidrófobos incluyen, p. ej., C, F, I, L, M, V y W. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido alifático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido alifático. Los ejemplos de aminoácidos alifáticos incluyen, p. ej., A, I, L, P y V. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido aromático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido aromático. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido de apilamiento en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido de apilamiento. Los ejemplos de aminoácidos de apilamientos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido polar en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido polar. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen, p. ej., D, E, K, N, Q y R. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido menos polar o indiferente en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido menos polar o indiferente. Los ejemplos de aminoácidos menos polares o indiferentes incluyen, p. ej., A, H, G, P, S, T e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga positiva en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga positiva. Los ejemplos de aminoácidos con carga positiva incluyen, p. ej., K, R y H. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga negativa en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga negativa. Los ejemplos de aminoácidos con carga negativa incluyen, p. ej., D y E. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido pequeño en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido pequeño. Los ejemplos de aminoácidos pequeños incluyen, p. ej., A, D, G, N, P, S y T. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido ramificado en el C-beta en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de traslocación de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido ramificado en el C-beta. Los ejemplos de aminoácidos ramificados en el C-beta incluyen, p. ej., I, T y V.

En otra realización, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/A. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/A, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/A o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/A o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende los aminoácidos 455-873 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/A o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/A. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende una variante no natural BoNT/A dominio de traslocación, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/A, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/A, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro

aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende los aminoácidos 455-873 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/A, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 455-873 de la SEQ ID NO: 1.

En un aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/B. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/B, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/B o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/B o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende los aminoácidos 447-860 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/B o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/B. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/B, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/B, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/B, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende los aminoácidos 447-860 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/B, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o

SEQ ID NO: 10; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 447-860 de SEQ ID NO: 6.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 447-860 de la SEQ ID NO: 6.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/C1. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/C1, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/C1 o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/C1 o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 454-868 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/C1 o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/C1, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 454-868 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de

aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 454-868 de la SEQ ID NO: 11.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/D. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende los aminoácidos 451-864 de SEQ ID NO: 13. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/D, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/D o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/D o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende los aminoácidos 451-864 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/D de SEQ ID NO: 13, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/D o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/D. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/D, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/D, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/D, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende los aminoácidos 451-864 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/D de SEQ ID NO: 13, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/D, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o

sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 451-864 de la SEQ ID NO: 13.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/E. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/E, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/E o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/E o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende los aminoácidos 427-847 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/E o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/E. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/E, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/E, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/E, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende los aminoácidos 427-847 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/E, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 15.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/F. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende los aminoácidos 446-865 de SEQ ID NO: 18. En otro aspecto de esta

realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/F, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/F o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/F o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende los aminoácidos 446-865 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/F o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/F. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/F, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/F, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/F, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende los aminoácidos 446-865 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/F, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 446-865 de la SEQ ID NO: 18.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BoNT/G. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/G, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BoNT/G o un dominio de traslocación de un subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/G o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende los aminoácidos 451-865 de una variante natural de dominio de traslocación de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BoNT/G o un dominio de traslocación de subtipo de BoNT/G. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/G, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/G, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta

- realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/G, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta
- 5 realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende los aminoácidos 451-865 de una variante no natural de dominio de traslocación de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BoNT/G, un fragmento activo de dominio de traslocación de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos.
- 10 En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de
- 15 SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21.
- 20 En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto
- 25 al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21. En otros
- 30 aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de
- 35 BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 451-865 de la SEQ ID NO: 21.
- 40 En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de TeNT. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende los aminoácidos 468-881 de SEQ ID NO: 22. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende una variante natural de dominio de traslocación de TeNT, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de TeNT o un dominio de traslocación de un subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, un
- 45 dominio de traslocación de TeNT comprende una variante natural de dominio de traslocación de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de TeNT o un dominio de traslocación de subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende los aminoácidos 468-881 de una variante natural de dominio de traslocación de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de TeNT o un dominio de traslocación de subtipo de TeNT. En otro aspecto más de esta realización, un
- 50 dominio de traslocación de TeNT comprende una variante no natural de dominio de traslocación de TeNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de TeNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de TeNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una
- 55 variante conservadora de dominio de traslocación de TeNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de TeNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende los aminoácidos 468-881 de una variante no natural de dominio de traslocación de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de TeNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de TeNT, un fragmento
- 60 activo de dominio de traslocación de TeNT o cualquier combinación de los mismos.
- En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de
- 65 SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende un

polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 468-881 de la SEQ ID NO: 22.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BaNT. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende una variante natural de dominio de traslocación de BaNT, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BaNT o un dominio de traslocación de un subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende una variante natural de dominio de traslocación de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BaNT o un dominio de traslocación de subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende los aminoácidos 436-857 de una variante natural de dominio de traslocación de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BaNT o un dominio de traslocación de subtipo de BaNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BaNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BaNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BaNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BaNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BaNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende los aminoácidos 436-857 de una variante no natural de dominio de traslocación de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BaNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BaNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de BaNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de

esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 436-857 de la SEQ ID NO: 23.

En otro aspecto de referencia, un dominio de traslocación de toxina clostridial comprende un dominio de traslocación de BuNT. En un aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende los dominios de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende una variante natural de dominio de traslocación de BuNT, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de una isoforma de BuNT o un dominio de traslocación de un subtipo de BuNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende una variante natural de dominio de traslocación de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BuNT o un dominio de traslocación de subtipo de BuNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende los aminoácidos 427-847 de una variante natural de dominio de traslocación de BuNT de SEQ ID NO: 24, tal como, p. ej., un dominio de traslocación de isoforma de BuNT o un dominio de traslocación de subtipo de BuNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende una variante no natural de dominio de traslocación de BuNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BuNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BuNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende el dominio de traslocación de una variante no natural de dominio de traslocación de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BuNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BuNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende los aminoácidos 427-847 de una variante no natural de dominio de traslocación de BuNT de SEQ ID NO: 24, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de traslocación de BuNT, una variante no conservadora de dominio de traslocación de BuNT, un fragmento activo de dominio de traslocación de BuNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de traslocación de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de traslocación de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 427-847 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un dominio de unión. Como se usa en la presente memoria, la expresión "dominio de unión" es sinónimo de "ligando" o "resto director" y se refiere a cualquier molécula

que interaccione con preferencia con otra molécula presente en la superficie de una célula en condiciones fisiológicas. La molécula de superficie celular puede comprender un polipéptido, un polisacárido, un lípido, o puede tener características estructurales de más de uno de estos. Como se usa en la presente memoria, la expresión "interacciona con preferencia" se refiere a la molécula que es capaz de unirse a su receptor diana en condiciones fisiológicas, o en condiciones in vitro que se aproximan sustancialmente a las condiciones fisiológicas, en un grado estadísticamente significativamente mayor respecto a otro receptor no diana. En relación a un dominio de unión de toxina clostridial descrita en la presente memoria descriptiva, hay una unión discriminatoria del dominio de unión de toxina clostridial con su receptor cognado con respecto a otros receptores. En relación con un dominio de unión que no es de toxina clostridial descrito en la presente memoria descriptiva, hay una unión discriminatoria del dominio de unión que no es de toxina clostridial con su receptor cognado, con respecto a otros receptores.

Por lo tanto, en una realización, un dominio de unión que se une selectivamente a un receptor diana tiene una constante de equilibrio de disociación (K_D) que es mayor para el receptor diana con respecto a un receptor no diana en p. ej., al menos una vez, al menos dos veces, al menos tres veces, al menos cuatro veces, al menos cinco veces, al menos 10 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces, al menos 1000, al menos 10,000, o al menos 100,000 veces.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un dominio de unión de toxina clostridial. Como se usa en la presente memoria, la expresión "dominio de unión de toxina clostridial" se refiere a cualquier polipéptido de toxina que puede ejecutar la etapa de unión del proceso de intoxicación que inicial el mecanismo de internalización completo, por el cual la toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva intoxica una célula diana. Los ejemplos no limitantes de un dominio de unión de toxina clostridial incluyen, p. ej., un dominio de unión de BoNT/A, un dominio de unión de BoNT/B, un dominio de unión de BoNT/C1, un dominio de unión de BoNT/D, un dominio de unión de BoNT/E, un dominio de unión de BoNT/F, un dominio de unión de BoNT/G, un dominio de unión de TeNT, un dominio de unión de BaNT, y un dominio de unión de BuNT. Otros ejemplos no limitantes de un dominio de unión de toxina clostridial incluyen, p. ej., los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1, los aminoácidos 861-1291 de la SEQ ID NO: 2, los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 3, los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 4, los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 5, los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 6, los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 7, los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 8, los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 9, y los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 10.

Un dominio de unión de toxina clostridial incluye, sin limitación, variantes naturales de dominio de unión de toxina clostridial, tal como, p. ej., isoformas de dominio de unión de toxina clostridial y subtipos de dominio de unión de toxina clostridial; variantes no naturales de dominio de unión de toxina clostridial, tales como, p. ej., variantes conservadoras de dominio de unión de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio de unión de toxina clostridial, fragmentos activos de dominio de unión de toxina clostridial de los mismos o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante de dominio de unión de toxina clostridial," sea natural o no natural, se refiere a un dominio de unión de toxina clostridial que tiene al menos un cambio de aminoácido de la correspondiente región de las secuencias de referencia descritas (tabla 1) y se puede describir en porcentaje de identidad respecto a la correspondiente región de esa secuencia de referencia. Salvo que se indique expresamente, las variantes de dominio de unión de toxina clostridial útiles para la práctica de las realizaciones descritas son variantes que ejecutan la etapa de traslocación del proceso de intoxicación que media la traslocación de cadena ligera de toxina clostridial. Como ejemplos no limitantes, una variante de dominio de unión de BoNT/A tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1; una variante de dominio de unión de BoNT/B tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 861-1291 de la SEQ ID NO: 6; una variante de dominio de unión de BoNT/C1 tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11; una variante de dominio de unión de BoNT/D tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13; una variante de dominio de unión de BoNT/E tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15; una variante de dominio de unión de BoNT/F tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 866-1274 de SEQ ID NO: 18; una variante de dominio de unión de BoNT/G tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21; una variante de dominio de unión de TeNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22; una variante de dominio de unión de BaNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23; y una variante de dominio de unión de BuNT tendrá una diferencia de al menos un aminoácido, tal como, p. ej., una sustitución, eliminación o adición de aminoácido, comparado con los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24.

Los expertos en la técnica reconocen que dentro de cada serotipo de toxina clostridial puede haber variantes naturales de dominio de unión de toxina clostridial que difieren algo en su secuencia de aminoácidos, y también en los ácidos nucleicos que codifican esas proteínas. Por ejemplo, actualmente hay cinco subtipos de BoNT/A, BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5, con subtipos específicos de dominio de unión que muestran una identidad de aminoácidos de aproximadamente 83-97% comparado con el subtipo de dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1. Como otro ejemplo, hay actualmente cinco subtipos de BoNT/A, BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5, con subtipos específicos de dominio de unión que muestran una identidad de aminoácidos de aproximadamente 83-97% comparado con el subtipo de dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1. Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante natural de dominio de unión de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio de unión de toxina clostridial producido por un procedimiento natural, incluyendo, sin limitación, isoformas de dominio de unión de toxina clostridial producidas a partir de transcritos empalmados de forma alternativa, isoformas de dominio de unión de toxina clostridial producidas por mutación espontánea y subtipos de dominio de unión de toxina clostridial. Una variante natural de dominio de unión de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de unión de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante natural de dominio de unión de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de unión de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva.

Un ejemplo no limitante de una variante natural de dominio de unión de toxina clostridial es una isoforma de dominio de unión de toxina clostridial tal como, p. ej., una isoforma de dominio de unión de BoNT/A, una isoforma de dominio de unión de BoNT/B, una isoforma de dominio de unión de BoNT/C1, una isoforma de dominio de unión de BoNT/D, una isoforma de dominio de unión de BoNT/E, una isoforma de dominio de unión de BoNT/F, una isoforma de dominio de unión de BoNT/G, una isoforma de dominio de unión de TeNT, una isoforma de dominio de unión de BaNT, y una isoforma de dominio de unión de BuNT. Otro ejemplo no limitante de una variante natural de dominio de unión de toxina clostridial es un subtipo de dominio de unión de toxina clostridial tal como, p. ej., un dominio de unión del subtipo BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/A4 y BoNT/A5; un dominio de unión del subtipo BoNT/B1, BoNT/B2, BoNT/B bivalente y BoNT/B no proteolítico; un dominio de unión del subtipo BoNT/C1-1 y BoNT/C1-2; un dominio de unión del subtipo BoNT/E1, BoNT/E2 y BoNT/E3; y un dominio de unión del subtipo BoNT/F1, BoNT/F2, y BoNT/F3; y un dominio de unión del subtipo BuNT-1 y BuNT-2.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no natural de dominio de unión de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio de unión de toxina clostridial producido con ayuda de la manipulación humana, incluyendo, sin limitación, dominios de unión de toxina clostridial producidos por modificación genética usando mutagénesis aleatoria o diseño racional y dominios de unión de toxina clostridial producidos por síntesis química. Los ejemplos no limitantes de variantes no naturales de dominio de unión de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio de unión de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio de unión de toxina clostridial, variantes químicas de dominio de unión de toxina clostridial y fragmentos activos de dominio de unión de toxina clostridial.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante conservadora de dominio de unión de toxina clostridial" se refiere a un dominio de unión de toxina clostridial que tiene al menos un aminoácido sustituido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene al menos una propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de dominio de unión de toxina clostridial (tabla 1). Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, tamaño similar, topografía, carga, hidrofobicidad, hidrofiliicidad, lipofiliicidad, capacidad de formar enlace covalente, capacidad de formar enlace de hidrógeno, una propiedad fisicoquímica, o similares, o cualquier combinación de los mismos. Una variante conservadora de dominio de unión de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de unión de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante conservadora de dominio de unión de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de unión de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante conservadora de dominio de unión de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/A, variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/B, variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/C1, variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/D, variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/E, variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/F, variantes conservadoras de dominio de unión de BoNT/G, variantes conservadoras de dominio de unión de TeNT, variantes conservadoras de dominio de unión de BaNT y variantes conservadoras de dominio de unión de BuNT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no conservadora de dominio de unión de toxina clostridial" se refiere a un dominio de unión de toxina clostridial en el que 1) se elimina al menos un aminoácido del dominio de unión de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de unión de toxina clostridial; 2) se añade al menos un aminoácido al dominio de unión de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de unión de toxina clostridial; o 3) se sustituye al menos un aminoácido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que no comparte ninguna propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de dominio de unión de toxina clostridial (tabla 1). Una variante no conservadora de dominio de unión de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de unión de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de unión de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de unión de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante no conservadora de dominio de unión de toxina

clostridial incluyen, p. ej., variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/A, variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/B, variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/C1, variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/D, variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/E, variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/F, variantes no conservadoras de dominio de unión de BoNT/G y variantes no conservadoras de dominio de unión de TeNT, variantes no conservadoras de dominio de unión de BaNT, y variantes no conservadoras de dominio de unión de BuNT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "fragmento activo de dominio de unión de toxina clostridial" se refiere a cualquiera de una variedad de fragmentos de toxina clostridial que comprenden dominio de unión que pueden ser útiles en aspectos de la presente memoria descriptiva con la condición de que esos fragmentos activos puedan facilitar la liberación de la LC de las vesículas intracelulares al citoplasma de la célula diana, y así participar en la ejecución del mecanismo celular general por el que la toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato. Los dominios de unión de las cadenas pesadas de las toxinas clostridiales tienen aproximadamente 400-440 aminoácidos de longitud y comprenden un dominio de unión (tabla 1). La investigación ha mostrado que no es necesaria la longitud entera de un dominio de unión de una cadena pesada de toxina clostridial para la actividad de traslocación del dominio de unión. Por lo tanto, aspectos de esta realización incluyen un dominio de unión de toxina clostridial que tienen una longitud de, p. ej., al menos 350, 375, 400 o 425 aminoácidos. Otros aspectos de esta realización incluyen un dominio de unión de toxina clostridial que tienen una longitud de, p. ej., como máximo 350, 375, 400 o 425 aminoácidos.

Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos de alineamiento para determinar el porcentaje de identidad de variantes naturales de dominio de unión de toxina clostridial y variantes no naturales de dominio de unión de toxina clostridial, incluyendo, sin limitación, métodos globales, métodos locales y métodos híbridos, tal como, p. ej., métodos de aproximación de segmentos. Los protocolos para determinar el porcentaje de identidad son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva comprende un dominio de unión de toxina clostridial. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende una variante natural de dominio de unión de toxina clostridial, tal como, p. ej., una isoforma de dominio de unión de toxina clostridial o un subtipo de dominio de unión de toxina clostridial. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende una variante no natural de dominio de unión de toxina clostridial, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de toxina clostridial, una variante no conservadora de dominio de unión de toxina clostridial, un fragmento activo de dominio de unión de toxina clostridial o cualquier combinación de los mismos.

En otra realización, un aminoácido hidrófobo en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido hidrófobo. Los ejemplos de aminoácidos hidrófobos incluyen, p. ej., C, F, I, L, M, V y W. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido alifático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido alifático. Los ejemplos de aminoácidos alifáticos incluyen, p. ej., A, I, L, P y V. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido aromático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido aromático. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido de apilamiento en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido de apilamiento. Los ejemplos de aminoácidos de apilamientos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido polar en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido polar. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen, p. ej., D, E, K, N, Q y R. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido menos polar o indiferente en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido menos polar o indiferente. Los ejemplos de aminoácidos menos polares o indiferentes incluyen, p. ej., A, H, G, P, S, T e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga positiva en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga positiva. Los ejemplos de aminoácidos con carga positiva incluyen, p. ej., K, R y H. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga negativa en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga negativa. Los ejemplos de aminoácidos con carga negativa incluyen, p. ej., D y E. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido pequeño en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido pequeño. Los ejemplos de aminoácidos pequeños incluyen, p. ej., A, D, G, N, P, S y T. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido ramificado en el C-beta en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido ramificado en el C-beta. Los ejemplos de aminoácidos ramificados en el C-beta incluyen, p. ej., I, T y V.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/A. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/A, tal como, p. ej., un dominio de

unión de una isoforma de BoNT/A o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/A o un dominio de unión de subtipo de BoNT/A. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende los aminoácidos 874-1296 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/A o un dominio de unión de subtipo de BoNT/A. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/A, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/A, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/A, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende los aminoácidos 874-1296 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/A de SEQ ID NO: 1, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/A, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/A, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/A o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/A comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 874-1296 de la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/B. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende los aminoácidos 861-1291 de la SEQ ID NO: 6. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/B, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BoNT/B o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/B o un dominio de unión de subtipo de BoNT/B. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende los aminoácidos 861-1291 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/B o un dominio de unión de subtipo de BoNT/B. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/B, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/B, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ

ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/B, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende los aminoácidos 861-1291 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/B de SEQ ID NO: 6, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/B, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/B, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/B o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 861-1291 de SEQ ID NO: 6; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 861-1291 de la SEQ ID NO: 6.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 861-1291 de SEQ ID NO: 6; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 861-1291 de SEQ ID NO: 6. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/B comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 861-1291 de la SEQ ID NO: 6; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 861-1291 de la SEQ ID NO: 6.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/C1. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/C1, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BoNT/C1 o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/C1 o un dominio de unión de subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 869-1291 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/C1 o un dominio de unión de subtipo de BoNT/C1. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/C1, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende los aminoácidos 869-1291 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/C1 de SEQ ID NO: 11, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/C1, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/C1, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/C1 o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión

de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/C1 comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 869-1291 de la SEQ ID NO: 11.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/D. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende los dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/D, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BoNT/D o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/D o un dominio de unión de subtipo de BoNT/D. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende los aminoácidos 865-1291 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/D de SEQ ID NO: 13, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/D o un dominio de unión de subtipo de BoNT/D. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/D, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/D, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/D de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/D, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende los aminoácidos 865-1291 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/D de SEQ ID NO: 13, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/D, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/D, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/D o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13. En

otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/D comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 865-1291 de la SEQ ID NO: 13.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/E. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende los dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/E, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BoNT/E o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/E o un dominio de unión de subtipo de BoNT/E. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende los aminoácidos 848-1252 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/E o un dominio de unión de subtipo de BoNT/E. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/E, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/E, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/E, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende los aminoácidos 848-1252 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/E de SEQ ID NO: 15, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/E, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/E, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/E o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/E comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1252 de la SEQ ID NO: 15.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/F. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende los dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende los

aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/F, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BoNT/F o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/F o un dominio de unión de subtipo de BoNT/F. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende los aminoácidos 866-1274 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/F o un dominio de unión de subtipo de BoNT/F. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/F, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/F, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/F, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende los aminoácidos 866-1274 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/F de SEQ ID NO: 18, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/F, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/F, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/F o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/F comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1274 de la SEQ ID NO: 18.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BoNT/G. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende los aminoácidos 866-1297 de SEQ ID NO: 21. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/G, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BoNT/G o un dominio de unión de un subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende una variante natural de dominio de unión de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/G o un dominio de unión de subtipo de BoNT/G. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende los aminoácidos 866-1297 de una variante natural de dominio de unión de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BoNT/G o un dominio de unión de subtipo de BoNT/G. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende una variante no natural de dominio de unión de BoNT/G, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/G, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/G,

un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende los aminoácidos 866-1297 de una variante no natural de dominio de unión de BoNT/G de SEQ ID NO: 21, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BoNT/G, una variante no conservadora de dominio de unión de BoNT/G, un fragmento activo de dominio de unión de BoNT/G o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 21. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BoNT/G comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 866-1297 de la SEQ ID NO: 21.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de TeNT. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende una variante natural de dominio de unión de TeNT, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de TeNT o un dominio de unión de un subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende una variante natural de dominio de unión de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de TeNT o un dominio de unión de subtipo de TeNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende los aminoácidos 882-1315 de una variante natural de dominio de unión de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de TeNT o un dominio de unión de subtipo de TeNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende una variante no natural de dominio de unión de TeNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de TeNT, una variante no conservadora de dominio de unión de TeNT, un fragmento activo de dominio de unión de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de TeNT de SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de TeNT, una variante no conservadora de dominio de unión de TeNT, un fragmento activo de dominio de unión de TeNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende los aminoácidos 882-1315 de una variante no natural de dominio de unión de TeNT de la SEQ ID NO: 22, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de TeNT, una variante no conservadora de dominio de unión de TeNT, un fragmento activo de dominio de unión de TeNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 22. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de TeNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 882-1315 de la SEQ ID NO: 22.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BaNT. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende una variante natural de dominio de unión de BaNT, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BaNT o un dominio de unión de un subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende una variante natural de dominio de unión de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BaNT o un dominio de unión de subtipo de BaNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende los aminoácidos 858-1268 de una variante natural de dominio de unión de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BaNT o un dominio de unión de subtipo de BaNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende una variante no natural de dominio de unión de BaNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BaNT, una variante no conservadora de dominio de unión de BaNT, un fragmento activo de dominio de unión de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BaNT, una variante no conservadora de dominio de unión de BaNT, un fragmento activo de dominio de unión de BaNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende los aminoácidos 858-1268 de una variante no natural de dominio de unión de BaNT de SEQ ID NO: 23, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BaNT, una variante no conservadora de dominio de unión de BaNT, un fragmento activo de dominio de unión de BaNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 23. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BaNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100

eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 858-1268 de la SEQ ID NO: 23.

En otra realización, un dominio de unión de toxina clostridial comprende un dominio de unión de BuNT. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende los dominios de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende los aminoácidos 848-1251 de SEQ ID NO: 24. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende una variante natural de dominio de unión de BuNT, tal como, p. ej., un dominio de unión de una isoforma de BuNT o un dominio de unión de un subtipo de BuNT. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende una variante natural de dominio de unión de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., un dominio de unión de isoforma de BuNT o un dominio de unión de subtipo de BuNT. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende una variante no natural de dominio de unión de BuNT, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BuNT, una variante no conservadora de dominio de unión de BuNT, un fragmento activo de dominio de unión de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende el dominio de unión de una variante no natural de dominio de unión de BuNT de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BuNT, una variante no conservadora de dominio de unión de BuNT, un fragmento activo de dominio de unión de BuNT o cualquier combinación de los mismos. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende los aminoácidos 848-1251 de una variante no natural de dominio de unión de BuNT de SEQ ID NO: 24, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión de BuNT, una variante no conservadora de dominio de unión de BuNT, un fragmento activo de dominio de unión de BuNT o cualquier combinación de los mismos.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% respecto a los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto al dominio de unión de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25. En otros aspectos adicionales de esta realización, un dominio de unión de BuNT comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a los aminoácidos 848-1251 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un dominio de unión que no es de toxina clostridial. Como se usa en la presente memoria, la expresión "dominio de unión que no es de toxina clostridial" se refiere a cualquier polipéptido que puede ejecutar la etapa de unión del proceso de intoxicación que inicia el mecanismo de internalización completo de modo que la toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva intoxica una célula diana. Los ejemplos de dominios de unión se describen, p. ej., en Keith A. Foster et al., *Clostridial Toxin Derivatives Able To Modify Peripheral Sensory Afferent Functions*, patente de EE.UU. 5,989,545; Clifford C. Shone et al., *Recombinant Toxin Fragments*, patente de EE.UU. 6,461,617; Conrad P. Quinn et al., *Methods and Compounds for the Treatment of Mucus Hypersecretion*, patente de EE.UU. 6,632,440; Lance E. Steward et al., *Methods And Compositions For The Treatment Of Pancreatitis*, patente de EE.UU. 6,843,998; J. Oliver Dolly et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, patente de EE.UU. 7,132,259; Stephan Donovan, *Clostridial Toxin Derivatives and Methods For Treating Pain*, publicación de patente de EE.UU. 2002/0037833; Keith A. Foster et al., *Inhibition of*

Secretion from Non-neural Cells, publicación de patente de EE.UU. 2003/0180289; Lance E. Steward et al., *Multivalent Clostridial Toxin Derivatives and Methods of Their Use*, publicación de patente de EE.UU. 2006/0211619; Keith A. Foster et al., *Non-Cytotoxic Protein Conjugates*, publicación de patente de EE.UU. 2008/0187960; Steward, L.E. et al., *Modified Clostridial Toxins with Enhanced Translocation Capabilities and Altered Targeting Activity For Non-Clostridial Toxin Target Cells*, solicitud de patente de EE.UU. nº 11/776,075; Keith A. Foster et al., *Re-targeted Toxin Conjugates*, solicitud de patente de EE.UU. nº 11/792,210, cada una de las cuales se incorpora por referencia en su totalidad.

Un dominio de unión que no es de toxina clostridial incluye, sin limitación, variantes naturales de dominio de unión que no es de toxina clostridial, tal como, p. ej., isoformas de dominio de unión que no es de toxina clostridial y subtipos de dominio de unión que no es de toxina clostridial; y variantes no naturales de dominio de unión que no es de toxina clostridial, tal como, p. ej., variantes conservadoras de dominio de unión que no es de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio de unión que no es de toxina clostridial, quimeras de dominio de unión de que no es de toxina clostridial, fragmentos activos de dominio de unión que no es de toxina clostridial de los mismos o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante de dominio de unión que no es de toxina clostridial," sea natural o no natural, se refiere a un dominio de unión que no es de toxina clostridial que tiene al menos un cambio de aminoácido de la correspondiente región de las secuencias de referencia y se puede describir en porcentaje de identidad respecto a la correspondiente región de esa secuencia de referencia. Salvo que se indique expresamente, las variantes de dominio de unión que no es de toxina clostridial útiles para la práctica de las realizaciones descritas son variantes que ejecutan la etapa de unión del proceso de intoxicación.

Los expertos en la técnica reconocen que dentro de cada dominio de unión que no es de toxina clostridial puede haber variantes naturales que difieren algo en su secuencia de aminoácidos y también en los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas. Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio de unión que no es de toxina clostridial producido por un proceso natural que incluye, sin limitación, isoformas de dominio de unión que no es de toxina clostridial producidas por transcritos de empalme alternativo e isoformas de dominio de unión que no es de toxina clostridial producidas por mutación espontánea. Una variante natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Un ejemplo no limitante de una variante natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial es una isoforma de dominio de unión que no es de toxina clostridial. Los ejemplos no limitantes de una isoforma de dominio de unión que no es de toxina clostridial incluyen, p. ej., isoformas de dominio de unión de opiáceo, isoformas de dominio de unión de taquiquinina, isoformas de dominio de unión de melanocortina, isoformas de dominio de unión de galanina, isoformas de dominio de unión de granina, isoformas de dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y, isoformas de dominio de unión de neurohormona, isoformas de dominio de unión de citoquina neuroreguladora, isoformas de dominio de unión de quinina, isoformas de dominio de unión de factor de crecimiento, e isoformas de dominio de unión de hormona similar a glucagón.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial" se refiere a cualquier dominio de unión que no es de toxina clostridial producido con ayuda de la manipulación humana, incluyendo, sin limitación, dominios de unión que no son de toxina clostridial producidos por modificación genética usando mutagénesis aleatoria o diseño racional y dominios de unión que no son de toxina clostridial producidos por síntesis química. Los ejemplos no limitantes de variantes no naturales de dominio de unión que no es de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio de unión que no es de toxina clostridial, variantes no conservadoras de dominio de unión que no es de toxina clostridial, variantes químicas de dominio de unión que no es de toxina clostridial y fragmentos activos de dominio de unión que no es de toxina clostridial.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial" se refiere a un dominio de unión que no es de toxina clostridial que tiene al menos un aminoácido sustituido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene al menos una propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de dominio de unión que no es de toxina clostridial. Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, tamaño similar, topografía, carga, hidrofobicidad, hidrofiliidad, lipofiliidad, capacidad de formar enlace covalente, capacidad de formar enlace de hidrógeno, una propiedad fisicoquímica, o similares, o cualquier combinación de los mismos. Una variante conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes conservadoras de dominio de unión de opiáceo, variantes conservadoras de dominio de unión de taquiquinina, variantes conservadoras de dominio de unión de melanocortina, variantes conservadoras de dominio de unión de galanina, variantes conservadoras de dominio de unión de granina, variantes conservadoras de dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y, variantes conservadoras de dominio

de unión de neurohormona, variantes conservadoras de dominio de unión de citoquina neuroreguladora, variantes conservadoras de dominio de unión de quinina, variantes conservadoras de dominio de unión de factor de crecimiento y variantes de dominio de unión de hormona similar a glucagón.

5 Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial" se refiere a un dominio de unión que no es de toxina clostridial en el que 1) se elimina al menos un aminoácido del dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial; 2) se añade al menos un aminoácido al dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial; o 3) se sustituye al menos un aminoácido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que no comparte ninguna propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de dominio de unión que no es de toxina clostridial. Una variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en el que se basa la variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial, y puede sustituir al dominio de unión que no es de toxina clostridial de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial incluyen, p. ej., variantes no conservadoras de dominio de unión de opiáceo, variantes no conservadoras de dominio de unión de taquiquinina, variantes no conservadoras de dominio de unión de melanocortina, variantes no conservadoras de dominio de unión de galanina, variantes no conservadoras de dominio de unión de granina, variantes no conservadoras de dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y, variantes no conservadoras de dominio de unión de neurohormona, variantes no conservadoras de dominio de unión de citoquina neuroreguladora, variantes no conservadoras de dominio de unión de quinina, variantes no conservadoras de dominio de unión de factor de crecimiento y variantes no de dominio de unión de hormona similar a glucagón.

25 Como se usa en la presente memoria, la expresión "fragmento activo de dominio de unión que no es de toxina clostridial" se refiere a cualquiera de una variedad de fragmentos de toxina clostridial que comprenden el dominio de unión que pueden ser útiles en aspectos de la presente memoria descriptiva con la condición de que esos fragmentos de dominios de unión puedan interaccionar de forma preferente con el receptor cognado, y por lo tanto participar en la ejecución del mecanismo celular completo por el que una toxina clostridial escinde proteolíticamente un sustrato.

30 Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos de alineamiento para determinar el porcentaje de identidad de variantes naturales de dominio de unión de toxina clostridial y variantes no naturales de dominio de unión de toxina clostridial, incluyendo, sin limitación, métodos globales, métodos locales y métodos híbridos, tal como, p. ej., métodos de aproximación de segmentos. Los protocolos para determinar el porcentaje de identidad son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

40 Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva comprende un dominio de unión que no es de toxina clostridial. En un aspecto de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende una variante natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial, tal como, p. ej., una isoforma de dominio de unión que no es de toxina clostridial. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende una variante no natural de dominio de unión que no es de toxina clostridial, tal como, p. ej., una variante conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial, una variante no conservadora de dominio de unión que no es de toxina clostridial, un fragmento activo de dominio de unión que no es de toxina clostridial o cualquier combinación de los mismos.

45 En otra realización, un aminoácido hidrófobo en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido hidrófobo. Los ejemplos de aminoácidos hidrófobos incluyen, p. ej., C, F, I, L, M, V y W. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido alifático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido alifático. Los ejemplos de aminoácidos alifáticos incluyen, p. ej., A, I, L, P y V. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido aromático en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido aromático. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido de apilamiento en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido de apilamiento. Los ejemplos de aminoácidos de apilamientos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido polar en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido polar. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen, p. ej., D, E, K, N, Q y R. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido menos polar o indiferente en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido menos polar o indiferente. Los ejemplos de aminoácidos menos polares o indiferentes incluyen, p. ej., A, H, G, P, S, T e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga positiva en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido con carga positiva. Los ejemplos de aminoácidos con carga positiva incluyen, p. ej., K, R y H. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga negativa en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro

aminoácido con carga negativa. Los ejemplos de aminoácidos con carga negativa incluyen, p. ej., D y E. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido pequeño en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido pequeño. Los ejemplos de aminoácidos pequeños incluyen, p. ej., A, D, G, N, P, S y T. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido ramificado en el C-beta en una posición particular en la cadena de polipéptido del dominio de unión que no es de toxina clostridial se puede sustituir por otro aminoácido ramificado en el C-beta. Los ejemplos de aminoácidos ramificados en el C-beta incluyen, p. ej., I, T y V.

En otra realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de opiáceo, tal como, p. ej., una encefalina, una endomorfinina, una endorfinina, una dinorfinina, una nociceptina o una hemorfinina. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de taquiquinina, tal como, p. ej., una sustancia P, un neuropéptido K (NPK), un neuropéptido gamma (NP gamma), una neuroquinina A (NKA); sustancia K, neuroquinina alfa, neuromedina L), una neuroquinina B (NKB), una hemoquinina o una endoquinina. En otro aspecto más de esta realización, una toxina no clostridial comprende un dominio de unión de melanocortina, tal como, p. ej., una hormona estimuladora de melanocitos, adrenocorticotropina o una lipotropina. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de galanina, tal como, p. ej., una galanina o un péptido asociado a mensaje de galanina. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de granina, tal como, p. ej., una cromogranina A, una cromogranina B o una cromogranina C. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y, tal como, p. ej., un neuropéptido Y, un péptido YY, péptido pancreático o un eicosapéptido pancreático. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de neurohormona, tal como, p. ej., una hormona liberadora de corticotropina, una hormona paratiroidea, una hormona liberadora de tirotrina o una somatostatina. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de citoquina neuroreguladora, tal como, p. ej., un factor neurotrófico ciliar, una glicoforina-A, un factor inhibidor de leucemia, un factor de diferenciación colinérgico, una interleuquina, una onostatina M, una cardiotrofina-1, una citoquina similar a cardiotrofina o una neuroleuquina. En otro aspecto más de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de péptido quinina, tal como, p. ej., una bradiquinina, una calidina, una desArg9 bradiquinina o una desArg10 bradiquinina. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de factor de crecimiento, tal como, p. ej., un dominio de unión de factor de crecimiento de fibroblasto, un dominio de unión de factor de crecimiento de nervios, un dominio de unión de factor de crecimiento insulínico, un dominio de unión de factor de crecimiento epidérmico, un dominio de unión de factor de crecimiento endotelial vascular, un dominio de unión de factor neurotrófico derivado del cerebro, un dominio de unión de factor neurotrófico derivado de crecimiento, un dominio de unión de neurotrofina, tal como, p. ej., una neurotrofina-3, una neurotrofina-4/5, un dominio de unión de péptido activador de cabeza, un dominio de unión de neurturina, un dominio de unión de persefrina, un dominio de unión de artemina, un dominio de unión de factor de crecimiento transformante β , tal como, p. ej., un TGF β 1, un TGF β 2, un TGF β 3 o un TGF β 4, un dominio de unión de proteína morfogénica ósea, tal como, p. ej., una BMP2, una BMP3, una BMP4, una BMP5, una BMP6, una BMP7, una BMP8 o una BMP10, un dominio de unión de factor de diferenciación de crecimiento, tal como, p. ej., un GDF1, un GDF2, un GDF3, un GDF5, un GDF6, un GDF7, un GDF8, un GDF10, un GDF11 o un GDF15 o un dominio de unión de activina, tal como, p. ej., una activina A, una activina B, una activina C, una activina E o una inhibina A. En otro aspecto de esta realización, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de hormona similar al glucagón, tal como, p. ej., una secretina, un péptido similar al glucagón, como un GLP-1 y un GLP-2, un dominio de unión de péptido activador de adenilato ciclasa de pituitaria, un dominio de unión de hormona liberadora de hormona de crecimiento, un dominio de unión de péptido intestinal vasoactivo como un VIP1 o un VIP2, un dominio de unión de polipéptido inhibidor gástrico, un dominio de unión de péptido intestinal visceral relacionado con calcitonina, como una gastrina, un péptido liberador de gastrina o una colecistoquinina, o un dominio de unión de péptido PAR como un péptido PAR1, un péptido PAR2, un péptido PAR3 o un péptido PAR4.

En otra realización, un péptido opiáceo comprende un péptido encefalina. En aspectos de esta realización un péptido encefalina comprende una Leu-encefalina, una Met-encefalina, una Met-encefalina MRGL o una Met-encefalina MRF. En otros aspectos de esta realización, un péptido encefalina comprende la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 29.

En otros aspectos de esta realización, una encefalina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 29; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% respecto a la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 29. En otros aspectos más de esta realización, una encefalina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 29; o como máximo 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 29. En otros aspectos más de esta realización, una encefalina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 29; o como máximo 1, 2 o 3

de esta realización, una endomorfinas comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 36 o SEQ ID NO: 37; o como máximo 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 36 o SEQ ID NO: 37. En otros aspectos más de esta realización, una endomorfinas comprende un polipéptido que

5 tiene, p. ej., al menos 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 36 o SEQ ID NO: 37; o como máximo 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 36 o SEQ ID NO: 37.

10 En otra realización, un péptido opiáceo comprende un péptido endorfina. En aspectos de esta realización, un péptido endorfina comprende una endorfina- α , una neoendorfina- α , una endorfina- β , una neoendorfina- β o una endorfina- γ . En otros aspectos de esta realización, un péptido endorfina comprende la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43.

15 En otros aspectos de esta realización, una endorfina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43. En otros aspectos más de esta realización, una endorfina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43; o como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43. En otros aspectos más de esta realización, una endorfina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43; o como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43.

30 En otra realización, un péptido opiáceo comprende un péptido dinorfina. En aspectos de esta realización, un péptido dinorfina péptido comprende una dinorfina A, una dinorfina B (leumorfina) o una rimorfina. En otros aspectos de esta realización, un péptido dinorfina comprende la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 o SEQ ID NO: 74.

40 En otros aspectos de esta realización, una dinorfina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 69; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 69. En otros aspectos más de esta realización, una dinorfina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 69; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 69. En otros aspectos más de esta realización, una dinorfina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 69; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 69.

55 En otra realización, un péptido opiáceo comprende un péptido nociceptina. En aspectos de esta realización, un péptido nociceptina comprende una nociceptina RK, una nociceptina, un neuropéptido 1, un neuropéptido 2 o un neuropéptido 3. En otros aspectos de esta realización, un péptido nociceptina comprende la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 84.

60 En otros aspectos de esta realización, una nociceptina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 84; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 84. En otros aspectos más de esta realización, una nociceptina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto

a la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 84; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 84. En otros aspectos más de esta realización, una nociceptina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 84.

En otra realización, un péptido opiáceo comprende un péptido hemorfina. En aspectos de esta realización, un péptido hemorfina comprende un LVVH7, un VVH7, un VH7, un H7, un LVVH6, un LVVH5, un VVH5, un LVVH4, y un LVVH3. En otros aspectos de esta realización, un péptido hemorfina comprende la SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 o SEQ ID NO: 93.

En otros aspectos de esta realización, una hemorfina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 o SEQ ID NO: 93; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con la SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 o SEQ ID NO: 93. En otros aspectos más de esta realización, una nociceptina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 o SEQ ID NO: 93; o como máximo 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 o SEQ ID NO: 93. En otros aspectos más de esta realización, una nociceptina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2 o 3 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 o SEQ ID NO: 93.

En otra realización más, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de péptido galanina. En aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido galanina comprende un galanina o un péptido asociado a mensaje de galanina (GMAP). En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido galanina comprende la SEQ ID NO: 94 o SEQ ID NO: 95.

En otros aspectos de esta realización, dominio de unión de galanina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 94 o SEQ ID NO: 95; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con la SEQ ID NO: 94 o SEQ ID NO: 95. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de galanina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 94 o SEQ ID NO: 95. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de galanina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 94 o SEQ ID NO: 95.

En otra realización más, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de péptido taquiquinina. En aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido taquiquinina comprende una sustancia P, un neuropéptido K (NPK), un neuropéptido gamma (NP gamma), una neuroquinina A (NKA); sustancia K, neuroquinina alfa, neuromedina L, una neuroquinina B (NKB), una hemoquinina o una endoquinina. En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido taquiquinina comprende la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido taquiquinina comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como

máximo 95% con la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de péptido taquiquinina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107; o como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de péptido taquiquinina comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107; o como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107.

En otra realización más, un dominio de unión que no es de toxina clostridial comprende un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y. En aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y comprende un neuropéptido Y (NPY), un péptido YY (PYY), péptido pancreático (PP) o un eicosapéptido pancreático (PIP). En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y comprende la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112.

En otros aspectos de esta realización, un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y comprende un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de, p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% con la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112; o como máximo 70%, como máximo 75%, como máximo 80%, como máximo 85%, como máximo 90% o como máximo 95% con la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos no contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112. En otros aspectos más de esta realización, un dominio de unión de péptido relacionado con neuropéptido Y comprende un polipéptido que tiene, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de aminoácidos contiguos con respecto a la SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 o SEQ ID NO: 112.

Está contemplado que una toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender un dominio de unión que no es de toxina clostridial en todas y cada una de las posiciones con la condición de que la toxina clostridial quimérica puede realizar el proceso de intoxicación. Los ejemplos no limitantes incluyen, situar un dominio de unión no clostridial en el extremo amino de una toxina clostridial modificada; situar un dominio de unión no clostridial entre un dominio enzimático de toxina clostridial y un dominio de traslocación de una toxina clostridial modificada; y situar un dominio de unión no clostridial en el extremo carboxilo de una toxina clostridial modificada. Otros ejemplos no limitantes incluyen, situar un dominio de unión no clostridial entre un dominio enzimático de toxina clostridial y un dominio de traslocación de toxina clostridial de una toxina clostridial modificada. El dominio enzimático de las toxinas clostridiales naturales contiene la metionina de inicio nativa. Por lo tanto, en organizaciones de dominios donde el dominio enzimático no está en la posición amino terminal, se debería poner una secuencia de aminoácidos que comprende la metionina de inicio en frente del dominio amino terminal. Igualmente, donde un dominio de unión no clostridial está en la posición amino terminal, una secuencia de aminoácidos que comprende una metionina de inicio y un sitio de escisión de proteasa se pueden unir operativamente en situaciones en las que un dominio de unión no clostridial requiere un extremo amino libre, véase, p. ej., Shengwen Li et al., *Degradable Clostridial Toxins*, solicitud de patente de EE.UU. 11/572.512 (23 de enero, 2007). Además, se sabe en la técnica que cuando se añade un polipéptido que está operativamente unido al extremo amino de otro polipéptido que comprende la metionina de inicio, se puede suprimir el resto de metionina original.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo, que comprende un dominio de unión no clostridial, un dominio de traslocación, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio enzimático (figura 3A). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo, que comprende un dominio de unión no clostridial, un dominio de traslocación de toxina clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio enzimático de toxina clostridial.

En otra realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo, que comprende un dominio de unión no clostridial, un dominio enzimático, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio de traslocación (figura 3B). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo, que comprende un dominio de unión no clostridial, un dominio enzimático de toxina clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio de traslocación de toxina clostridial.

En otra realización más, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio de unión no clostridial, y un dominio de traslocación (figura 4A). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio de unión no clostridial, y un dominio de traslocación de toxina clostridial.

En otra realización más, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio de traslocación, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio de unión no clostridial, y un dominio enzimático (figura 4B). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio de traslocación de toxina clostridial, un dominio de unión no clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio enzimático de toxina clostridial.

En otra realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático, un dominio de unión no clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno, y un dominio de traslocación (figura 4C). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un dominio de unión no clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio de traslocación de toxina clostridial.

En otra realización más, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio de traslocación, un dominio de unión no clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio enzimático (figura 4D). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio de traslocación de toxina clostridial, un dominio de unión no clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio enzimático de toxina clostridial.

En otra realización más, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio de traslocación, y un dominio de unión no clostridial (figura 5A). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio de traslocación de toxina clostridial, y un dominio de unión no clostridial.

En otra realización más, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio de traslocación, un sitio de escisión de proteasa exógeno, un dominio enzimático y un dominio de unión no clostridial, (figura 5B). En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender un orden lineal de un solo polipéptido de amino a carboxilo que comprende un dominio de traslocación de toxina clostridial, un dominio de unión no clostridial, un sitio de escisión de proteasa exógeno y un dominio enzimático de toxina clostridial.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de inactivación" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis selectiva en el enlace escindible por una proteasa presente en fluidos intersticiales o sistemas circulatorios, tal como, p. ej. el sistema cardiovascular o el sistema linfático. Dicho sitio de escisión de inactivación está operativamente unido como una proteína de fusión a una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. Por definición, un sitio de escisión de inactivación es susceptible de escisión selectiva por al menos una proteasa presente en fluidos intersticiales o sistemas circulatorios. Los ejemplos no limitantes de sitios de escisión de inactivación incluyen sitios de escisión de trombina, sitios de escisión de plasmina, sitios de escisión de factor de coagulación VIIa, sitios de escisión de factor de coagulación IXa, sitios de escisión de factor de coagulación Xa, sitios de escisión de factor de coagulación XIa, sitios de escisión de factor de coagulación XIIa, sitios de escisión de calicreína plasmática, sitios de escisión de receptor 1 acoplado a proteína G activada por proteasa (PAR1), sitios de escisión de PAR 2, sitios de escisión de PAR3, sitios de escisión de PAR4, sitios de escisión de metaloproteasa de matriz-2 (MMP-2), sitios de escisión de metaloproteasa de matriz-9 (MMP-9), sitios de escisión de furina, sitios de escisión de activador de plasminógeno tipo uroquinasa (uPA), sitios de escisión de activador de plasminógeno tipo tisular (tPA), sitios de escisión de tripsina-E, sitios de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón (mMCP-7), sitios de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina (ECE-1), sitios de escisión de grupo sanguíneo Kell, sitios de escisión de DPPIV, sitios

de escisión de metalopeptidasa ADAM con trombospondina tipo 1, motivo 13 (ADAMTS13), y sitios de escisión de catepsina L (tabla 4). El sitio de escisión de inactivación de la invención comprende un sitio doble de trombina-trombina.

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
Trombina	LVPR*GS	114
	LVPK*GS	115
	FIPR*TF	116
	VLPR*SF	117
	IVPR*SF	118
	IVPR*GY	119
	VVPR*GV	120
	VLPR*LI	121
	VMPR*SL	122
	MFPR*SL	123
Factor de coagulación VIIa (FVIIA)	KLTR*AETV	125
	DFTR*VVGG	126
	LSPR*TFHP	127
	LIQR*NLSP	128
	MATR*KMHD	129
	LGIR*SFRN	130
	PQGR*IVGG	131
	NLTR*IVGG	132
	QVVR*IVGG	133
Factor de coagulación IXa (FIXa)	PQGR*IVGG	135
	PQLR*MKNN	136
	NLTR*IVGG	137
	QVVR*IVGG	138
Factor de coagulación Xa (FXa)	IDGR*	140
	IEGR*	141
	IDGR*SVGG	142
	IDGR*TVGG	143
	IDGR*IVGG	144
	IEGR*SVGG	145
	IEGR*TVGG	146
	IEGR*IVGG	147
	PQGR*IVGG	148
	IEGR*TSER	149
	IEGR*IVEG	150
	IDGR*IVEG	151
	FNPR*TFGS	152
	FDER*TFGL	153

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	IDER*IVGG	154
	FNEK*TFGL	155
Factor de coagulación XIa (FXIa)	AFWK*TDAS	157
	KLTR*AETV	158
	KLTR*AETI	159
	DFTR*VVGG	160
	EFSR*VVGG	161
	KLTR*AETV	162
	DFTR*VVGG	163
	IKPR*IVGG	164
	DLHR*HIFW	165
	KQLR*VVNG	166
Factor de coagulación XIIa (FXIIa)	PQGR*IVGG	168
	IKPR*IVGG	169
	SMTR*VVGG	170
	TSTR*IVGG	171
	PMKR*LTLG	172
Calicreína 1	SMTR*VVGG	174
	SPFR*SSDI	175
	SLMK*RPPG	176
	YDWR*TPYL	177
	SPFR*SVQV	178
	SPFR*TPYL	179
	TFHK*AEYR	180
	PRFK*IIGG	181
	ISLM*KRPP	182
	LEAR*SAYH	183
	EAKR*SYHS	184
	PNRW*STGA	185
	EAFY*SQFG	186
	NAAR*STGA	187
	SSEW*SMPY	188
	GTLF*RSGN	189
	ARLY*SRGA	190
	EASR*SATL	191
	EASY*RRKQ	192
	TTFY*RRGA	193
	AAWY*RTSR	194
	SFHY*RMVG	195

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	ASSY*RTSR	196
	TRFY*SRGR	197
	IKFF*SAQT	198
Proteína C	KKTR*NLKK	200
	LDRR*GLQR	201
	MATR*KMHD	202
	RLKK*SQFL	203
	PQLR*MKNN	204
	VDQR*GNQI	205
	IEPR*SPSQ	206
	KKTR*SPKT	207
	LDQR*GVQR	208
	PDPR*SKNN	209
Plasminógeno	GEAR*GSVI	211
	GHAR*LVHV	212
	AEFR*HDSG	213
	HHQK*LVFF	214
	GSNK*GALL	215
	RAQR*SAGA	216
	AFWK*TDAS	217
	MSMR*VRRH	218
	RGVR*RTAS	219
	RAAR*SQCT	220
	PQSR*SVPP	221
	PYLK*VFNP	222
	LSFR*ARAY	223
	PQLR*RGWR	224
	EDNR*DSSM	225
	LSFR*ARAY	226
	FRAR*AYGF	227
	YGFR*GP GP	228
	ITFR*MNVA	229
	THEK*GRQS	230
	PRLK*ARAG	231
	PKAK*SHAP	232
	PSHK*EGPQ	233
	LFEK*KVYL	234
	ADGK*KPSS	235

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	PRFK*IIGG	236
	PQFR*IKGG	237
	PRCR*HRPH	238
	KGYR*SQRG	239
	DVAQ*FVLT	240
Metaloproteasa de matriz-2 (MMP-2)	QPVS*VKVG	242
	RGVG*IKST	243
	FVDC*LIEQ	244
	VPAG*NWVL	245
	YHAD*IYDK	246
	RACR*LAKA	247
	QGAY*QEAF	248
	DVLS*LLEK	249
	TLDD*LIMA	250
	HISS*LIKL	251
	DPNN*LLND	252
	PVQP*QQSP	253
	KPKT*ITGP	254
	VVHP*LVLL	255
	HPLV*LLSV	256
	AVAL*LIGP	257
	QPLQ*LLDA	258
	YIQG*INLV	259
	LPQE*IKAN	260
	NISD*LTAA	261
	KPRA*LTAL	262
	APSW*LLTA	263
	AVRW*LLTA	264
	AVSW*LLTA	265
	SLRR*LTAA	266
	SLSR*LTAL	267
	RYSS*LTAA	268
	SLAY*YTAL	269
	SLRY*YTAA	270
	SPAY*YTAL	271
	MHKA*LTAA	272
	LRLA*ITAL	273
Metaloproteasa de matriz-9 (MMP-9)	IPEN*FFGV	275
	MDIA*IHHP	276

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	SPSR*LFDQ	277
	SEMR*LEKD	278
	FSVN*LDVK	279
	RLFD*QFFG	280
	FFGE*HLE	281
	GLSE*MRLE	282
	SPEE*LKVK	283
	DVIE*VHGK	284
	EVHG*KHEE	285
	DEHG*FISR	286
	GEHL*LESD	287
	FHRK*YRIP	288
	GPRK*QVSG	289
	LSPF*YLRP	290
	PPSF*LRAP	291
	NPLE*NSGF	292
	VPYG*LGSP	293
	PPLK*LMHS	294
	GPEG*LRVG	295
	FMKG*LSKA	296
	VVTG*VTAV	297
	AIIG*LMVG	298
	SDLG*LTGI	299
	VPYG*LGSP	300
	GAAG*VKGD	301
	GPTG*KQGD	302
	GPSG*DQGA	303
	GPSG*FPFP	304
	GAPG*FPGP	305
	GAPG*NRGF	306
	GLRG*ERGE	307
	GPPG*SQGN	308
	GPAG*QQGA	309
	GPPG*KDGT	310
	GQPG*SPGS	311
	GSPG*YQGP	312
	GPVS*AVLT	313
	GPLG*MLSQ	314
	GPLG*MWAQ	315

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	GPQG*IFGQ	316
	LPRS*AKEL	317
	NSFG*LRFG	318
	RAIH*INAE	319
Furina	RPRR*AKRF	321
	RKKR*GLYA	322
	RERR*RKKR	323
	RKKR*GLYA	324
	RKKR*TTSA	325
	RHKR*ETLK	326
	RLKR*DVVT	327
	RMKR*EDLN	328
	RAKR*FASL	329
	RKKR*FVSS	330
	RTKR*FLSY	331
	RRAR*SVDG	332
	VFRR*DAHK	333
	VFRR*EAHK	334
	RVAR*DITM	335
	RISR*SLPQ	336
	RSRR*AATS	337
	RAKR*SPKH	338
	FWHR*GVTK	339
	AKRR*TKRD	340
	AKRR*AKRD	341
	AKQR*AKRD	342
	RDVR*GFAS	343
	RKRR*SVNP	344
	RQKR*FVLS	345
	RSKR*SLSC	346
	GSGK*SATL	348
	QRGR*SATL	349
	RGSV*ILTV	350
	PSSR*RRVN	351
	CPGR*VVGG	352
	PGAR*GRAF	353
	SSSR*GPTH	354
	VSNK*YFSN	355
	NSGR*AVTY	356

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
Activador de plasminógeno-u (u-PA)	TYSR*SRYL	357
	NSGR*AVTY	358
	PSGR*GRTL	359
	AGSR*AVYY	360
	TYGR*SRTN	361
	NSSR*GVYL	362
	PSSR*SVYN	363
	ASGR*GRTY	364
	TSSR*AVYL	365
	NSGR*SRTL	366
	VSGR*IRTG	367
	SSGR*IRTV	368
Activador de plasminógeno-t (t-PA)	NALR*YAPD	370
	CPGR*VVGG	371
	PQFR*IKGG	372
	ALSR*MAVL	373
Triptasa- ϵ (Prosemina)	*RVVGGE	375
	*RIVGGE	376
	*RIIGGE	377
	*RVVGGD	378
	*RIVGGD	379
	*RIIGGD	380
	*KVVGGE	381
	*KIVGGE	382
	*KIIGGE	383
	*KVVGGD	384
	*KIVGGD	385
	*KIIGGD	386
Proteasa-7 de mastocitos de ratón (mMCP-7)	LSSR*QSPG	388
	LQAR*GASL	389
	LGPK*AITM	390
	LGPR*SAVY	391
Enzima-1 convertidora de endotelina (ECE-1)	HQKL*VFFA	393
	HHQK*LVFF	394
	KLVF*FAED	395
	DRVY*IHPF	396
	YIHP*FHLV	397
	YGLG*SPRS	398
	TPEH*VVPY	399

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	DIIW*VNTP	400
	DIIW*INTP	401
	CHLD*IIVV	402
	HLDI*IIVN	403
	CVYF*CHLD	404
	SCSS*LMDK	405
	ECVY*FCHL	406
	RSKR*CSCS	407
	RSKR*ALEN	408
	GFSP*FRSS	409
	PRRP*YILP	410
	KPQQ*FFGL	411
	PQQF*FGLM	412
Proteína de grupo sanguíneo Kell (KBGP)	DIIW*VNTP	414
	DIIW*INTP	415
Catepsina L	MFLE*AIPM	417
	KVFQ*EPLF	418
	ATLT*FDHS	419
	PLFY*EAPR	420
	TGLR*DPFN	421
	KILH*LPTS	422
	AHLK*NSQE	423
	APLT*AEIQ	424
	EALF*AERK	425
	EPLA*AERK	426
	GTFT*SDYS	427
	KYLD*SRRA	428
	QDFV*QWLM	429
	KQLA*TKAA	430
	STFE*ERSY	431
	LRLE*WPYQ	432
	RGFF*YTPK	433
	GFFY*TPKA	434
	HFFK*NIVT	435
	RGLS*LSRF	436
	QWLG*APVP	437
	NMLK*RGLP	438
	LSLA*HTHQ	439
	TPFA*ATSS	440

TABLA 4. Sitios de escisión de inactivación		
Sitio de escisión de proteasa	Secuencias de referencia	SEQ ID NO:
	KLLA*VSGP	441
	QLFR*RAVL	442
	PRFK*IIGG	443
PAR1	*SFLLRN	445
	*SFFLRN	446
	*SFFLKN	447
	*TFLLRN	448
	*GFPGKF	449
	*GYPAKF	450
	*GYPLKF	451
	*GYPIKF	452
PAR2	*SLIGKV	454
	*SLIGRL	455
PAR3	*TFRGAP	457
	*SFNGGP	458
	*SFNGNE	459
PAR4	*GYPGQV	461
	*AYPGKF	462
	*TYPGKF	463
	*GYPGKY	464
	*GYPGKW	465
	*GYPGKK	466
	*GYPGKF	467
	*GYPGRF	468
	*GYPGFK	469
	*GYPAKF	470
	*GFPGKF	471
	*GFPGKP	472
	*SYPGKF	473
	*SYPAKF	474
	*SYPGRF	475
	*SYAGKF	476
	*SFPGQP	477
	*SFPGQA	478
ADAMTS13	NLVY*MVTG	479
Un asterisco (*) indica el enlace peptídico del sitio de escisión P ₁ -P _{1'} que va a ser escindido por la proteasa indicada.		

Está contemplado que un sitio de escisión de inactivación de cualquier y todas las longitudes puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva con la condición de que el sitio de escisión de inactivación sea capaz de ser escindido por una proteasa de fluido intersticial o de sistema circulatorio. Por lo tanto, en aspectos de esta realización, un sitio de escisión de inactivación puede ser de, p. ej., al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 o 20 aminoácidos de longitud.

En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de inactivación puede ser de, p. ej., como máximo 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 o 20 aminoácidos de longitud.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante natural de sitio de escisión de inactivación" se refiere a cualquier sitio de escisión de inactivación producido sin la ayuda de ninguna manipulación humana. Los ejemplos no limitantes de sitios de escisión de inactivación incluyen variantes de sitios de escisión de trombina, variantes de sitios de escisión de plasmina, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación V, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación VII, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación VIII, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación IXa, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación Xa, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación XIa, variantes de sitios de escisión de factor de coagulación XIIa, variantes de sitios de escisión de calicreína plasmática, variantes de sitios de escisión de MMP-2, variantes de sitios de escisión de MMP-9, variantes de sitios de escisión de furina, variantes de sitios de escisión de activador de plasminógeno-u, variantes de sitios de escisión de activador de plasminógeno-t, variantes de sitios de escisión de triptasa-ε, variantes de sitios de escisión de mMCP-7, variantes de sitios de escisión de ECE-1, variantes de sitios de escisión de KBGP, variantes de sitios de escisión de catepsina-L, variantes de sitios de escisión de PAR1, variantes de sitios de escisión de PAR2, variantes de sitios de escisión de PAR3, variantes de sitios de escisión de PAR4 y variantes de sitios de escisión de ADAM-TS13.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no natural de sitio de escisión de inactivación" se refiere a cualquier sitio de escisión de inactivación producido con ayuda de manipulación humana, incluyendo sin limitación, variantes de sitios de escisión de inactivación producidas por modificación genética usando mutagénesis aleatoria o diseño racional y variantes de sitios de escisión de inactivación producidas por síntesis química. Los ejemplos no limitantes de variantes no naturales de sitios de escisión de inactivación incluyen, p. ej., variantes conservadoras de sitios de escisión de inactivación, variantes no conservadoras de sitios de escisión de inactivación y peptidomiméticos de sitios de escisión de inactivación.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante conservadora de sitio de escisión de inactivación" se refiere a un sitio de escisión de inactivación que tiene al menos un aminoácido sustituido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que tiene al menos una propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia del sitio de escisión de inactivación. Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, tamaño similar, topografía, carga, hidrofobicidad, hidrofiliidad, lipofiliidad, capacidad de formar enlace covalente, capacidad de formar enlace de hidrógeno, una propiedad fisicoquímica, o similares, o cualquier combinación de los mismos. Una variante conservadora de sitio de escisión de inactivación puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el sitio de escisión de inactivación de referencia en el que se basa la variante conservadora de sitio de escisión de inactivación, y puede sustituir al sitio de escisión de inactivación de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante conservadora de sitio de escisión de inactivación incluyen, p. ej., variantes conservadoras de sitios de escisión de trombina, variantes conservadoras de sitios de escisión de plasmina, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación V, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación VII, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación VIII, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación IXa, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación Xa, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación XIa, variantes conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación XIIa, variantes conservadoras de sitios de escisión de calicreína plasmática, variantes conservadoras de sitios de escisión de MMP-2, variantes conservadoras de sitios de escisión de MMP-9, variantes conservadoras de sitios de escisión de furina, variantes conservadoras de sitios de escisión de activador de plasminógeno-u, variantes conservadoras de sitios de escisión de activador de plasminógeno-t, variantes conservadoras de sitios de escisión de triptasa-ε, variantes conservadoras de sitios de escisión de mMCP-7, variantes conservadoras de sitios de escisión de ECE-1, variantes conservadoras de sitios de escisión de KBGP, variantes conservadoras de sitios de escisión de catepsina-L, variantes conservadoras de sitios de escisión de PAR1, variantes conservadoras de sitios de escisión de PAR2, variantes conservadoras de sitios de escisión de PAR3, variantes conservadoras de sitios de escisión de PAR4 y variantes conservadoras de sitios de escisión de ADAM-TS13.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación" se refiere a un sitio de escisión de inactivación en el que 1) se elimina al menos un aminoácido del sitio de escisión de inactivación de referencia en el que se basa la variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación; 2) se añade al menos un aminoácido al sitio de escisión de inactivación de referencia en el que se basa la variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación; o 3) se sustituye al menos un aminoácido por otro aminoácido o un análogo de aminoácido que no comparte ninguna propiedad similar a la del aminoácido original de la secuencia de referencia de sitio de escisión de inactivación (tabla 4). Una variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el sitio de escisión de inactivación de referencia en el que se basa la variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación, y puede sustituir al sitio de escisión de inactivación de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de una variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación incluyen, p. ej., variantes no conservadoras de sitios de escisión de trombina, variantes no conservadoras de sitios de escisión de plasmina, variantes no conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación V, variantes no conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación VII, variantes no conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación VIII, variantes no

conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación IXa, variantes no conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación Xa, variantes no conservadoras de sitios de escisión de factor de coagulación XIIa, variantes no conservadoras de sitios de escisión de calicreína plasmática, variantes no conservadoras de sitios de escisión de MMP-2, variantes no conservadoras de sitios de escisión de MMP-9, variantes no conservadoras de sitios de escisión de furina, variantes no conservadoras de sitios de escisión de activador de plasminógeno-u, variantes no conservadoras de sitios de escisión de activador de plasminógeno-t, variantes no conservadoras de sitios de escisión de triptasa-ε, variantes no conservadoras de sitios de escisión de mMCP-7, variantes no conservadoras de sitios de escisión de ECE-1, variantes no conservadoras de sitios de escisión de KBGP, variantes no conservadoras de sitios de escisión de catepsina-L, variantes no conservadoras de sitios de escisión de PAR1, variantes no conservadoras de sitios de escisión de PAR2, variantes no conservadoras de sitios de escisión de PAR3, variantes no conservadoras de sitios de escisión de PAR4 y variantes no conservadoras de sitios de escisión de ADAM-TS13.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "peptidomimético de sitio de escisión de inactivación" se refiere a un sitio de escisión de inactivación que tiene al menos un aminoácido sustituido por un oligómero no natural que tiene al menos una propiedad similar con la del primer aminoácido. Los ejemplos de propiedades incluyen, sin limitación, topografía de un elemento de estructura primaria peptídica, funcionalidad de un elemento de estructura primaria peptídica, topología de un elemento de estructura secundaria peptídica, funcionalidad de un elemento de estructura secundaria peptídica, o similares, o cualquier combinación de los mismos. Un peptidomimético de sitio de escisión de inactivación puede funcionar sustancialmente de la misma forma que el sitio de escisión de inactivación de referencia en el que se basa el peptidomimético de sitio de escisión de inactivación, y puede sustituir al sitio de escisión de inactivación de referencia en cualquier aspecto de la presente memoria descriptiva. Para ejemplos de métodos de peptidomiméticos véase, p. ej., Amy S. Ripka y Daniel H. Rich, "Peptidomimetic design", 2(4) *CURR. OPIN. CHEM. BIOL.* 441-452 (1998); y M. Angels Estiarte y Daniel H. Rich, "Peptidomimetics for Drug Design", 803-861 (*BURGER'S MEDICINAL CHEMISTRY AND DRUG DISCOVERY Vol. 1 PRINCIPLE AND PRACTICE*, Donald J. Abraham ed., Wiley-Interscience, 6ª ed 2003). Los ejemplos no limitantes de un peptidomimético de sitio de escisión de inactivación incluyen, p. ej., peptidomiméticos de sitios de escisión de trombina, peptidomiméticos de sitios de escisión de plasmina, peptidomiméticos de sitios de escisión de factor de coagulación V, peptidomiméticos de sitios de escisión de factor de coagulación VII, peptidomiméticos de sitios de escisión de factor de coagulación VIII, peptidomiméticos de sitios de escisión de factor de coagulación IXa, peptidomiméticos de sitios de escisión de factor de coagulación Xa, peptidomiméticos de sitios de escisión de factor de coagulación XIIa, peptidomiméticos de sitios de escisión de calicreína plasmática, peptidomiméticos de sitios de escisión de MMP-2, peptidomiméticos de sitios de escisión de MMP-9, peptidomiméticos de sitios de escisión de furina, peptidomiméticos de sitios de escisión de activador de plasminógeno-u, peptidomiméticos de sitios de escisión de activador de plasminógeno-t, peptidomiméticos de sitios de escisión de triptasa-ε, peptidomiméticos de sitios de escisión de mMCP-7, peptidomiméticos de sitios de escisión de ECE-1, peptidomiméticos de sitios de escisión de KBGP, peptidomiméticos de sitios de escisión de catepsina-L, peptidomiméticos de sitios de escisión de PAR1, peptidomiméticos de sitios de escisión de PAR2, peptidomiméticos de sitios de escisión de PAR3, peptidomiméticos de sitios de escisión de PAR4 y peptidomiméticos de sitios de escisión de ADAM-TS13.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial comprende un sitio de escisión de inactivación. En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un dominio de traslocación de toxina clostridial, un dominio de unión de toxina clostridial, y un sitio de escisión de inactivación. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial comprende una variante natural de sitio de escisión de inactivación, tal como, p. ej., una isoforma de sitio de escisión de inactivación. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial comprende una variante no natural de sitio de escisión de inactivación, tal como, p. ej., una variante conservadora de sitio de escisión de inactivación, una variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación o un fragmento activo de sitio de escisión de inactivación o cualquier combinación de los mismos.

En otra realización, una toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de inactivación. En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial quimérica comprende un dominio enzimático de toxina clostridial, un dominio de traslocación de toxina clostridial, un dominio de unión que no es de toxina clostridial, y un sitio de escisión de inactivación. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial quimérica comprende una variante natural de sitio de escisión de inactivación, tal como, p. ej., una isoforma de sitio de escisión de inactivación. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial quimérica comprende una variante no natural de sitio de escisión de inactivación, tal como, p. ej., una variante conservadora de sitio de escisión de inactivación, una variante no conservadora de sitio de escisión de inactivación o un fragmento activo de sitio de escisión de inactivación o cualquier combinación de los mismos.

En otra realización, un aminoácido hidrófobo en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido hidrófobo. Los ejemplos de aminoácidos hidrófobos incluyen, p. ej., C, F, I, L, M, V y W. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido alifático en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido alifático. Los ejemplos de aminoácidos alifáticos incluyen, p. ej., A, I, L, P, y V. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido aromático en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido aromático. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido de apilamiento en una posición

particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido de apilamiento. Los ejemplos de aminoácido de apilamientos incluyen, p. ej., F, H, W e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido polar en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido polar. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen, p. ej., D, E, K, N, Q y R. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido menos polar o indiferente en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido menos polar o indiferente. Los ejemplos de aminoácido menos polar o indiferentes incluyen, p. ej., A, H, G, P, S, T e Y. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga positiva en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido con carga positiva. Los ejemplos de aminoácidos con carga positiva incluyen, p. ej., K, R y H. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido con carga negativa en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido con carga negativa. Los ejemplos de aminoácidos con carga negativa incluyen, p. ej., D y E. En otro aspecto de esta realización, un aminoácido pequeño en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido pequeño. Los ejemplos de aminoácidos pequeños incluyen, p. ej., A, D, G, N, P, S y T. En otro aspecto más de esta realización, un aminoácido ramificado en el C-beta en una posición particular en el sitio de escisión de inactivación se puede sustituir por otro aminoácido ramificado en el C-beta. Los ejemplos de aminoácidos ramificados en el C-beta incluyen, p. ej., I, T y V.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de trombina como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de trombina" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimientos adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el sitio escindible por la trombina en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la trombina. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por la trombina puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para el sitio de escisión de la trombina es $X_1X_2X_3(R/K)*X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 113), donde X_1 es preferiblemente S, T, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W, e Y, un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es cualquier aminoácido; X_3 es preferiblemente F, S, T, un aminoácido amídico como N o Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es preferiblemente S, T, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y $X_5, X_6, y X_7$, son independientemente cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para la trombina (SEQ ID NO: 114-123). Se conocen en la técnica sitios de escisión de trombina adicionales o se pueden definir mediante métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., *MEROPS: The Peptidase Database, Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., *MEROPS: The Peptidase Database, Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en una realización de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de trombina, como se define en las reivindicaciones. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de trombina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 113, donde X_1 es S, T, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es cualquier aminoácido; X_3 es F, S, T, un aminoácido amídico como N o Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es S, T, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y $X_5, X_6 y X_7$, son independientemente cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de trombina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 113, donde X_1 es S, Q, K, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es N, Q, G, P, A, V, L o I; X_4 es S, T, H, G, A, L o I; X_5 es S, T, Q, K, R, F, Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es S, T, Q, K, R, G, P, A, V, L o I; y X_7 es S, T, Q, K, R, G, P, A, V, L o I. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de trombina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 113, donde X_1 es Q, G, P, A, V, L, I o M; X_2 es S, T, D, E, G, A, V o I; X_3 es G, P, A, V o L; X_4 es S, G, A o L; X_5 es Q, K, F, A, V o L; X_6 es S, Q, K, R, G, P, V o L; y X_7 es S, T, K, G, V, L o I. Uno de los sitios de escisión de trombina comprende la SEQ ID NO: 114.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de plasmina como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de plasmina" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimientos adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por la plasmina en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la plasmina. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por la plasmina puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. La plasmina cataliza la escisión de enlaces de Lys| y Arg|, con una especificidad similar a la de la tripsina. Sin embargo, la plasmina es una enzima mucho menos eficaz que la tripsina, y escinde solo algunos de estos enlaces en proteínas. La tripsina escinde cadenas de péptidos principalmente en el lado del carboxilo de los aminoácidos lisina o arginina, excepto cuando a cualquiera de ellos le sigue la prolina.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de factor de coagulación VIIa como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de factor de coagulación VIIa" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimientos adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por el factor de coagulación VIIa en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa del factor de coagulación VIIa. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por el factor de coagulación VIIa puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de FVIIa es $X_1X_2X_3(R/K)*X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 124), donde X_1 es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es Q, S, T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es preferiblemente Q, S, T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_4 , X_5 , X_6 , y X_7 , son independientemente cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para el FVIIa (SEQ ID NO: 125-133). Se conocen bien en la técnica sitios de escisión de FVIIa adicionales o se puede definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., J. H. Morrissey, "Coagulation Factor VIIa". En HANDBOOK OF PROTEOLYTIC ENZYMES, pág. 1659-1662 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de factor de coagulación VIIa. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación VIIa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 124, donde X_1 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es Q, S, T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es Q, S, T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_4 , X_5 , X_6 , y X_7 , son independientemente cualquier aminoácido. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación VIIa comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132 o SEQ ID NO: 133.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de factor de coagulación IXa como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de factor de coagulación IXa" o "sitio de escisión de FIXa" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimientos adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por el FIXa en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa del FIXa. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por el FIXa puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de FIXa es $X_1X_2X_3(R/K)*X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 134), donde X_1 es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es preferiblemente S, T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_4 , X_5 , X_6 y X_7 , son independientemente cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para FIXa (SEQ ID NO: 135-138). Sitios de escisión de FIXa adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., A. T. Thompson, "Molecular Biology of Factor IX". En HEMOSTASIS AND THROMBOSIS, BASIC PRINCIPLES AND CLINICAL PRACTICE, pág. 128-129 (R. W. Colman, J. Hirsh, V. J. Marder, A. W. Clowes, J. N. George, eds; Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2d, 2001); S. Kawabata y S. Iwanaga, "Russellysin". En HANDBOOK OF PROTEOLYTIC ENZYMES, pág. 683-684 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); A. E. Schmidt y S. P. Bajaj, "Coagulation factor IXa". En HANDBOOK OF PROTEOLYTIC ENZYMES, pág. 1655-1659 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de factor de coagulación IXa. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación IXa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 134, donde X_1 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es S, T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_4 , X_5 , X_6 y X_7 , son independientemente cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación IXa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 134, donde X_1 es un

aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es S, T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄, X₅, X₆ y X₇, son independientemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación IXa comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 137 o SEQ ID NO: 138.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de factor de coagulación Xa como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de factor de coagulación Xa" o "sitio de escisión de FXa" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por FXa en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de FXa. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por FXa puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de FXa es X₁X₂X₃(R/K)*X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 139), donde X₁ es cualquier aminoácido, X₂ es preferiblemente G, A, S, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, X₃ es preferiblemente un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₅, X₆ y X₇, son independientemente cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para FXa (SEQ ID NO: 140-155). Los sitios de escisión FXa adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., D. L. Greenberg y E. W. Davie, "Blood Coagulation Factors: Their Complementary DNAs, Genes, and Expression". En HEMOSTASIS AND THROMBOSIS, BASIC PRINCIPLES AND CLINICAL PRACTICE, pág. 34-35 (R. W. Colman, J. Hirsh, V. J. Marder, A. W. Clowes, J. N. George, eds; Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2d, 2001); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de factor de coagulación Xa. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 139, donde X₁ es cualquier aminoácido, X₂ es G, A, S, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, X₃ es un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₅, X₆ y X₇, son independientemente cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 139, donde X₁ es E, F, P, A, L o I; X₂ es S, Q, D, E, F, G o A; X₃ es F, G o P; X₄ es S, T, L o I; X₅ es S, F, A o V; X₆ es S, T, E, N, H, G, A o M; y X₇ es S, N, D, Q, K, R o G. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 139, donde X₁ es I o A; X₂ es E o F; X₃ es F, G o P; X₄ es S, T o I; X₅ es S, F o V; X₆ es E o G; y X₇ es S o G. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xa comprende, p. ej., la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 154 o SEQ ID NO: 155.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de factor de coagulación XIa como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de factor de coagulación XIa" o "sitio de escisión de FXIa" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por FXIa en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de FXIa. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por FXIa puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de FXIa es X₁X₂X₃(R/K)*X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 156), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido ácido como D o E, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es preferiblemente un aminoácido ácido como D o E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es preferiblemente H, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es preferiblemente H, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es preferiblemente un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X₇ es preferiblemente un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para FXIa (SEQ ID NO: 157-166). Los sitios de escisión adicionales de FXIa son bien conocidos

en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., P. N. Walsh, "Coagulation Factor Xla". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág.1651-1655 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010),

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de factor de coagulación Xla. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xla comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 156, donde X₁ es un aminoácido ácido como D o E, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es un aminoácido ácido como D o E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es H, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es H, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₇ es un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xla comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 156, donde es un aminoácido ácido como D o E, o un aminoácido básico como K y R; X₂ es un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₇ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xla comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 156, donde X₁ es D o K; X₂ es F o L; X₃ es T o P; X₄ es A o V; X₅ es E o V; X₆ es T o G; y X₇ es G o V. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xla comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165 o SEQ ID NO: 166.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de factor de coagulación Xlla como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de factor de coagulación Xlla" o "sitio de escisión de FXlla" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por FXlla en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de FXlla. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por FXlla puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de FXlla es X₁X₂X₃(R/K)*X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 167), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es preferiblemente un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es preferiblemente un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X₇ es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para FXlla (SEQ ID NO: 168-172). Los sitios de escisión de FXlla adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. D. Ratnoff, "Coagulation Factor Xlla". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág.1642-1644 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de factor de coagulación Xlla. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación Xlla comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 167, donde X₁ es un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es un

aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₇ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación XIIa comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 167, donde X₁ es S, T, P o I; X₂ es Q, K, S o M; X₃ es K, T, G o P; X₄ es L, I o V; X₅ es T o V; X₆ es G o L; y X₇ es G. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de factor de coagulación XIIa comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171 o SEQ ID NO: 172.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de calicreína 1 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de calicreína 1" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por calicreína 1 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la calicreína 1. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por la calicreína 1 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de calicreína 1 es X₁X₂X₃X₄*(R/K/S)X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 173), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es cualquier aminoácido; X₃ es cualquier aminoácido; X₄ es preferiblemente un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no polar grande como F, I, L, M y V o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y; X₅ es cualquier aminoácido; X₆ es cualquier aminoácido; y X₇ es cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para la calicreína 1 (SEQ ID NO: 174-198). Los sitios de escisión de calicreína 1 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., R. W. Colman, "Contact Activation Pathway: Inflammation, Fibrinolytic, Anticoagulant, Antiadhesive, and Antiangiogenic Activities". En HEMOSTASIS AND THROMBOSIS, BASIC PRINCIPLES AND CLINICAL PRACTICE, pág. 103-104 (R. W. Colman, J. Hirsh, V. J. Marder, A. W. Clowes, J. N. George, eds; Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2d, 2001); J. Chao, "Human Kallikrein 1, Tissue Kallikrein". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág.1577-1580 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); H. X. Li, et al., "Substrate Specificity of Human Kallikreins 1 and 6 Determined by Phage Display", *Protein Sci.* 17: 664-672 (2008); O. Schilling and C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de calicreína 1. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de calicreína 1 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 173, donde X₁ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es cualquier aminoácido; X₃ es cualquier aminoácido; X₄ es un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no polar grande como F, I, L, M y V, o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y; X₅ es cualquier aminoácido; X₆ es cualquier aminoácido; y X₇ es cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de calicreína 1 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 173, donde X₁ es D, S, T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es S, T, A, P o V; X₃ es S, F o L; X₄ es R o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y; X₅ es R, S, T o A; X₆ es R, S o G; y X₇ es R, G o A. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de calicreína 1 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197 o SEQ ID NO: 198.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de proteína C como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de proteína C" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por la proteína C en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la proteína C. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por la proteína C puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de proteína C es X₁X₂X₃(R/K)*X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 199), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es preferiblemente un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es preferiblemente un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es preferiblemente un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es preferiblemente un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y; X₇ es preferiblemente un aminoácido

ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para la proteína C (SEQ ID NO: 200-209). Los sitios de escisión de proteína C adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., L. Shen y B. Dahiback, "Protein C". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág.1673-1677 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de proteína C. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteína C comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 199, donde X₁ es un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ y X₄ son independientemente un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y; X₇ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteína C comprende la secuencia SEQ ID NO: 199, donde X₁ es K, R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es D, E, Q, N o K; X₃ es P, L, T, Q, K o R; X₄ es G, I, S, N o K; X₅ es Q, N, K, F, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es F, S, N, Q, K o H; X₇ es L, I, T, K, D, E, Q o N. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de proteína C comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 208 o SEQ ID NO: 209.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de plasminógeno como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de plasminógeno" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por plasminógeno en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa del plasminógeno. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por el plasminógeno puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de plasminógeno es X₁X₂X₃(R/K)*X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 210), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es preferiblemente un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es preferiblemente un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es cualquier aminoácido; X₇ es preferiblemente H, F, Y, R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para el plasminógeno (SEQ ID NO: 211-240). Los sitios de escisión de plasminógeno adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de plasminógeno. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de plasminógeno comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 211, donde X₁ es un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es cualquier aminoácido; X₇ es H, F, Y, R, un

aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de plasminógeno comprende la secuencia SEQ ID NO: 211, donde X₁ es K, R, S, T, A, G, L o P; X₂ es D, E, Q, N, K, R, S, T, A, G, I o L; X₃ es N, Q, S, F, Y, A o L; X₄ es K, R, S, A, G, L o V; X₅ es K, R, N, S, F, Y, A, I, L, P o V; X₆ es K, R, N, S, F, Y, A, G, L, P o V; X₇ es R, S, T, F, Y, A, G, I, L o P. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de plasminógeno comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 235, SEQ ID NO: 236, SEQ ID NO: 237, SEQ ID NO: 238, SEQ ID NO: 239 o SEQ ID NO: 240.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2" o "sitio de escisión de MMP-2" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por MMP-2 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la MMP-2. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por MMP-2 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de MMP-2 es X₁(P/A/V/L/I)X₂X₃*(V/L/I/F/Q)X₄X₅X₆ (SEQ ID NO: 241), donde X₁, X₂, X₃, X₄, X₅ y X₆ son cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para MMP-2 (SEQ ID NO: 242-273). Los sitios de escisión de MMP-2 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 241, donde X₁, X₂, X₃, X₄, X₅ y X₆ son cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 241, donde X₁ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es H, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₅ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2 comprende la secuencia SEQ ID NO: 241, donde X₁ es G, P, A, V, L, I, S, T, E o Q; X₂ es G, A, L, S, N, Q, W o K; X₃ es G, P, A, S, Q, D, E o H; X₄ es G, A, V, L, I, F, S, T, Q o K; X₅ es G, A, V, S, T, Q o K; X₆ es G, P, A, V, L, I, S, T, D, E, K, N o Q. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2 comprende la secuencia de SEQ ID NO: 241, donde X₁ es G, A o L o Q; X₂ es G, A o S; X₃ es G, A, S o N; X₄ es A, V, L, I o K; X₅ es G, A o S; X₆ es G, P, A, V, L o D. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 2 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 242, SEQ ID NO: 243, SEQ ID NO: 244, SEQ ID NO: 245, SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 249, SEQ ID NO: 250, SEQ ID NO: 251, SEQ ID NO: 252, SEQ ID NO: 253, SEQ ID NO: 254, SEQ ID NO: 255, SEQ ID NO: 256, SEQ ID NO: 257, SEQ ID NO: 258, SEQ ID NO: 259, SEQ ID NO: 260, SEQ ID NO: 261, SEQ ID NO: 262, SEQ ID NO: 263, SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 267, SEQ ID NO: 268, SEQ ID NO: 269, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 271, SEQ ID NO: 272 o SEQ ID NO: 273.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9" o "sitio de escisión de MMP-9" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por MMP-9 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de MMP-9. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por MMP-9 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de MMP-9 es X₁X₂X₃X₄*X₅X₆X₇X₈ (SEQ ID NO: 274), donde X₁ es preferiblemente F, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es preferiblemente F, Y, S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es preferiblemente F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido

amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es cualquier aminoácido; X₅ es preferiblemente S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es cualquier aminoácido; X₇ es cualquier aminoácido; X₈ es preferiblemente F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para MMP-9 (SEQ ID NO: 275-319). Los sitios de escisión de MMP-9 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., S. L. Kridel, et al., "Substrate Hydrolysis by Matrix Metalloproteinase-9", *J. Biol. Chem.* 276: 20572-20578 (2001); E. Y. Zhen, et al., "Characterization of Metalloprotease Cleavage Products of Human Articular Cartilage", *Arthritis Rheum.* 58: 2420-2431 (2008); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 274, donde X₁ es F, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₂ es F, Y, S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₃ es F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X₄ es cualquier aminoácido; X₅ es S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X₆ es cualquier aminoácido; X₇ es cualquier aminoácido; X₈ es F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 274, donde X₁ es G, V, L, I, F, S, Q, K o R; X₂ es P, A, V, L, I o S; X₃ es G, P, A, V, L, S, Q, E, K o R; X₄ es G, P, A, V, L, F, S, N, E o K; X₅ es A, V, L, I, M, F, S, Q o K; X₆ es P, A, V, L, I, S, T, Q, E, K o R; X₇ es G, A, V, L, S o T; X₈ es G, P, A, V, L, F, T, D, E, K o R. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 274, donde X₁ es G o L; X₂ es P, A o V; X₃ es P, A, R, K o S; X₄ es G; X₅ es A, V, L o I; X₆ es T, Q, K o R; X₇ es G, A o S; X₈ es G, P, A, V o E. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de metaloproteasa de matriz 9 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 275, SEQ ID NO: 276, SEQ ID NO: 277, SEQ ID NO: 278, SEQ ID NO: 279, SEQ ID NO: 280, SEQ ID NO: 281, SEQ ID NO: 282, SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 284, SEQ ID NO: 285, SEQ ID NO: 286, SEQ ID NO: 287, SEQ ID NO: 288, SEQ ID NO: 289, SEQ ID NO: 290, SEQ ID NO: 291, SEQ ID NO: 292, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 295, SEQ ID NO: 296, SEQ ID NO: 297, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 299, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 301, SEQ ID NO: 302, SEQ ID NO: 303, SEQ ID NO: 304, SEQ ID NO: 305, SEQ ID NO: 306, SEQ ID NO: 307, SEQ ID NO: 308, SEQ ID NO: 309, SEQ ID NO: 310, SEQ ID NO: 311, SEQ ID NO: 312, SEQ ID NO: 313, SEQ ID NO: 314, SEQ ID NO: 315, SEQ ID NO: 316, SEQ ID NO: 317, SEQ ID NO: 318 o SEQ ID NO: 319.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de furina como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de furina" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por furina en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la furina. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por la furina puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de furina es (R/I/A)X₁(R/K/A/P)R*X₂*X₃X₄X₅ (SEQ ID NO: 320), donde X₁, X₂, X₃, X₄ y X₅ son cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para la furina (SEQ ID NO: 321-346). Los sitios de escisión de furina adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., A. Basak, et al., "Implication of the Proprotein Convertases Furin, PC5 And PC7 in the Cleavage of Surface Glycoproteins of Hong Kong, Ebola y Respiratory Syncytial Viruses: A Comparative Analysis with Fluorogenic Peptides", *Biochem. J.* 353: 537-545 (2001); O. Bader, et al., "Processing of Predicted Substrates of Fungal Kex2 Proteinases from *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris*", *BMC Microbiol.* 8: 116 (2008); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de furina. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de furina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 320, donde X_1 , X_2 , X_3 , X_4 y X_5 son cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de furina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 320, donde X_1 es F, S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es G, P, M, F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R o un aminoácido no cargado como C, S, y T; X_3 es G, P, A, V, L, I, F, W, S, T, N, Q, D, H, K o R; X_4 es F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X_5 es F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de furina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 320, donde X_1 es K, R, S o T; X_2 es D, E, S, A o G; X_3 es A, V, L o I; y X_4 es S, G, D, E o R; y X_5 es G, P, A, S, T, Q, D o E. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de furina comprende, p. ej., SEQ ID NO: 321, SEQ ID NO: 322, SEQ ID NO: 323, SEQ ID NO: 324, SEQ ID NO: 325, SEQ ID NO: 326, SEQ ID NO: 327, SEQ ID NO: 328, SEQ ID NO: 329, SEQ ID NO: 330, SEQ ID NO: 331, SEQ ID NO: 332, SEQ ID NO: 333, SEQ ID NO: 334, SEQ ID NO: 335, SEQ ID NO: 336, SEQ ID NO: 337, SEQ ID NO: 338, SEQ ID NO: 339, SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 344, SEQ ID NO: 345 o SEQ ID NO: 346.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-u como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de activador de plasminógeno-u" o "sitio de escisión de u-PA" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por u-PA en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa del u-PA. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por el activador de plasminógeno-u puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de u-PA es $X_1X_2X_3(R/K)*X_4*X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 347), donde X_1 es cualquier aminoácido; X_2 es preferiblemente un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es cualquier aminoácido; X_5 es preferiblemente un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es preferiblemente un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_7 es cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para el u-PA (SEQ ID NO: 347-368). Los sitios de escisión de u-PA adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., V. Ellis, "u-Plasminogen Activator". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág. 1677-1683 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de activador de plasminógeno-u. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-u comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 347, donde X_1 es cualquier aminoácido; X_2 es un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es cualquier aminoácido; X_5 es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es un aminoácido no cargado como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_7 es cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-u comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 347, donde X_1 es P, A, L, S, T, C, N o R; X_2 es G, P, L, Y, S o T; X_3 es G, A, S o N; y X_4 es G, A, V, I, Y, S o R; X_5 es P, V, L, F o R; X_6 es G, A, V, Y, S o T; y X_7 es G, V, L, F, Y, N o H. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-u comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 347, donde X_1 es P, A, L, S, T, C, N o R; X_2 es G, Y o S; X_3 es G o S; y X_4 es G, A, V, I, Y, S o R; X_5 es V o R; X_6 es T o Y; y X_7 es G, V, L, F, Y, N o H. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-u comprende, p. ej., SEQ ID NO: 348, SEQ ID NO: 349, NO: 350, SEQ ID NO: 351, SEQ ID NO: 352, SEQ ID NO: 353, SEQ ID NO: 354, SEQ ID NO: 355 o SEQ ID NO: 356, SEQ ID NO: 357, SEQ ID NO: 358, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 360, SEQ ID NO: 361, SEQ ID NO: 362, SEQ ID NO: 363, SEQ ID NO: 364, SEQ ID NO: 365, SEQ ID NO: 366, SEQ ID NO: 367 o SEQ ID NO: 368.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-t como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de activador de plasminógeno-t" o "sitio de escisión de t-PA" se refiere a un enlace escindible junto con

elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por t-PA en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa del t-PA. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por el t-PA puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de t-PA es $X_1X_2X_3(R/K)X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 369), donde X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 y X_7 son cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para t-PA (SEQ ID NO: 370-373). Los sitios de escisión de t-PA adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., H. R. Lijnen y D. Collen, "t-Plasminogen Activator". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág. 1684-1689 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de activador de plasminógeno-t. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-t comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 369, donde X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 y X_7 son cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-t comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 369, donde X_1 es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_5 es un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_7 es un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-t comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 369, donde X_1 es A, P, C o N; X_2 es A, L, P o Q; X_3 es G, L, S o F; X_4 es I, V, M o Y; X_5 es A, V o K; X_6 es G, V o P; y X_7 es G, L o D. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de activador de plasminógeno-t comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 370, SEQ ID NO: 371, SEQ ID NO: 372 o SEQ ID NO: 373.

Aspectos de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de triptasa-ε como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de triptasa-ε" o "sitio de escisión de prosemína" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por triptasa-E en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la triptasa-E. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por triptasa-E puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de triptasa-ε es $*(R/K)X_1X_2X_3X_4(D/E)$ (SEQ ID NO: 374), donde X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , son independientemente un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para triptasa-ε (SEQ ID NO: 375-386). Los sitios de escisión de triptasa-ε adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de triptasa-ε. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de triptasa-ε comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 374, donde X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , son independientemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de triptasa-ε comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 374, donde X_1 es I o V; X_2 es I o V; X_3 es G o S; X_4 es G o S. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de triptasa-ε comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 375, SEQ ID NO: 376, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 378, SEQ ID NO: 379, SEQ ID NO: 380, SEQ ID NO: 381, SEQ ID NO: 382, SEQ ID NO: 383, SEQ ID NO: 384, SEQ ID NO: 385 o SEQ ID NO: 386.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón" o "sitio de escisión de mMCP-7" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por mMCP-7 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la mMCP-7. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por mMCP-7 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio

de escisión de mMCP-7 es $X_1X_2X_3(K/R)*X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 387), donde X_1 es cualquier aminoácido; X_2 es preferiblemente un aminoácido amídico como N o Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X_4, X_5, X_6, X_7 son cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para mMMCP-7 (SEQ ID NO: 388-391). Los sitios de escisión de mMMCP-7 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 387, donde X_1 es cualquier aminoácido; X_2 es un aminoácido amídico como N o Q, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; y X_4, X_5, X_6, X_7 son independientemente cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 387, donde X_1 es cualquier aminoácido; X_2 es G, S o Q; X_3 es A, P o S; y X_4, X_5, X_6, X_7 son cualquier aminoácido. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de proteasa-7 de mastocitos de ratón comprende, p. ej., SEQ ID NO: 388, SEQ ID NO: 389, SEQ ID NO: 390 o SEQ ID NO: 391.

Aspectos de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina" o "sitio de escisión de ECE-1" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por ECE-1 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la ECE-1. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por ECE-1 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de ECE-1 es $X_1X_2X_3X_4*(F/L/I/V/Y)_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 392), donde $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6$ y X_7 son cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para ECE-1 (SEQ ID NO: 393-412). Los sitios de escisión de ECE-1 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., K. Ahn y G. D. Johnson, "Endothelin-Converting Enzyme-1". En *Handbook of Proteolytic Enzymes*, pág. 429-434 (A. J. Barrett, N. D. Rawlings, y J. F. Woessner, eds; Elsevier, London, 2d, 2004); O. Schilling y C. M. Overall, Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites, *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database, Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 392, donde $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6$ y X_7 son independientemente cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 392, donde X_1 es G, P, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R o un aminoácido no cargado como C, S, y T; X_2 es F, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es S, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es S, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_5 es F, W, S, C, N, E, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es G, P, V, L, F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R o un aminoácido no cargado como C, S, y T; y X_7 es P, A, V, L, M, F, Y, S, N, D o K. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 392, donde X_1 es G, P, Y, C, D, K, R o H; X_2 es P, L, I, F, S, C, Q, D, R o H; X_3 es V, L, I, S, Q, K o R; X_4 es G, P, L, F, Y, W o R; X_5 es V, I, M, F, N, R o H; X_6 es P, L, F, T, E o H; y X_7 es P, V, L, F, S, N, D o K. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 392, donde X_1 es G, D o H; X_2 es I o F; X_3 es V, I, S, Q o K; X_4 es P, F o W; X_5 es I, N, R o H; X_6 es L, T o H; y X_7 es P, S o D. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de enzima-1 convertidora de endotelina comprende, p. ej., SEQ ID NO: 393, SEQ ID NO: 394, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 396, SEQ ID NO: 397, SEQ ID NO: 398, SEQ ID NO: 399, SEQ ID NO: 400, SEQ ID NO: 401, SEQ ID NO: 402, SEQ ID NO: 403, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 405, SEQ ID NO: 406, SEQ ID NO: 407, SEQ ID NO: 408, SEQ ID NO: 409, SEQ ID NO: 410, SEQ ID NO: 411 o SEQ ID NO: 412.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de proteína de grupo sanguíneo Kell como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de proteína de grupo sanguíneo Kell" o "sitio de escisión de KBGP" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por KBGP en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la KBGP. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por KBGP puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de KBGP es $X_1X_2X_3X_4^*X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 413), donde X_1 es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E; X_2 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es preferiblemente un aminoácido aromático como F, W, e Y; X_5 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q; X_7 es un aminoácido no cargado como C, S, y T; X_8 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para KBGP (SEQ ID NO: 414-415). Los sitios de escisión de KBGP adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., "A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database", Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de proteína de grupo sanguíneo Kell. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteína de grupo sanguíneo Kell comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 413, donde X_1 es un aminoácido ácido como D y E; X_2 es T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es un aminoácido aromático como F, W, e Y; X_5 es T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_6 es un aminoácido amídico como N y Q; X_7 es un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido ramificado en el C-beta como I, V o T; X_8 es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteína de grupo sanguíneo Kell comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 413, donde X_1 es D; X_2 es I, V o T; X_3 es I, V o T; X_4 es W; X_5 es I, V o T; X_6 es N; X_7 es T; X_8 es P. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de proteína de grupo sanguíneo Kell comprende, p. ej., SEQ ID NO: 414 o SEQ ID NO: 415.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de catepsina L como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de catepsina L" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por catepsina L en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de la catepsina L. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por catepsina L puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de catepsina L es $X_1X_2X_3X_4^*X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 416), donde X_1 es preferiblemente W, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es cualquier aminoácido; X_3 es preferiblemente L, V, F o Y; y X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y X_8 son cualquier aminoácido. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para catepsina L (SEQ ID NO: 417-443). Los sitios de escisión de catepsina L adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios. Véase, p. ej., J. C. Kelly, et al., "Profiling of Calpain Activity with a Series of FRET-Based Substrates", *Biochim. Biophys. Acta* 1794: 1505-1509 (2009); O. Schilling y C. M. Overall, "Proteome-Derived, Database-Searchable Peptide Libraries for Identifying Protease Cleavage Sites", *Nat. Biotechnol.* 26: 685-694 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue): D320-D325 (2008); Neil D. Rawlings, et al., MEROPS: The Peptidase Database, *Nucleic Acids Res.* 38(Database issue): D227-D233 (2010); Neil D. Rawlings, et al., "A Large and Accurate Collection of Peptidase Cleavages in the MEROPS Database", Base de datos pendiente de publicación (2010).

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de catepsina L. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de catepsina L comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 416, donde X_1 es W, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido no cargado como C, S, y T, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_2 es cualquier aminoácido; X_3 es L, V, F o Y; y X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y X_8 son cualquier aminoácido. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de catepsina L comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 416, donde X_1 es G, P, A, L, Q, E o K; X_2 es un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_3 es L, V, F o Y; X_4 es G, A, F, T, Q, E, K o R; X_5 es G, A, S, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido positivo como H, K, y R; X_6 es P, A, L, I, S, Q, un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido positivo como H, K, y R; X_7 es un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X_8 es P, L, S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido básico como K, y R. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de catepsina L comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 416, donde X_1 es G, A, Q, E o

K; X₂ es G, P, L o F; X₃ es L, V, F o Y; X₄ es G, A, F, T, Q, E, K o R; X₅ es A, S, Q, E, K o R; X₆ es P, A, L, I, S o E; X₇ P, L o R; y X₈ es P, L, S o K. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de catepsina L comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 417, SEQ ID NO: 418, SEQ ID NO: 419, SEQ ID NO: 420, SEQ ID NO: 421, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 423, SEQ ID NO: 424, SEQ ID NO: 425, SEQ ID NO: 426, SEQ ID NO: 427, SEQ ID NO: 428, SEQ ID NO: 429, SEQ ID NO: 430, SEQ ID NO: 431, SEQ ID NO: 432, SEQ ID NO: 433, SEQ ID NO: 434, SEQ ID NO: 435, SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 438, SEQ ID NO: 439, SEQ ID NO: 440, SEQ ID NO: 441, SEQ ID NO: 442 o SEQ ID NO: 443.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de PAR1 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de PAR1" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por PAR1 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de PAR1. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por PAR1 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de PAR1 es X₁X₂X₃X₄(K/R)X₅ (SEQ ID NO: 444), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X₂ es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W o Y; X₃ es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W o Y; X₄ es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₅ es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W o Y. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para PAR1 (SEQ ID NO: 445-452). Los sitios de escisión de PAR1 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios.

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de PAR1. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR1 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 444, donde X₁ es un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X₂ es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W o Y; X₃ es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W o Y; X₄ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₅ es un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido aromático hidrófobo como F, W o Y. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR1 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 444, donde X₁ es S, T o G; X₂ es F o Y; X₃ es L, P o F; X₄ es A, G, I o L; y X₅ es F o N. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de PAR1 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 446, SEQ ID NO: 447, SEQ ID NO: 448, SEQ ID NO: 449, SEQ ID NO: 450, SEQ ID NO: 451 o SEQ ID NO: 452.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de PAR2 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de PAR2" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por PAR2 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de PAR2. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por PAR2 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de PAR2 es X₁X₂X₃X₄(K/R)X₅ (SEQ ID NO: 453), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X₂ es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V; X₃ es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V; X₄ es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₅ es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para PAR2 (SEQ ID NO: 454-455). Los sitios de escisión de PAR2 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios.

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de PAR2. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR2 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 453, donde X₁ es un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X₂ es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V; X₃ es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V; X₄ es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X₅ es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR2 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 453, donde X₁ es S; X₂ es I o L; X₃ es I o L; X₄ es A o G; X₅ es L o V. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de PAR2 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 454 o SEQ ID NO: 455.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de PAR3 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de PAR3" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por PAR3 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de PAR3. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por PAR3 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de PAR3 es X₁X₂X₃X₄X₅X₆ (SEQ ID NO: 456), donde X₁ es preferiblemente un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X₂ es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V; X₃ es preferiblemente un aminoácido amídico como N y Q o un aminoácido básico como K y R; X₄ es preferiblemente un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X₅ es preferiblemente un aminoácido no polar

pequeño como A, C G, S, y T, o un aminoácido pequeño polar como D, N o P; y X_6 es preferiblemente un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido pequeño polar como D, N o P. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para PAR3 (SEQ ID NO: 457-459). Los sitios de escisión de PAR3 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios.

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de PAR3. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR3 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 456, donde X_1 es un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X_2 es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V; X_3 es un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido básico como K y R; X_4 es un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X_5 es un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T, o un aminoácido pequeño polar como D, N o P; y X_6 es un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido pequeño polar como D, N o P. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR3 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 456, donde X_1 es S o T; X_2 es F; X_3 es N o R; X_4 es A o G; X_5 es A, G o N y X_6 es P o E. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de PAR3 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 458 o SEQ ID NO: 459.

Aspectos de referencia de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de PAR4 como un sitio de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de PAR4" se refiere a un enlace escindible junto con elementos de reconocimiento adyacentes o no adyacentes, o ambos, suficientes para la proteólisis detectable en el enlace escindible por PAR4 en condiciones adecuadas para la actividad de proteasa de PAR4. Está contemplado que cualquier secuencia de aminoácidos escindida por PAR4 puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva. Aunque se conocen excepciones, una secuencia consenso generalizada para un sitio de escisión de PAR4 es $X_1X_2X_3X_4(K/R/Q/F)X_5$ (SEQ ID NO: 460), donde X_1 es preferiblemente un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X_2 es preferiblemente un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W o Y; X_3 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es preferiblemente un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X_5 es preferiblemente un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W o Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M. La tabla 4 cita sitios de escisión de referencia de ejemplo para PAR4 (SEQ ID NO: 461-478). Los sitios de escisión de PAR4 adicionales son bien conocidos en la técnica o se pueden definir por métodos rutinarios.

Por lo tanto, en un aspecto de referencia, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende un sitio de escisión de PAR4. En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR4 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 460, donde X_1 es un aminoácido no polar pequeño como A, C G, S, y T; X_2 es un aminoácido no polar grande como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W o Y; X_3 es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; X_4 es un aminoácido alifático hidrófobo como, G, P, A, V, L, I, y M; y X_5 es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático hidrófobo como F, W o Y, o un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de PAR4 comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 460, donde X_1 es A, G, S o T; X_2 es F o Y; X_3 es A o P; X_4 es A o G; y X_5 es A, V, P, F, W, Y o K. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de PAR4 comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 469, SEQ ID NO: 470, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477 o SEQ ID NO: 478.

La situación de un sitio de escisión de inactivación es un aspecto crítico que está regido por varios criterios y se define en la reivindicación 1. Primero, la ubicación del sitio de escisión de inactivación no debe afectar sustancialmente a la capacidad de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica para intoxicar a su célula diana. Como se usa en la presente memoria, la expresión "no afectar sustancialmente" en relación con la intoxicación, se refiere a una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva que todavía puede ejecutar el mecanismo de intoxicación completo de modo que una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica entra en una célula diana y escinde proteolíticamente un sustrato diana y abarca la unión de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica a un complejo de receptor de baja o alta afinidad, la internalización del complejo de toxina/receptor, la traslocación de la cadena ligera al citoplasma y la modificación enzimática de un sustrato diana.

En un aspecto de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación puede intoxicar una célula diana en la misma extensión que la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin la modificación del sitio de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación puede intoxicar una célula diana en una extensión de, p. ej., al menos 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 95% que la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin modificación del sitio de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación puede intoxicar una célula diana en una extensión de, p. ej., como máximo 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 95% la extensión de la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin la modificación del sitio de escisión de inactivación.

Segundo, la ubicación de un sitio de escisión de inactivación debe estar en una región expuesta de la superficie de la toxina o toxina clostridial quimérica y no enterrada internamente dentro de la proteína o enmascarada por elementos de estructura secundaria. La exposición adecuada en la superficie del sitio de escisión de inactivación facilita el acceso adecuado al sitio de su correspondiente proteasa, permitiendo así la escisión proteolítica. La escisión proteolítica del sitio de escisión de inactivación por su correspondiente proteasa inactiva sustancialmente la capacidad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica para intoxicar a la célula. Como se usa en la presente memoria, la expresión "inactiva sustancialmente", en relación con la intoxicación, se refiere a una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva que, después de escisión en un sitio de escisión de inactivación, tiene una capacidad reducida para ejecutar el mecanismo de intoxicación en general, de modo que una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica entra en una célula diana y escinde proteolíticamente un sustrato diana, y abarca la unión de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica a un complejo de receptor de baja o alta afinidad, la internalización del complejo de toxina/receptor, la traslocación de la cadena ligera al citoplasma y la modificación enzimática de un sustrato diana.

En un aspecto de esta realización, la escisión proteolítica de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva en un sitio de escisión de inactivación, produce la incapacidad completa de la toxina para intoxicar una célula diana comparada con la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero en un estado sin escisión proteolítica (es decir, el sitio de escisión de intoxicación está intacto o no escindido). En otros aspectos de esta realización, la escisión proteolítica de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva en un sitio de escisión de inactivación produce una capacidad, p. ej., al menos un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 95% menor para intoxicar una célula diana comparada con la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero en un estado sin escisión proteolítica. En otros aspectos de esta realización, la escisión proteolítica de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva en un sitio de escisión de inactivación produce una capacidad, p. ej., como máximo un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 95% menor para intoxicar una célula diana comparada con la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, peso en un estado sin escisión proteolítica.

El sitio de escisión de inactivación está situado dentro de una región de sitios de escisión de inactivación. Como se usa en la presente memoria, la expresión "región de sitios de escisión de inactivación" se refiere a una secuencia de aminoácidos de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que se puede modificar para que contenga un sitio de escisión de inactivación porque dicha modificación no alterará sustancialmente la capacidad de la proteína para intoxicar una célula diana; y tras la exposición a su proteasa cognada, el sitio de escisión de inactivación será escindido e inactivará sustancialmente la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica. La situación de un sitio de escisión de inactivación puede ser en cualquier parte dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, con la condición de que dicha situación no afecte sustancialmente a la capacidad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica para intoxicar una célula diana; y tras la exposición a su proteasa cognada, la escisión del sitio de escisión de inactivación inactivará sustancialmente la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica. La tabla 5 cita regiones de sitios de escisión de inactivación adecuadas para usar con una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva.

La toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende un sitio de escisión de inactivación situado dentro de la región de sitios de escisión de inactivación. La toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende un sitio de escisión de inactivación situado dentro de la región de sitios de escisión de inactivación del subdominio H_{CN}. La toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende un sitio de escisión de inactivación.

En otros aspectos más de esta realización, la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende un sitio de escisión de inactivación situado dentro de una región de sitios de escisión de inactivación que comprende los aminoácidos 618-634 de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5; los aminoácidos 614-630 de la SEQ ID NO: 3; los aminoácidos 605-621 de la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, o SEQ ID NO: 10; los aminoácidos 613-629 de la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 12; los aminoácidos 609-625 de la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14; los aminoácidos 587-603 de la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, o SEQ ID NO: 17; los aminoácidos 604-620 de la SEQ ID NO: 18; los aminoácidos 605-621 de la SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 20; los aminoácidos 610-626 de la SEQ ID NO: 21; los aminoácidos 627-643 de la SEQ ID NO: 22; los aminoácidos 596-612 de la SEQ ID NO: 23; o los aminoácidos 587-603 de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25

Tabla 5. Regiones de sitios de escisión de inactivación de toxinas clostridiales

Toxina	SEQ ID NO:	Regiones de sitios de escisión de inactivación							
		1	2	3	4	5	6	7	8
BoNT/A	1	L462-L496	T618-I634	G638-D651	L665-N687	N752-N765	N826-D835	T844-L863	K871-A895
BoNT/B	2	L464-P487	A605-V621	G625-N638	L652-N674	N739-D752	N813-A824	Y831-I850	S858-G882
BoNT/C1	3	L463-S496	I613-I629	G633-N646	L660-E682	K747-Q760	H821-D830	S839-K858	N866-N890

Tabla 5. Regiones de sitios de escisión de inactivación de toxinas clostridiales

Toxina	SEQ ID NO:	Regiones de sitios de escisión de inactivación							
		1	2	3	4	5	6	7	8
BoNT/D	4	L458-S491	I609-I625	G629-N642	L656-E678	K743-Q756	H817-D826	S835-K854	N862-N886
BoNT/E	5	L434-D467	A587-V603	G607-N620	L634-N659	N724-D739	H800-Q809	T818-I837	K845-D869
BoNT/F	6	L453-N486	A605-V621	G625-N638	L652-N677	N742-N757	H818-N827	T836-I855	K863-G887
BoNT/G	7	L458-S491	S610-I626	G630-N643	M657-N679	N744-D757	N818-N827	H836-I855	S863-G887
TeNT	8	L475-S508	S627-V643	G647-N660	L674-Q696	K761-E774	N835-K844	V854-V871	V879-N903
BaNT	9	L443-N476	A596-V612	G616-N629	L643-S668	N733-N748	N809-P819	T828-I847	K855-G879
BuNT	10	L434-D467	A587-V603	G607-N620	L634-S659	N724-D739	H800-Q809	T818-I837	K845-D869

En un aspecto de la presente memoria descriptiva, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad mayor que el margen de seguridad para la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación. En otras palabras, la adición de un sitio de escisión de inactivación aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación. En aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor que, p. ej., al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, 110%, al menos 120%, al menos 130%, al menos 140%, al menos 150%, al menos 160%, al menos 170%, al menos 180%, al menos 190%, al menos 200%, 210%, al menos 220%, al menos 230%, al menos 240%, al menos 250%, al menos 260%, al menos 270%, al menos 280%, al menos 290% o al menos 300%, con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor que, p. ej., como máximo 10%, como máximo 20%, como máximo 30%, como máximo 40%, como máximo 50%, como máximo 60%, como máximo 70%, como máximo 80%, como máximo 90%, como máximo 100%, 110%, como máximo 120%, como máximo 130%, como máximo 140%, como máximo 150%, como máximo 160%, como máximo 170%, como máximo 180%, como máximo 190%, como máximo 200%, 210%, como máximo 220%, como máximo 230%, como máximo 240%, como máximo 250%, como máximo 260%, como máximo 270%, como máximo 280%, como máximo 290% o como máximo 300%, con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación. En otros aspectos más de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor en, p. ej., aproximadamente 10% a aproximadamente 300%, aproximadamente 20% a aproximadamente 300%, aproximadamente 30% a aproximadamente 300%, aproximadamente 40% a aproximadamente 300%, aproximadamente 50% a aproximadamente 300%, aproximadamente 60% a aproximadamente 300%, aproximadamente 70% a aproximadamente 300%, aproximadamente 80% a aproximadamente 300%, aproximadamente 90% a aproximadamente 300% o aproximadamente 100% a aproximadamente 300%, con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación.

En otros aspectos de la realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor que, p. ej., al menos 1 vez, al menos 1 vez, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces o al menos 10 veces, con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación. En otros aspectos más de la realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor que, p. ej., al menos 1 vez, como máximo 1 vez, como máximo 3 veces, como máximo 4 veces, como máximo 5 veces, como máximo 6 veces, como máximo 7 veces, como máximo 8 veces, como máximo 9 veces o como máximo 10 veces, con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación. En otros aspectos más de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación tiene un margen de seguridad que es mayor en, p. ej., aproximadamente 1 vez a aproximadamente 10 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 9 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 8 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 7 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 6 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 5 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 10 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 9 veces, aproximadamente 2 veces a

aproximadamente 8 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 7 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 6 veces o aproximadamente 2 veces a aproximadamente 5 veces.

En otra realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional. En aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional, en, p. ej., al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, 110%, al menos 120%, al menos 130%, al menos 140%, al menos 150%, al menos 160%, al menos 170%, al menos 180%, al menos 190%, al menos 200%, 210%, al menos 220%, al menos 230%, al menos 240%, al menos 250%, al menos 260%, al menos 270%, al menos 280%, al menos 290% o al menos 300%. En otros aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin sitio de escisión de inactivación adicional, en, p. ej., como máximo 10%, como máximo 20%, como máximo 30%, como máximo 40%, como máximo 50%, como máximo 60%, como máximo 70%, como máximo 80%, como máximo 90%, como máximo 100%, 110%, como máximo 120%, como máximo 130%, como máximo 140%, como máximo 150%, como máximo 160%, como máximo 170%, como máximo 180%, como máximo 190%, como máximo 200%, 210%, como máximo 220%, como máximo 230%, como máximo 240%, como máximo 250%, como máximo 260%, como máximo 270%, como máximo 280%, como máximo 290% o como máximo 300%. En otros aspectos más de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional, en, p. ej., aproximadamente 10% a aproximadamente 300%, aproximadamente 20% a aproximadamente 300%, aproximadamente 30% a aproximadamente 300%, aproximadamente 40% a aproximadamente 300%, aproximadamente 50% a aproximadamente 300%, aproximadamente 60% a aproximadamente 300%, aproximadamente 70% a aproximadamente 300%, aproximadamente 80% a aproximadamente 300%, aproximadamente 90% a aproximadamente 300% o aproximadamente 100% a aproximadamente 300%.

En otros aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional, en, p. ej., al menos 1 vez, al menos 1 vez, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces o al menos 10 veces. En otros aspectos más de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional, en, p. ej., como máximo 1 vez, como máximo 3 veces, como máximo 4 veces, como máximo 5 veces, como máximo 6 veces, como máximo 7 veces, como máximo 8 veces, como máximo 9 veces o como máximo 10 veces. En otros aspectos más de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica comprende la adición de un sitio de escisión de inactivación que aumenta el margen de seguridad de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica con respecto a la misma toxina clostridial o toxina clostridial quimérica o similar, pero sin el sitio de escisión de inactivación adicional, en, p. ej., aproximadamente 1 vez a aproximadamente 10 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 9 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 8 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 7 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 6 veces, aproximadamente 1 vez a aproximadamente 5 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 10 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 9 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 8 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 7 veces, aproximadamente 2 veces a aproximadamente 6 veces o aproximadamente 2 veces a aproximadamente 5 veces.

En otra realización, una región de sitios de escisión de inactivación se puede modificar para que incluya un solo sitio de escisión de inactivación. En otra realización más, una región de sitios de escisión de inactivación se puede modificar para que incluya una pluralidad de sitios de escisión del sitio de escisión de inactivación. En aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de sitio de escisión de inactivación puede comprender, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sitios de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de sitio de escisión de inactivación puede comprender, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sitios de escisión de inactivación. En otros aspectos más de esta realización, una región de sitios de escisión de sitio de escisión de inactivación puede comprender, p. ej., 2-10 sitios de escisión de inactivación, 2-8 sitios de escisión de inactivación, 2-6 sitios de escisión de inactivación, 2-4 sitios de escisión de inactivación, 2-3 sitios de escisión de inactivación, 3-9 sitios de escisión de inactivación, 3-7 sitios de escisión de inactivación, 3-5 sitios de escisión de inactivación o 3-4 sitios de escisión de inactivación.

En otra realización, una región de sitios de escisión de inactivación se puede modificar para que incluya un solo tipo de sitio de escisión de inactivación, tal como, p. ej., un sitio de escisión de trombina. En otra realización más, una región de sitios de escisión de inactivación se puede modificar para que incluya una pluralidad de tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación, tal como, p. ej., un sitio de escisión de trombina, un sitio de escisión de factor Xa, sitio de escisión de MMP-2, y un sitio de escisión de MMP-9. En aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación puede comprender, p. ej., al menos 2, 3, 4 o 5 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación puede comprender, p. ej., como máximo 2, 3, 4 o 5 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación puede comprender, p. ej., 2-5 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación, 2-4 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación, 2-3 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación, 3-5 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación o 3-4 tipos diferentes de sitios de escisión de inactivación.

La modificación de una región de sitios de escisión de inactivación para que incluya un sitio de escisión de inactivación se puede llevar a cabo alterando al menos uno de los aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación. Los ejemplos no limitantes de una alteración de aminoácido incluyen una eliminación de un aminoácido, una adición de un aminoácido o una sustitución de un aminoácido original por un aminoácido diferente. En aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación se modifica para que incluya un sitio de escisión de inactivación alterando, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación se modifica para que incluya un sitio de escisión de inactivación alterando, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación. En más aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación se modifica para que incluya un sitio de escisión de inactivación alterando, p. ej., 1-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 1-4 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 1-3 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 1-2 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 2-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 2-4 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 2-3 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 3-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación o 4-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación.

En aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación se modifica para que incluya un sitio de escisión de inactivación eliminando, añadiendo o sustituyendo, o cualquier combinación de los mismos, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación. En otros aspectos de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación se modifica para que incluya un sitio de escisión de inactivación eliminando, añadiendo o sustituyendo, o cualquier combinación de los mismos, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación. En aspectos todavía de esta realización, una región de sitios de escisión de inactivación se modifica para que incluya un sitio de escisión de inactivación eliminando, añadiendo o sustituyendo, o cualquier combinación de los mismos, p. ej., 1-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 1-4 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 1-3 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 1-2 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 2-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 2-4 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 2-3 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación, 3-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación o 4-5 aminoácidos dentro de la región de sitios de escisión de inactivación.

La modificación de una región de sitios de escisión de inactivación para que incluya un sitio de escisión de inactivación se puede lograr usando procedimientos de mutagénesis convencionales conocidos para el experto en la técnica. Los ejemplos no limitantes de procedimientos de mutagénesis, así como reactivos, condiciones y protocolos bien caracterizados se pueden obtener fácilmente de proveedores comerciales que incluyen, sin limitación, BD Biosciences-Clontech, Palo Alto, CA; BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA; Invitrogen, Inc, Carlsbad, CA; QIAGEN, Inc., Valencia, CA; y Stratagene, La Jolla, CA. Estos protocolos son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria descriptiva.

Como se ha mencionado antes, las toxinas clostridiales y toxinas clostridiales quiméricas descritas en la presente memoria descriptiva se traducen como polipéptidos de una cadena que posteriormente son escindidos por escisión proteolítica en una región de bucle de disulfuro. Este procesamiento postraducciona da una molécula bicatenaria mantenida unida por un solo enlace disulfuro e interacciones no covalentes. La escisión proteolítica dentro de una región de bucle de disulfuro se puede lograr usando sitios de escisión de proteasas endógenos que son naturales dentro de la región de bucle bicatenario, o mediante modificación genética de la región de bucle bicatenario para que comprende un sitio de escisión de proteasa exógeno.

Aspectos de la presente memoria descriptiva describen, en parte, una región de bucle bicatenario. Como se usa en la presente memoria, la expresión "región de bucle bicatenario" se refiere a una secuencia de aminoácidos de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica flanqueada por aminoácidos cisteína y que contiene un sitio de escisión de proteasa usado para convertir la forma monocatenaria de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica en su forma bicatenaria (tabla 6). Los ejemplos no limitantes de una región de bucle bicatenario incluyen una región de bucle

bicatenario de BoNT/A que comprende los aminoácidos 430-454 de la SEQ ID NO: 1; una región de bucle bicatenario de BoNT/B que comprende los aminoácidos 437-446 de la SEQ ID NO: 2; una región de bucle bicatenario de BoNT/C1 que comprende los aminoácidos 437-453 de la SEQ ID NO: 3; una región de bucle bicatenario de BoNT/D que comprende los aminoácidos 437-450 de la SEQ ID NO: 4; una región de bucle bicatenario de BoNT/E que comprende los aminoácidos 412-426 de la SEQ ID NO: 5; una región de bucle bicatenario de BoNT/F que comprende los aminoácidos 429-445 de la SEQ ID NO: 6; una región de bucle bicatenario de BoNT/G que comprende los aminoácidos 436-450 de la SEQ ID NO: 7; and una región de bucle bicatenario de TeNT que comprende los aminoácidos 439-467 de la SEQ ID NO: 8 (tabla 6).

Tabla 6. Región de bucle bicatenario

Toxina	Región de bucle bicatenario que contiene el sitio de escisión de proteasa natural
BoNT/A	CVRGIITSKTKSLDKGYNK*----ALNDLC
BoNT/B	CKSVK*-----APGIC
BoNT/C1	CHKAIDGRSLYNK*-----TLDC
BoNT/D	CLRLTKNSR*-----DDSTC
BoNT/E	CKNIVSVKGIR*-----KSIC
BoNT/F	CKSVIPRKGTK*-----APPRLC
BoNT/G	CKPVMYKNTGK*-----SEQC
TeNT	CKKIIPPTNIRENLYNRTA*SLTDLGELC
BaNT	CKS-IVSKKGTK*-----NSLC
BuNT	CKN-IVSVKGIR*-----KSIC

La secuencia de aminoácidos presentada es como sigue: BoNT/A, restos 430-454 de la SEQ ID NO: 1; BoNT/B, restos 437-446 de la SEQ ID NO: 2; BoNT/C1, restos 437-453 de la SEQ ID NO: 3; BoNT/D, restos 437-450 de la SEQ ID NO: 4; BoNT/E, restos 412-426 de la SEQ ID NO: 5; BoNT/F, restos 429-445 de la SEQ ID NO: 6; BoNT/G, restos 436-450 de la SEQ ID NO: 7; TeNT, restos 439-467 de la SEQ ID NO: 8; BaNT, restos 421-435 de la SEQ ID NO: 9; t BuNT, restos 412-426 de la SEQ ID NO: 10. Un asterisco (*) indica el enlace peptídico que es escindido por una proteasa de toxina clostridial.

Por lo tanto, en una realización, una región de bucle bicatenario comprende una región de bucle bicatenario de toxina clostridial. En aspectos de esta realización, una región de bucle bicatenario comprende, p. ej., una región de bucle bicatenario de BoNT/A, una región de bucle bicatenario de BoNT/B, una región de bucle bicatenario de BoNT/C1, una región de bucle bicatenario de BoNT/D, una región de bucle bicatenario de BoNT/E, una región de bucle bicatenario de BoNT/F, una región de bucle bicatenario de BoNT/G, una región de bucle bicatenario de TeNT, una región de bucle bicatenario de BaNT o una región de bucle bicatenario de BuNT. En otros aspectos de esta realización, una región de bucle bicatenario comprende, p. ej., una región de bucle bicatenario de BoNT/A que comprende los aminoácidos 430-454 de la SEQ ID NO: 1; una región de bucle bicatenario de BoNT/B que comprende los aminoácidos 437-446 de la SEQ ID NO: 2; una región de bucle bicatenario de BoNT/C1 que comprende los aminoácidos 437-453 de la SEQ ID NO: 3; una región de bucle bicatenario de BoNT/D que comprende los aminoácidos 437-450 de la SEQ ID NO: 4; una región de bucle bicatenario de BoNT/E que comprende los aminoácidos 412-426 de la SEQ ID NO: 5; una región de bucle bicatenario de BoNT/F que comprende los aminoácidos 429-445 de la SEQ ID NO: 6; una región de bucle bicatenario de BoNT/G que comprende los aminoácidos 436-450 de la SEQ ID NO: 7; o una región de bucle bicatenario de TeNT que comprende los aminoácidos 439-467 de la SEQ ID NO: 8. una región de bucle bicatenario de BaNT que comprende los aminoácidos 421-435 de la SEQ ID NO: 9; o una región de bucle bicatenario de BuNT que comprende los aminoácidos 412-426 de la SEQ ID NO: 10.

Aspectos de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de proteasa endógeno del bucle bicatenario. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de proteasa endógeno del bucle bicatenario" es sinónima de "sitio de escisión de proteasa natural del bucle bicatenario" y se refiere a un sitio de escisión de proteasa natural que se encuentra dentro de la región de bucle bicatenario de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica natural e incluye, sin limitación, variantes del sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de toxina clostridial natural, tales como, p. ej., isoformas del sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de toxina clostridial y subtipos del sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de toxina clostridial. Los ejemplos no limitantes de un sitio de escisión de proteasa endógeno, incluyen, p. ej., un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/A, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/B, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/C1, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/D, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/E, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/F, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/G y un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de TeNT.

Aunque la identidad de la proteasa actualmente no se conoce, se ha determinado el sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario para muchas toxinas clostridiales. En las BoNT, la escisión en K448-A449 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/A en la forma bicatenaria; la escisión en K441-A442 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/B en la forma bicatenaria; la escisión en K449-T450 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/C1 en la forma bicatenaria; la escisión en R445-D446 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/D en la forma bicatenaria; la escisión en R422-K423 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/E en la forma bicatenaria; la escisión en K439-A440 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/F en la forma bicatenaria; y la escisión en K446-S447 convierte la forma de polipéptido sencilla de BoNT/G en la forma bicatenaria. La escisión proteolítica de la forma de polipéptido sencilla de TeNT en A457-S458 da la forma bicatenaria. La escisión proteolítica de la forma de polipéptido sencilla de BaNT en K431-N432 da la forma bicatenaria. La escisión proteolítica de la forma de polipéptido sencilla de BuNT en R422-K423 da la forma bicatenaria. Dicho sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario está operativamente unido a una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica como una proteína de fusión. Sin embargo, debe indicarse que parece que sitios de escisión adicionales dentro del bucle bicatenario parece que también son escindidos dando como resultado la generación de un fragmento de péptido pequeño que se pierde. Como un ejemplo no limitante, la escisión del polipéptido monocatenario de BoNT/A produce la pérdida de un fragmento de diez aminoácidos dentro del bucle bicatenario.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende una región de bucle bicatenario que incluye un sitio de escisión de proteasa endógeno del bucle bicatenario. En aspectos de esta realización, un sitio de escisión de proteasa endógeno del bucle bicatenario dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/A, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/B, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/C1, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/D, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/E, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/F, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BoNT/G, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de TeNT, un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BaNT o un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario de BuNT. En otros aspectos de esta realización, un sitio de escisión de proteasa endógeno del bucle bicatenario dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., una región de bucle bicatenario de BoNT/A que comprende los aminoácidos 430-454 de la SEQ ID NO: 1; una región de bucle bicatenario de BoNT/B que comprende los aminoácidos 437-446 de la SEQ ID NO: 2; una región de bucle bicatenario de BoNT/C1 que comprende los aminoácidos 437-453 de la SEQ ID NO: 3; una región de bucle bicatenario de BoNT/D que comprende los aminoácidos 437-450 de la SEQ ID NO: 4; una región de bucle bicatenario de BoNT/E que comprende los aminoácidos 412-426 de la SEQ ID NO: 5; una región de bucle bicatenario de BoNT/F que comprende los aminoácidos 429-445 de la SEQ ID NO: 6; una región de bucle bicatenario de BoNT/G que comprende los aminoácidos 436-450 de la SEQ ID NO: 7; o una región de bucle bicatenario de TeNT que comprende los aminoácidos 439-467 de la SEQ ID NO: 8. una región de bucle bicatenario de BaNT que comprende los aminoácidos 421-435 de la SEQ ID NO: 9; o una región de bucle bicatenario de BuNT que comprende los aminoácidos 412-426 de la SEQ ID NO: 10.

Aspectos de la presente memoria descriptiva describen, en parte, un sitio de escisión de proteasa exógeno. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sitio de escisión de proteasa exógeno" es sinónimo de "sitio de escisión de proteasa modificado genéticamente", "sitio de escisión de proteasa no natural" o "sitio de escisión de proteasa no nativo" y se refiere a un sitio de escisión de proteasa que normalmente no está presente en una región de bucle bicatenario de una toxina clostridial natural. Dichos sitios de escisión de proteasa exógenos o modificados genéticamente dentro de la región de bucle bicatenario se usan para convertir la forma de polipéptido monocatenaria de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva en la forma bicatenaria. Está contemplado que se pueden usar todos y cada uno de los sitios de escisión de proteasa exógenos para convertir la forma de polipéptido monocatenaria de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica en su forma bicatenaria activa y son útiles para la práctica de aspectos de la presente memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes de sitios de escisión de proteasa exógenos incluyen, p. ej., un sitio de escisión de papaína vegetal, un sitio de escisión de papaína de insecto, un sitio de escisión de papaína de crustáceos, un sitio de escisión de enteroquinasa, un sitio de escisión de proteasa 3C de rinovirus humano, un sitio de escisión de proteasa 3C de enterovirus humano, un sitio de escisión de proteasa del virus del grabado del tabaco (TEV), un sitio de escisión del virus del moteado de las venas del tabaco (TVMV), un sitio de escisión de subtilisina, un sitio de escisión de hidroxilamina o un sitio de escisión de caspasa 3. Los sitios de escisión de proteasa modificados genéticamente situados dentro del bucle bicatenario se describen, p. ej., en Dolly, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, patente de EE.UU. 7,419,676, Dolly, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, patente de EE.UU. 7,422,877, Steward, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0069238, Steward, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2008/0032930, Steward, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0018081, Steward, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0005313, Steward, et al., *Activatable Recombinant Neurotoxins*, publicación de patente de EE.UU. 2009/0004224.

Está contemplado que un sitio de escisión de proteasa exógeno de todas y cada una de las longitudes puede ser útil en aspectos de la presente memoria descriptiva, con la condición de que el sitio de escisión de proteasa exógeno pueda ser escindido por su respectiva proteasa. Por lo tanto, en aspectos de esta realización, un sitio de escisión de

proteasa exógeno puede tener una longitud de, p. ej., al menos 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 o al menos 60 aminoácidos; o como máximo 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 o al menos 60 aminoácidos.

- 5 En una realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende una región de bucle bicatenario que incluye un sitio de escisión de proteasa exógeno. En aspectos de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de papaína vegetal, un sitio de escisión de papaína de insecto, un sitio de escisión de papaína de crustáceos, un sitio de escisión de proteasa enteroquinasa no humana, un sitio de escisión de proteasa del virus del grabado del tabaco (TEV), un sitio de escisión del virus del moteado de las venas del tabaco, un sitio de escisión de proteasa 3C de rinovirus humano, un sitio de escisión de proteasa 3C de enterovirus humano, un sitio de escisión de subtilisina, un sitio de escisión de hidroxilamina, un sitio de escisión de proteasa SUMO/ULP-1 y un sitio de escisión de caspasa 3 no humana.
- 10 En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de enteroquinasa no humana. En otro aspecto de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de proteasa enteroquinasa bovina. En otro aspecto más de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 480.
- 15 En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., una escisión de proteasa de virus del grabado del tabaco. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la secuencia consenso $EX_1X_2YX_3Q^*G$ (SEQ ID NO: 481) o $EX_1X_2YX_3Q^*S$ (SEQ ID NO: 482), donde X_1 , X_2 y X_3 es cualquier aminoácido. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491 o SEQ ID NO: 492.
- 20 En otro aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de proteasa de virus del moteado de las venas del tabaco. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la secuencia consenso $X_1X_2VRFQ^*G$ (SEQ ID NO: 493) o $X_1X_2VRFQ^*S$ (SEQ ID NO: 494), donde X_1 y X_2 son independientemente cualquier aminoácido. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 495, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 497 o SEQ ID NO: 498.
- 25 En otro aspecto más de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de proteasa 3C de rinovirus humano. En otro aspecto de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la secuencia consenso $X_1X_2LFQ^*GP$ (SEQ ID NO: 499), donde X_1 es cualquier aminoácido siendo preferido un aminoácido ácido como D o E; y X_2 es preferiblemente S, T, y un aminoácido alifático hidrófobo como G, P, A, V, L, I, y M. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 500, SEQ ID NO: 501, SEQ ID NO: 502, SEQ ID NO: 503, SEQ ID NO: 504 o SEQ ID NO: 505. En otro aspecto de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., una proteasa 3C de rinovirus humano escindida por PRESSION®.
- 30 En otro aspecto más de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de subtilisina. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la secuencia consenso $X_1X_2X_3X_4H^*Y$ (SEQ ID NO: 506) o $X_1X_2X_3X_4YH^*$ (SEQ ID NO: 507), donde X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son independientemente cualquier aminoácido. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 508, SEQ ID NO: 509 o SEQ ID NO: 510. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de subtilisina escindido por GENENASE®.
- 35 En otro aspecto más de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de hidroxilamina. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., el dipéptido N*G. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 511 o SEQ ID NO: 512.
- 40 En otro aspecto más de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de proteasa SUMO/ULP-1. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la secuencia consenso $GG^*X_1X_2X_3$ (SEQ ID NO: 513), donde X_1 , X_2 y X_3 son independientemente cualquier aminoácido. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 514.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

En un aspecto de esta realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de caspasa 3. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., un sitio de escisión de proteasa caspasa 3 no humana. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la secuencia consenso $DX_1X_2D^*X_3$ (SEQ ID NO: 515), donde X_1 es cualquier aminoácido, siendo preferido un aminoácido ácido como D y E, X_2 es cualquier aminoácido y X_3 es aminoácido, siendo preferido un aminoácido no polar pequeño como A, C, G, S, y T. En otros aspectos de la realización, un sitio de escisión de proteasa exógeno situado dentro de la región de bucle bicatenario comprende, p. ej., la SEQ ID NO: 516, SEQ ID NO: 517, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 519, SEQ ID NO: 520 o SEQ ID NO: 521.

Una región de bucle bicatenario se puede modificar de modo que un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario natural se sustituye por un sitio de escisión de proteasa exógeno. En esta modificación el sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario natural se hace inoperable y por lo tanto, no puede ser escindido por su proteasa. Solo el sitio de escisión de proteasa exógeno puede ser escindido por su correspondiente proteasa exógena. En este tipo de modificación, el sitio de proteasa exógeno está operativamente unido a una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica como una proteína de fusión y el sitio puede ser escindido por su respectiva proteasa exógena. La sustitución de un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario endógeno por un sitio de escisión de proteasa exógeno puede ser una sustitución de los sitios donde el sitio exógeno se modifica genéticamente en la posición acercándose a la posición del sitio de escisión del sitio endógeno. La sustitución de un sitio de escisión de proteasa del bucle bicatenario endógeno por un sitio de escisión de proteasa exógeno puede ser una adición de un sitio exógeno donde el sitio exógeno se modifica genéticamente en una posición diferente de la posición del sitio de escisión del sitio endógeno, modificándose genéticamente el sitio endógeno para ser inoperable. La posición y tipo de sitio de escisión de proteasa pueden ser críticos porque algunos dominios de unión requieren un aminoácido amino terminal o carboxilo terminal libre. Por ejemplo, cuando un dominio de unión de péptido se coloca entre otros dos dominios, p. ej., véase la figura 4, un criterio para la selección de un sitio de escisión de proteasa podría ser si la proteasa que escinde su sitio deja un corte romo, exponiendo el amino terminal o carboxilo terminal libre del dominio de unión necesario para la unión selectiva del dominio de unión a su receptor.

Un sitio de escisión de proteasa natural se puede hacer inoperable alterando al menos uno de los dos aminoácidos que flanquean el enlace peptídico escindido por la proteasa del bucle bicatenario natural. Se pueden hacer alteraciones más extensas, con la condición de que los dos restos de cisteína de la región de bucle bicatenario permanezcan intactas y la región pueda formar todavía el puente disulfuro. Los ejemplos no limitantes de una alteración de aminoácidos incluyen la eliminación de un aminoácido o sustitución del aminoácido original por un aminoácido diferente. Por lo tanto, en una realización, un sitio de escisión de proteasa natural se hace inoperable alterando al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 aminoácidos que incluyen al menos uno de los dos aminoácidos que flanquean el enlace peptídico escindido por una proteasa natural. En otra realización, un sitio de escisión de proteasa natural se hace inoperable alterando como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 aminoácidos que incluyen al menos uno de los dos aminoácidos que flanquean el enlace peptídico escindido por una proteasa natural.

Se entiende que una toxina clostridial modificada descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender además opcionalmente una región flexible que comprende un espaciador flexible. Una región flexible que comprende espaciadores flexibles se puede usar para ajustar la longitud de una región del polipéptido con el fin de optimizar una característica, atributo o propiedad de un polipéptido. Como un ejemplo no limitante, una región de polipéptido que comprende uno o más espaciadores flexibles en tándem se puede usar para exponer mejor un sitio de escisión de proteasa facilitando así la escisión de ese sitio por una proteasa. Como otro ejemplo no limitante, una región de polipéptido que comprende uno o más espaciadores flexibles en tándem se puede usar para presentar mejor un dominio de unión facilitando así la unión de ese dominio de unión a su receptor.

Un espacio flexible que comprende un péptido es de al menos un aminoácido de longitud y comprende aminoácidos sin carga con grupos R de cadena lateral pequeños, tal como, p. ej., aminoácidos no polares pequeños como A, C, G, S, y T. Por lo tanto, en una realización un espaciador flexible puede tener una longitud de, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos; o como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos. En otra realización más, un espaciador flexible puede tener, p. ej., entre 1-3 aminoácidos, entre 2-4 aminoácidos, entre 3-5 aminoácidos, entre 4-6 aminoácidos o entre 5-7 aminoácidos. Los ejemplos no limitantes de un espaciador flexible incluyen, p. ej., un espaciador G tal como GGG, GGGG (SEQ ID NO: 522), y GGGGS (SEQ ID NO: 523) o un espaciador A tal como AAA, AAAA (SEQ ID NO: 524) y AAAAT (SEQ ID NO: 525). Dicha región flexible está operativamente unida en el marco con la toxina clostridial modificada como una proteína de fusión.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender además una región flexible que comprende un espaciador flexible. En otra realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender además una región flexible que comprende una pluralidad de espaciadores flexibles en tándem. En aspectos de esta realización, una región flexible puede comprender en tándem, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 espaciadores G; o como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 espaciadores G. En otros aspectos más de esta realización, una región flexible puede comprender en tándem, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 espaciadores A; o como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 espaciadores A. En otro aspecto

de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica puede comprender una región flexible que comprende una o más copias de los mismos espaciadores flexibles, una o más copias de regiones de espaciadores flexibles diferentes, o cualquier combinación de los mismos.

Está contemplado que una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender un espaciador flexible en todas y cada una de las posiciones con la condición de que la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica sea capaz de realizar el proceso de intoxicación completo. En aspectos de esta realización, un espaciador flexible se sitúa entre p. ej., un dominio enzimático y un dominio de traslocación, un dominio enzimático y un dominio de unión, un dominio enzimático y un sitio de escisión de proteasa exógeno. En otros aspectos de esta realización, un espaciador flexible se sitúa entre, p. ej., un dominio de unión y un dominio de traslocación, un dominio de unión y un dominio enzimático, un dominio de unión y un sitio de escisión de proteasa exógeno. En otros aspectos más de esta realización, un espaciador flexible se sitúa entre, p. ej., un dominio de traslocación y un dominio enzimático, un dominio de traslocación y un dominio de unión, un dominio de traslocación y un sitio de escisión de proteasa exógeno.

Como otro ejemplo no limitante de un componente opcional, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica puede comprender además una región de unión de epítipo. Una región de unión de epítipo se puede usar en una amplia variedad de procedimientos que implican, p. ej., purificación de proteínas y visualización de proteínas. Dicha región de unión de epítipo está operativamente unida en el marco a una toxina clostridial modificada como una proteína de fusión. Ejemplos no limitantes de una región de unión de epítipo incluyen, p. ej., FLAG, Express™, hemaglutinina humana de virus influenza (HA), proteína p62^{c-Myc} humana (c-MYC), glicoproteína de virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), precursor D de glicoproteína del virus del Herpes simplex (HSV), V5, AU1, y AU5; unión por afinidad, tal como, p. ej., polihistidina (HIS), péptido de unión a estreptavidina (strep), y biotina o una secuencia de biotinilación; regiones de unión de péptido, tales como, p. ej., el dominio de unión de glutatión de la glutatión-S-transferasa, el dominio de unión de calmodulina de la proteína de unión de calmodulina, y el dominio de unión de maltosa de la proteína de unión de maltosa. Los ejemplos no limitantes de protocolos específicos para seleccionar, hacer y usar un péptido de unión adecuado se describe, p. ej., en *Epitope Tagging*, pág. 17.90-17.93 (Sambrook y Russell, eds., MOLECULAR CLONING A LABORATORY MANUAL, Vol. 3, 3ª ed. 2001); ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL (Edward Harlow & David Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1998); y USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL: PORTABLE PROTOCOL No. I (Edward Harlow y David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998). Además, ejemplos no limitantes de péptidos de unión así como reactivos, condiciones y protocolos bien caracterizados están fácilmente disponibles en los proveedores comerciales que incluyen, sin limitación, BD Biosciences-Clontech, Palo Alto, CA; BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA; Invitrogen, Inc, Carlsbad, CA; QIAGEN, Inc., Valencia, CA; y Stratagene, La Jolla, CA. Estos protocolos son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Por lo tanto, en una realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender además una región de unión de epítipo. En otra realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede comprender además una pluralidad de regiones de unión de epítopos. En aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica puede comprender, p. ej., al menos 1, 2, 3, 4 o 5 regiones de unión de epítopos. En otros aspectos de esta realización, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica puede comprender, p. ej., como máximo 1, 2, 3, 4 o 5 regiones de unión de epítopos. En otro aspecto de esta realización, una toxina clostridial modificada puede comprender una o más copias de la misma región de unión de epítipo, una o más copias de diferentes regiones de unión de epítopos, o cualquier combinación de los mismos.

La situación de una región de unión de epítipo puede ser en diferentes posiciones, incluyendo, sin limitación, en el extremo amino, dentro, o en el extremo carboxilo de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica. Por lo tanto, en una realización, una región de unión de epítipo está situada en el extremo amino de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica. En otra realización, una región de unión de epítipo está situada en el extremo carboxilo de una toxina clostridial modificada.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, moléculas de polinucleótidos. Como se usa en la presente memoria, la expresión "molécula de polinucleótido" es sinónima de "molécula de ácido nucleico" y se refiere a una forma polimérica de nucleótidos, tal como, p. ej., ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos. Está contemplado que todas y cada una de las moléculas de polinucleótidos que puedan codificar una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva pueden ser útiles, incluyendo, sin limitación moléculas de ADN naturales y no naturales y moléculas de ARN naturales y no naturales. Los ejemplos no limitantes de moléculas de ADN naturales y no naturales incluyen moléculas de ADN monocatenarias, moléculas de ADN bicatenarias, moléculas de ADN genómicas, moléculas de ADNc, construcciones de vectores, tales como, p. ej., construcciones de plásmidos, construcciones de fagémidos, construcciones de bacteriófagos, construcciones retrovíricas y construcciones de cromosomas artificiales. Los ejemplos no limitantes de moléculas de ARN naturales y no naturales incluyen ARN monocatenario, ARN bicatenario y ARNm.

Las técnicas de biología molecular bien establecidas que pueden ser necesarias para hacer una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria

descriptiva, incluyen, pero no se limitan a procedimientos que implican la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), reacciones con enzimas de restricción, electroforesis en gel de agarosa, ligado de ácidos nucleicos, transformación bacteriana, purificación de ácido nucleico, técnicas basadas en secuenciación y recombinación de ácidos nucleicos, son procedimientos rutinarios dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria. Los ejemplos no limitantes de protocolos específicos necesarios para hacer una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial modificada se describen, p. ej., en MOLECULAR CLONING A LABORATORY MANUAL, véase antes, (2001); y CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (Frederick M. Ausubel et al., eds. John Wiley & Sons, 2004). Además, están ampliamente disponibles una variedad de productos disponibles en el comercio para hacer una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. Estos protocolos son procedimientos rutinarios que están dentro del alcance del experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Por lo tanto, en una realización, una molécula de polinucleótido codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva.

Otro aspecto de la presente memoria descriptiva proporciona, en parte, un método para producir una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, comprendiendo dicho método la etapa de expresar una molécula de polinucleótidos que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica en una célula. Otro aspecto de la presente memoria descriptiva proporciona un método para producir una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, comprendiendo dicho método las etapas de introducir una construcción de expresión que comprende una molécula de polinucleótidos que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica, en una célula y expresar la construcción de expresión en la célula.

Los métodos descritos en la presente memoria descriptiva incluyen, en parte, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica. Está contemplado que todas y cada una de las toxinas clostridiales o toxina clostridial quiméricas descritas en la presente memoria descriptiva se pueden producir usando los métodos descritos en la presente memoria descriptiva. También Está contemplado que todas y cada una de las moléculas de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descritas en la presente memoria descriptiva pueden ser útiles en la producción de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva usando los métodos descritos en la presente memoria descriptiva.

Los métodos descritos en la presente memoria descriptiva incluyen, en parte, una construcción de expresión. Una construcción de expresión comprende una molécula de polinucleótido descrita en la presente memoria descriptiva operativamente unida a un vector de expresión útil para expresar la molécula de polinucleótido en una célula o extracto exento de células. Se puede usar una amplia variedad de vectores de expresión para expresar una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, incluyendo, sin limitación, un vector de expresión vírico; un vector de expresión procariota; vectores de expresión eucariotas, tales como p. ej., un vector de expresión de levadura, un vector de expresión de insecto y un vector de expresión de mamífero; y un vector de expresión de extracto exento de células. Se entiende además que los vectores de expresión útiles para la práctica de aspectos de estos métodos pueden incluir los que expresan una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica bajo el control de un elemento promotor inducible o constitutivo, específico de tejido, específico de célula, elemento potenciador, o ambos. Los ejemplos no limitantes de vectores de expresión, junto con reactivos y condiciones para hacerlos bien establecidos y que usan una construcción de expresión de dichos vectores de expresión están fácilmente disponibles de proveedores comerciales que incluyen, sin limitación, BD Biosciences-Clontech, Palo Alto, CA; BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA; Invitrogen, Inc, Carlsbad, CA; EMD Biosciences-Novagen, Madison, WI; QIAGEN, Inc., Valencia, CA; y Stratagene, La Jolla, CA. La selección, fabricación y uso de un vector de expresión adecuados son procedimientos rutinarios dentro del alcance de un experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Por lo tanto, en aspectos de esta realización, una molécula de polinucleótidos que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva está operativamente unida a un vector de expresión. En aspectos de esta realización, el vector de expresión es, p. ej., un vector de expresión vírico, un vector de expresión de procariota, un vector de expresión de levadura, un vector de expresión de insecto o un vector de expresión de mamífero. En otros aspectos de esta realización, una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva está operativamente unida a un vector de expresión de extracto exento de células.

Los métodos descritos en la presente memoria descriptiva incluyen, en parte, una célula. Está contemplado que se pueden usar todas y cada una de las células. Por lo tanto, aspectos de esta realización incluyen, sin limitación, células procariotas que incluyen, sin limitación, cepas de células de bacterias aerobias, microaerófilas, capnófilas, facultativas, anaerobias, Gram negativas, tales como las derivadas de, p. ej., *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridia perfringens*, *Clostridia difficile*, *Caulobacter crescentus*, *Lactococcus lactis*, *Methylobacterium extorquens*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas fluorescens* y *Salmonella typhimurium*; y células eucariotas incluyendo, sin limitación, cepas de levaduras, tales como, p. ej., las derivadas de *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica*, *Pichia angusta*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Yarrowia lipolytica*; células de insecto y líneas celulares derivadas de insectos, tales como, p. ej., las derivadas de

Spodoptera frugiperda, *Trichoplusia ni*, *Drosophila melanogaster* y *Manduca sexta*; y células de mamíferos y líneas celulares derivadas de células de mamíferos, tales como, p. ej., las derivadas de ratón, ratas, hámster, porcinas, bovinas, equinas, primates y humanas. Las líneas celulares se pueden obtener de la American Type Culture Collection, European Collection of Cell Cultures y la German Collection of Microorganisms and Cell Cultures. Los ejemplos no limitantes de protocolos específicos para seleccionar, hacer y usar una línea celular adecuada se describen en, p. ej., INSECT CELL CULTURE ENGINEERING (Mattheus F. A. Goosen et al. eds., Marcel Dekker, 1993); INSECT CELL CULTURES: FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS (J. M. Vlak et al. eds., Kluwer Academic Publishers, 1996); Maureen A. Harrison & Ian F. Rae, GENERAL TECHNIQUES OF CELL CULTURE (Cambridge University Press, 1997); CELL AND TISSUE CULTURE: LABORATORY PROCEDURES (Alan Doyle et al eds., John Wiley and Sons, 1998); R. Ian Freshney, CULTURE OF ANIMAL CELLS: A MANUAL OF BASIC TECHNIQUE (Wiley-Liss, 4ª ed. 2000); ANIMAL CELL CULTURE: A PRACTICAL APPROACH (John R. W. Masters ed., Oxford University Press, 3ª ed. 2000); MOLECULAR CLONING A LABORATORY MANUAL, véase antes, (2001); BASIC CELL CULTURE: A PRACTICAL APPROACH (John M. Davis, Oxford Press, 2ª ed. 2002); y CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, véase antes, (2004). Estos protocolos son procedimientos rutinarios dentro del alcance de un experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Los métodos descritos en la presente memoria descriptiva incluyen, en parte, introducir en una célula una molécula de polinucleótido. Una molécula de polinucleótido introducida en una célula puede ser mantenida de forma transitoria o estable por esa célula. Las moléculas de polinucleótido mantenidas de forma estable pueden ser extracromosómicas y replicarse de forma autónoma, o se pueden integrar en el material cromosómico de la célula y replicarse de forma no autónoma. Está previsto que se pueden usar todos y cada uno de los métodos para introducir una molécula de polinucleótido en una célula descritos en la presente memoria descriptiva. Los métodos útiles para introducir una molécula de polinucleótido en una célula incluyen, sin limitación, transfección o transformación mediada por compuestos químicos tal como, p. ej., mediada por cloruro de calcio, mediada por fosfato de calcio, mediada por dietilaminoetil(DEAE)-dextrano, mediada por lípidos, mediada por polietilenimina (PEI), mediada por polilisina y mediada por polibreno; transfección o transformación mediada por métodos físicos, tales como, p. ej., suministro biolístico de partículas, microinyección, fusión de protoplastos y electroporación; y transfección mediada por virus, tal como, p. ej., transfección mediada por retrovirus, véase, p. ej., *Introducing Cloned Genes into Cultured Mammalian Cells*, pág. 16.1-16.62 (Sambrook & Russell, eds., Molecular Cloning A Laboratory Manual, Vol. 3, 3ª ed. 2001). Un experto en la técnica entiende que la selección de un método específico para introducir una construcción de expresión en una célula dependerá, en parte, de si la célula contendrá de forma transitoria una construcción de expresión o si la célula contendrá establemente una construcción de expresión. Estos protocolos son procedimientos rutinarios dentro del alcance de un experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

En un aspecto de esta realización, se usa un método mediado por compuesto químico, denominado transfección, para introducir en la célula una molécula de polinucleótidos que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial química descrita en la presente memoria descriptiva. En los métodos de transfección mediados por compuesto químico, el reactivo químico forma un complejo con el ácido nucleico que facilita su absorción en las células. Dichos reactivos químicos incluyen, sin limitación, mediado por fosfato de calcio, véase, p. ej., Martin Jordan y Florian Worm, "Transfection of adherent and suspended cells by calcium phosphate", 33(2) *Methods* 136-143 (2004); mediado por dietilaminoetil(DEAE)-dextrano, mediado por lípidos, mediado por polímero catiónico como mediado por polietilenimina (PEI) y mediado por polilisina y mediado por polibreno, véase, p. ej., Chun Zhang et al., "Polyethylenimine strategies for plasmid delivery to brain-derived cells", 33(2) *Methods* 144-150 (2004). Dichos sistemas de suministro mediados por compuesto químico se pueden preparar por métodos estándar y están disponibles en el comercio, véase, p. ej., kit de transfección CellPfect (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ); Mammalian Transfection Kit, fosfato de calcio y DEAE-Dextrano, (Stratagene, Inc., La Jolla, CA); reactivo de transfección LIPOFECTAMINE™ (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA); kit de transfección ExGen 500 (Fermentas, Inc., Hanover, MD), y kits de transfección SuperFect y Effectene (Qiagen, Inc., Valencia, CA).

En otro aspecto de esta realización, se usa un método físico para introducir en una célula una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial química descrita en la presente memoria descriptiva. Las técnicas físicas incluyen, sin limitación, electroporación, biolística y microinyección. Las técnicas de biolística y microinyección perforan la pared celular con el fin de introducir la molécula de ácido nucleico en la célula, véase, p. ej., Jeike E. Biewenga et al., "Plasmid-mediated gene transfer in neurons using the biolistics technique", 71(1) *J. Neurosci. Methods* 67-75 (1997); y John O'Brien y Sarah C. R. Lummis, "Biolistic and diolistic transfection: using the gene gun to deliver DNA and lipophilic dyes into mammalian cells", 33(2) *Methods* 121-125 (2004). La electroporación, también denominada electroporación, usa pulsos eléctricos breves de alto voltaje para crear poros transitorios en la membrana a través de los cuales entran las moléculas de ácido nucleico y se pueden usar eficazmente para transfecciones estables y transitorias de todos los tipos de células, véase, p. ej., M. Golzio et al., "In vitro and in vivo electric field-mediated permeabilization, gene transfer, and expression", 33(2) *Methods* 126-135 (2004); y Oliver Greschet al., "New non-viral method for gene transfer into primary cells", 33(2) *Methods* 151-163 (2004).

En otro aspecto de esta realización, se usa un método mediado por virus, denominado transducción, para introducir en una célula una molécula de polinucleótidos que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial química descrita en la presente memoria descriptiva. En los métodos de transducción transitoria mediados por virus, el proceso por el

cual las partículas víricas infectan y se multiplican en una célula hospedante se ha manipulado con el fin de usar este mecanismo para introducir una molécula de polinucleótido en la célula. Se han desarrollado métodos mediados por virus a partir de una amplia variedad de virus incluyendo, sin limitación, retrovirus, adenovirus, virus adenoasociados, virus Herpes simplex, picornavirus, alfavirus y baculovirus, véase, p. ej., Armin Blesch, "Lentiviral and MLV based retroviral vectors for ex vivo and in vivo gene transfer", 33(2) *Methods* 164-172 (2004); y Maurizio Federico, "From lentiviruses to lentivirus vectors", 229 *Methods Mol. Biol.* 3-15 (2003); E. M. Poeschla, "Non-primate lentiviral vectors", 5(5) *Curr. Opin. Mol. Ther.* 529-540 (2003); Karim Benihoud et al., "Adenovirus vectors for gene delivery", 10(5) *Curr. Opin. Biotechnol.* 440-447 (1999); H. Bueler, "Adeno-associated viral vectors for gene transfer and gene therapy", 380(6) *Biol. Chem.* 613-622 (1999); Chooi M. Lai et al., "Adenovirus and adeno-associated virus vectors", 21(12) *DNA Cell Biol.* 895-913 (2002); Edward A. Burton et al., "Gene delivery using herpes simplex virus vectors", 21(12) *DNA Cell Biol.* 915-936 (2002); Paola Grandi et al., "Targeting HSV amplicon vectors", 33(2) *Methods* 179-186 (2004); Ilya Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: strategies and applications", 93(21) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 11371-11377 (1996); Markus U. Ehrenguber, "Alphaviral gene transfer in neurobiology", 59(1) *Brain Res. Bull.* 13-22 (2002); Thomas A. Kost y J. Patrick Condreay, "Recombinant baculoviruses as mammalian cell gene-delivery vectors", 20(4) *Trends Biotechnol.* 173-180 (2002); y A. Huser y C. Hofmann, "Baculovirus vectors: novel mammalian cell gene-delivery vehicles and their applications", 3(1) *Am. J. Pharmacogenomics* 53-63 (2003).

Se seleccionan con frecuencia adenovirus, que son virus de ADN bicatenario que no tienen envuelta, para la transducción de células de mamífero porque los adenovirus manejan moléculas de polinucleótidos relativamente grandes de aproximadamente 36 kb, se producen con títulos altos y pueden infectar eficazmente una amplia variedad de células tanto que se dividen como que no se dividen, véase, p. ej., Wim T. J. M. C. Hermens et al., "Transient gene transfer to neurons and glia: analysis of adenoviral vector performance in the CNS and PNS", 71(1) *J. Neurosci. Methods* 85-98 (1997); y Hiroyuki Mizuguchi et al., "Approaches for generating recombinant adenovirus vectors", 52(3) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 165-176 (2001). La transducción usando sistema basado en adenovirus no soporta la expresión de proteínas prolongada porque la molécula de ácido nucleico la lleva un episoma en el núcleo de la célula, en lugar de ser integrada en el cromosoma de la célula hospedante. Se describen sistemas de vectores adenovíricos y protocolos específicos para cómo usar dichos vectores en, p. ej., VIRAPOWERTM Adenoviral Expression System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA) y VIRAPOWERTM Adenoviral Expression System Instruction Manual 25-0543 version A, Invitrogen, Inc., (15 de julio, 2002); y ADEASYTM Adenoviral Vector System (Stratagene, Inc., La Jolla, CA) y ADEASYTM Adenoviral Vector System Instruction Manual 064004f, Stratagene, Inc.

El suministro de moléculas de polinucleótidos también puede usar retrovirus de ARN monocatenarios, tales como, p. ej., oncorretrovirus y lentivirus. La transducción mediada por retrovirus a menudo produce eficacias de transducción cercanas a 100%, puede controlar fácilmente el número de copias províricas variando la multiplicidad de infección (MDI), y se puede usar para transducir células de forma transitoria o estable, véase, p. ej., Tiziana Tonini et al., "Transient production of retroviral- and lentiviral-based vectors for the transduction of Mammalian cells", 285 *Methods Mol. Biol.* 141-148 (2004); Armin Blesch, "Lentiviral and MLV based retroviral vectors for ex vivo and in vivo gene transfer", 33(2) *Methods* 164-172 (2004); Félix Recillas-Targa, "Gene transfer and expression in mammalian cell lines and transgenic animals", 267 *Methods Mol. Biol.* 417-433 (2004); y Roland Wolkowicz et al., "Lentiviral vectors for the delivery of DNA into mammalian cells", 246 *Methods Mol. Biol.* 391-411 (2004). Las partículas de retrovirus consisten en un genoma de ARN empaquetado en una cápside de proteínas, rodeado por una envuelta lipídica. El retrovirus infecta una célula hospedante inyectando su ARN en el citoplasma junto con la enzima transcriptasa inversa. Después el molde de ARN se retrotranscribe en un ADNc bicatenario, lineal, que se replica él mismo integrándose en el genoma de la célula huésped. Las partículas víricas se extienden tanto vertical (de célula original a células hija por provirus) como horizontalmente (de célula a célula por viriones). La estrategia de replicación permite la expresión continua prolongada puesto que las moléculas de ácido nucleico de interés están establemente integradas en un cromosoma de la célula hospedante, permitiendo así la expresión prolongada de la proteína. Por ejemplo, estudios en animales han mostrado que vectores lentivirus inyectados en una variedad de tejidos producían expresión de proteína sostenida durante más de 1 año, véase, p. ej., Luigi Naldini et al., "In vivo gene delivery and stable transduction of non-dividing cells by a lentiviral vector", 272(5259) *Science* 263-267 (1996). Los sistemas de vectores derivados de oncorretrovirus, tales como, p. ej., virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV), se usan ampliamente e infectan muchas células diferentes que no se dividen. Los lentivirus también pueden infectar muchos tipos de células diferentes, incluyendo células que se dividen y que no se dividen y tienen proteínas de envuelta completa, que permiten el direccionamiento celular muy específico.

Se describen vectores retrovíricos y protocolos específicos para cómo usar dichos vectores en, p. ej., Manfred Gossen & Hermann Bujard, *Tight control of gene expression in eukaryotic cells by tetracycline-responsive promoters*, patente de EE.UU. nº 5,464,758 (7 de nov., 1995) y Hermann Bujard y Manfred Gossen, *Methods for regulating gene expression*, patente de EE.UU. nº 5,814,618 (29 de sep., 1998), David S. Hogness, *Polynucleotides encoding insect steroid hormone receptor polypeptides and cells transformed with same*, patente de EE.UU. nº 5,514,578 (7 de mayo, 1996) y David S. Hogness, *Polynucleotide encoding insect ecdysone receptor*, patente de EE.UU. 6,245,531 (12 de jun., 2001); Elisabetta Vegeto et al., *Progesterone receptor having C. terminal hormone binding domain truncations*, patente de EE.UU. nº 5,364,791 (15 de nov., 1994), Elisabetta Vegeto et al., *Mutated steroid hormone receptors, methods for their use and molecular switch for gene therapy*, patente de EE.UU. nº 5,874,534 (23 de feb., 1999) y Elisabetta Vegeto et al., *Mutated steroid hormone receptors, methods for their use and molecular switch for gene therapy*, patente de EE.UU. nº 5,935,934 (10 de agosto, 1999). Además, dichos sistemas de suministro de virus se

pueden preparar por métodos convencionales y están disponibles en el comercio, véase, p. ej., sistemas de expresión de genes Tet-Off y Tet-On BD™ (BD Biosciences-Clontech, Palo Alto, CA) y Manual de usuario de sistemas de expresión de genes Tet-Off y Tet-On BD™, PT3001-1, BD Biosciences Clontech, (14 de marzo, 2003), sistema GENESWITCH™ (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA) y sistema GENESWITCH™ Un sistema de expresión regulado por Mifepristona para células de mamíferos, versión D, 25-0313, Invitrogen, Inc., (4 de nov., 2002); sistema de expresión de lentivirus VIRAPOWERTM (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA) y Manual de instrucciones del sistema de expresión de lentivirus VIRAPOWERTM 25-0501 versión E, Invitrogen, Inc., (8 de dic., 2003); y sistema de expresión de mamíferos inducible por retrovirus COMPLETE CONTROL® (Stratagene, La Jolla, CA) y manual de instrucciones del sistema de expresión de mamíferos inducible por retrovirus COMPLETE CONTROL®, 064005e.

Los métodos descritos en la presente memoria descriptiva incluyen, en parte, expresar a partir de una molécula de polinucleótido, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. Está contemplado que puede ser útil cualquiera de una variedad de sistemas de expresión para expresar a partir de una molécula de polinucleótido, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, incluyendo, sin limitación, sistemas basados en células y sistemas de expresión sin células. Los sistemas basados en células incluyen, sin limitación, sistemas de expresión víricos, sistemas de expresión procariotas, sistemas de expresión de levaduras, sistemas de expresión de baculovirus, sistemas de expresión de insecto y sistemas de expresión de mamífero. Los sistemas sin células incluyen, sin limitación, extractos de germen de trigo, extractos de reticulocitos de conejo y extractos de *E. coli* y en general son equivalentes al método descrito en la presente memoria. La expresión de una molécula de polinucleótido usando un sistema de expresión puede incluir cualquiera de una variedad de características incluyendo, sin limitación, expresión inducible, expresión no inducible, expresión constitutiva, expresión mediada por virus, expresión establemente integrada y expresión transitoria. Los sistemas de expresión que incluyen vectores, reactivos, condiciones y células bien caracterizados, están bien establecidos y están fácilmente disponibles en proveedores comerciales que incluyen, sin limitación, Ambion, Inc. Austin, TX; BD Biosciences-Clontech, Palo Alto, CA; BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA; Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA; QIAGEN, Inc., Valencia, CA; Roche Applied Science, Indianapolis, IN; y Stratagene, La Jolla, CA. Los ejemplos no limitantes de selección y uso de sistemas de expresión heterólogos adecuados se describen, p. ej., en PROTEIN EXPRESSION. A PRACTICAL APPROACH (S. J. Higgins y B. David Hames eds., Oxford University Press, 1999); Joseph M. Fernandez y James P. Hoeffler, GENE EXPRESSION SYSTEMS. USING NATURE FOR THE ART OF EXPRESSION (Academic Press, 1999); y Meena Rai y Harish Padh, "Expression Systems for Production of Heterologous Proteins", 80(9) *Current Science* 1121-1128, (2001). Estos protocolos son procedimientos rutinarios dentro del alcance de un experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Son útiles una variedad de procedimientos de expresión basados en células, para expresar una molécula de polinucleótido que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. Los ejemplos incluyen, sin limitación, sistemas de expresión víricos, sistemas de expresión de procariotas, sistemas de expresión de levaduras, sistemas de expresión de baculovirus, sistemas de expresión de insecto y sistemas de expresión de mamífero. Los sistemas de expresión víricos incluyen, sin limitación, el VIRAPOWERTM Lentiviral (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), los Adenoviral Expression Systems (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el ADEASY™ XL Adenoviral Vector System (Stratagene, La Jolla, CA) y el VIRAPORT® Retroviral Gene Expression System (Stratagene, La Jolla, CA). Los ejemplos no limitantes de sistemas de expresión procariotas incluyen el CHAMPION™ pET Expression System (EMD Biosciences-Novagen, Madison, WI), el TRIEX™ Bacterial Expression System (EMD Biosciences-Novagen, Madison, WI), el QIAEXPRESS® Expression System (QIAGEN, Inc.), y el AFFINITY® Protein Expression and Purification System (Stratagene, La Jolla, CA). Los sistemas de expresión de levaduras incluyen, sin limitación, el EASYSELECT™ *Pichia* Expression Kit (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el YES-ECHO™ Expression Vector Kits (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA) y el SPECTRA™ *S. pombe* Expression System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA). Los ejemplos no limitantes de sistemas de expresión de baculovirus incluyen el BACULODIRECT™ (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el BAC-TO-BAC® (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), y el BD BACULOGOLD™ (BD Biosciences-Pharmingen, San Diego, CA). Los sistemas de expresión de insecto incluyen, sin limitación, el *Drosophila* Expression System (DES®) (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), INSECTSELECT™ System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA) y INSECTDIRECT™ System (EMD Biosciences-Novagen, Madison, WI). Los ejemplos no limitantes de sistemas de expresión de mamífero incluyen el T-REX™ (Expresión regulada por tetraciclina) System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el FLP-IN™ T-REX™ System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el pcDNA™ system (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el pSecTag2 system (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA), el EXCHANGER® System, INTERPLAY™ Mammalian TAP System (Stratagene, La Jolla, CA), Sistema de expresión de mamífero inducible COMPLETE CONTROL® (Stratagene, La Jolla, CA) y Sistema de expresión de mamífero inducible LACSWITCH® II (Stratagene, La Jolla, CA).

Otro procedimiento de expresión de una molécula de polinucleótidos que codifica una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva usa un sistema de expresión sin células tal como, sin limitación, extractos de procariotas y extractos de eucariotas. Los ejemplos no limitantes de extractos de células procariotas incluyen el RTS 100 *E. coli* HY Kit (Roche Applied Science, Indianapolis, IN), el ActivePro In Vitro Translation Kit (Ambion, Inc., Austin, TX), el ECOPRO™ System (EMD Biosciences-Novagen, Madison, WI) y el EXPRESSWAY™ Plus Expression System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA). El extracto de células eucariotas incluye, sin limitación, el RTS 100 Wheat Germ CECF Kit (Roche Applied Science, Indianapolis, IN), el TNT® Coupled Wheat Germ Extract Systems (Promega Corp., Madison, WI), el Wheat Germ IVT™ Kit (Ambion, Inc., Austin, TX), el Retic

Lysate IVT™ Kit (Ambion, Inc., Austin, TX), el PROTEINSCRIPT® II System (Ambion, Inc., Austin, TX) y el TNT® Coupled Reticulocyte Lysate Systems (Promega Corp., Madison, WI).

La toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, descrita en la presente memoria descriptiva es producida por la célula en una forma monocatenaria. Con el fin de lograr la actividad completa, la forma monocatenaria debe convertirse en su forma bicatenaria. Como se ha discutido antes, este proceso de conversión se logra por escisión de un sitio de escisión de proteasa situado dentro de la región de bucle bicatenario de la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. Este proceso de conversión se puede llevar a cabo usando un ensayo de escisión proteolítica in vitro convencional o en un sistema de escisión proteolítica basado en células como se describe en la solicitud de patente de Ghanshani, et al., *Methods of Intracellular Conversion of Single-Chain Proteins into their Di-chain Form*, N° de expediente del apoderado 18469 PROV (BOT).

Aspectos de la presente memoria descriptiva describen, en parte, una composición que comprende una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. En un aspecto adicional, la composición es una composición farmacéuticamente aceptable. Como se usa en la presente memoria, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier entidad molecular o composición que no produce una reacción adversa, alérgica u otra reacción perjudicial o no deseada cuando se administra a un individuo. Como se usa en la presente memoria, la expresión "composición farmacéuticamente aceptable" es sinónima de "composición farmacéutica" y se refiere a una concentración terapéuticamente eficaz de un principio activo, tal como, p. ej., cualquiera de las toxinas clostridiales o toxinas clostridiales quiméricas descritas en la presente memoria descriptiva. Una composición farmacéutica que comprende una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica es útil para aplicaciones médicas y veterinarias. Una composición farmacéutica se puede administrar a un paciente sola o en combinación con otros principios activos, agentes, fármacos y hormonas complementarios. Las composiciones farmacéuticas se pueden fabricar usando cualquiera de una variedad de procedimientos incluyendo, sin limitación, mezcla convencional, disolución, granulación, formación de grageas, levigado, emulsión, encapsulación, atrapamiento y liofilización. La composición farmacéutica puede tener cualquiera de una variedad de formas incluyendo, sin limitación, una solución estéril, suspensión, emulsión, liofilizado, comprimido, píldora, gránulo, cápsula, polvo, jarabe, elixir o cualquier otra forma farmacéutica adecuada para la administración.

Está contemplado también que una composición farmacéutica que comprende una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva puede incluir opcionalmente vehículos farmacéuticamente aceptables que facilitan el procesamiento de un principio activo en composiciones farmacéuticamente aceptables. Como se usa en la presente memoria, la expresión "vehículo farmacológicamente aceptable" es sinónima de "vehículo farmacológico" y se refiere a cualquier vehículo que no tiene sustancialmente efecto perjudicial permanente o prolongado cuando se administra y abarca expresiones tales como "vehículo, estabilizante, diluyente, aditivo, auxiliar o excipiente farmacológicamente aceptable". Dicho vehículo en general se mezcla con un compuesto activo o se deja diluir o encerrar el compuesto activo, y puede ser un agente sólido, semisólido o líquido. Se entiende que los principios activos pueden ser solubles o se pueden suministrar en forma de una suspensión en el vehículo o diluyente deseado. Se puede usar cualquiera de una variedad de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyendo, sin limitación, medios acuosos tales como, p. ej. agua, solución salina, glicina, ácido hialurónico y similares; vehículos sólidos tales como, p. ej., manitol, lactosa, almidón, estearato magnésico, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato magnésico y similares; disolventes; medios de dispersión; recubrimientos; agentes antibacterianos y antifúngicos; agentes isotónicos y de retraso de la absorción; o cualquier otro ingrediente activo. La selección de un vehículo farmacéuticamente aceptable puede depender del modo de administración. Excepto en la medida en que cualquier vehículo farmacológicamente aceptable sea incompatible con el principio activo, está contemplado su uso en composiciones farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos no limitantes de usos específicos de dichos vehículos farmacéuticos se pueden encontrar en PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS AND DRUG DELIVERY SYSTEMS (Howard C. Ansel et al., eds., Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 7ª ed. 1999); REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (Alfonso R. Gennaro ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 20ª ed. 2000); GOODMAN & GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS (Joel G. Hardman et al., eds., McGraw-Hill Professional, 10ª ed. 2001); y HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS (Raymond C. Rowe et al., APhA Publications, 4ª edición 2003). Estos protocolos son procedimientos rutinarios y cualquier modificación está dentro del alcance de un experto en la técnica y de las enseñanzas de la presente memoria.

Está contemplado además que una composición farmacéutica descrita en la presente memoria descriptiva puede incluir opcionalmente, sin limitación, otros componentes farmacéuticamente aceptables (o componentes farmacéuticos), incluyendo, sin limitación, tampones, conservantes, agentes de ajuste de la tonicidad, sales, antioxidantes, agentes de ajuste de la osmolalidad, sustancias fisiológicas, sustancias farmacológicas, agentes de carga, agentes emulsionantes, agentes humectantes, agentes edulcorantes o de sabor, y similares. Se pueden usar diferentes tampones y agentes mencionados para ajustar el pH, para preparar una composición farmacéutica descrita en la presente memoria descriptiva, con la condición de que la preparación resultante sea farmacéuticamente aceptable. Dichos tampones incluyen, sin limitación, tampones de acetato, tampones de citrato, tampones de fosfato, solución salina tamponada neutra, solución salina tamponada con fosfato y tampones de borato. Se entiende que se pueden usar ácidos o bases para ajustar el pH de una composición según sea necesario. Los antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, metabisulfito sódico, tiosulfato sódico, acetilcisteína,

hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado. Los conservantes útiles incluyen, sin limitación, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, una composición de oxi-cloro estabilizada tal como, p. ej., PURITE® y quelantes, tales como, p. ej., DTPA o DTPA-bisamida, DTPA de calcio, y CaNaDTPA-bisamida. Los agentes de ajuste de la tonicidad útiles en una composición farmacéutica incluyen, sin limitación, sales tales como p. ej., cloruro sódico, cloruro potásico, manitol o glicerina y otro agente de ajuste de la tonicidad farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede proporcionar como una sal y se puede formar con muchos ácidos diferentes incluyendo, pero no limitados a clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico y succínico. Las sales tienden a ser más solubles en disolventes acuosos u otros disolventes próticos que las correspondientes formas de base libre. Se entiende que estas y otras sustancias conocidas en la técnica farmacológica se pueden incluir en una composición farmacéutica útil en la memoria descriptiva.

En una realización, una composición comprende la toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. En un aspecto de esta realización, la composición es una composición farmacéutica que comprende una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva. En aspectos de esta realización, una composición farmacéutica que comprende toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva, comprende además un vehículo farmacológico, un componente farmacéutico o tanto un vehículo farmacológico como un componente farmacéutico. En otros aspectos de esta realización, una composición farmacéutica que comprende una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica descrita en la presente memoria descriptiva comprende además al menos un vehículo farmacológico, al menos un componente farmacéutico o al menos un vehículo farmacológico y al menos un componente farmacéutico.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos no limitantes se proporcionan con fines ilustrativos solo con el fin de facilitar una comprensión más completa de las realizaciones descritas y no se pretende de ninguna forma que limiten ninguna de las realizaciones descritas en la presente memoria descriptiva.

Ejemplo 1

Identificación de regiones de sitio de escisión de inactivación

Este ejemplo ilustra cómo identificar regiones dentro de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica adecuadas para modificar la toxina para que comprenda un sitio de escisión de inactivación y cómo hacer una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación.

Para identificar una situación o situaciones en la estructura de proteína adecuadas como una potencial región de sitios de escisión de inactivación, se analizó la estructura tridimensional de una BoNT/A mediante un programa de ordenador para identificar bucles expuestos en la superficie o regiones extendidas que serían más accesibles para una proteasa. De las regiones que se predijo que eran accesibles, se seleccionaron ocho para el análisis adicional: los aminoácidos 462-496 de la SEQ ID NO: 1, aminoácidos 618-634 de la SEQ ID NO: 1, aminoácidos 638-651 de la SEQ ID NO: 1, aminoácidos 665-687 de la SEQ ID NO: 1, aminoácidos 752-765 de la SEQ ID NO: 1, y aminoácidos 826-835 de la SEQ ID NO: 1, aminoácidos 844-863 de la SEQ ID NO: 1, y aminoácidos 871-895 de la SEQ ID NO: 1.

Para determinar si una región identificada por análisis por ordenador podría funcionar como una región de sitios de escisión de inactivación, se modificaron genéticamente sitios de escisión de trombina en esas regiones usando mutagénesis con multicebadores y se ensayó su capacidad para ser escindida por trombina. Se montó una reacción de 50 µl que comprendía un primer conjunto de cebadores oligonucleótidos unidireccionales que contenía cada uno la modificación deseada (125 ng de cada cebador), mezclados en diferentes proporciones con un molde de ADN que comprendía una construcción de expresión que codifica una BoNT/A, tal como, p. ej., una construcción de expresión que comprende la SEQ ID NO: 526 que codifica la SEQ ID NO: 527 o una construcción de expresión que comprende la SEQ ID NO: 528 que codifica la SEQ ID NO: 529, que se hipermetiló con metalasa Dam. A esta mezcla se añadieron 5 µl de 10x tampón de PCR, 1 µl de desoxirribonucleótidos (dNTP), 1 µl de ADN polimerasa PFUULTRA™ High Fidelity 2.5 unidades/µl (Stratagene, La Jolla, CA), ADN ligasa *Pfu*, ATP, y agua exenta de nucleasa hasta un volumen final de 50 µl. Las condiciones del termociclador eran: 30 ciclos de 96°C durante 1 minuto, 60°C durante 30 segundos, y 68°C durante 20 minutos. Después de termociclado, se añadió 1 µl de enzima de restricción *DpnI* (Stratagene, La Jolla, CA) a la reacción y se incubó durante 1 hora a 37°C para digerir el ADN molde y reducir la recuperación de clones de tipo natural. La mezcla de reacción digerida se transformó en células *E. coli* BL21(DE3)Acella electrocompetentes (Edge BioSystems, Gaithersburg, MD) por electroporación, se cultivaron en placas de agar Luria-Bertani al 1.5% (pH 7.0) que contenía 50 µg/ml de kanamicina, y se pusieron en un incubador a 37°C para el desarrollo durante la noche. La bacterias que contenían construcciones de expresión se identificaron como colonias resistentes a la kanamicina. Las construcciones candidato se aislaron usando una procedimiento de minipreparación de plásmido por lisis alcalina y se analizaron por secuenciación para determinar la frecuencia e identificar las mutaciones incorporadas. La tabla 7 cita cada BoNT/A que comprende un sitio de escisión de trombina (BoNT/A-TCS) hecho y ensayado en este análisis de barrido de trombina.

TABLA 7. Análisis de barrido de trombina

Región	Modificación	Expresión	Sensibilidad a la trombina	Potencia de BoNT/A
462-496	T482insLVPRGS	+	ND	ND
462-496	A489insLVPRGS	++	++	ND
618-634	E620insLVPRGS	+	ND	ND
638-651	M646insLVPRGS	-/+	ND	ND
665-687	I673insLVPRGS	+	ND	ND
752-765	E758insLVPRGS	-	ND	ND
826-835	delR827GT-insLVPRGS	-/+	ND	ND
844-863	T844insLVPRGS	+++	+	ND
844-863	D848insLVPRGS	+++	+	ND
844-863	Q852insLVPRGS	-/+	ND	ND
844-863	L862insLVPRGS	+++	++	ND
871-895	E868insLVPRGS			ND
871-895	delE868YIKNI-insLVPRGS			ND
871-895	K871insLVPRGS	+++	+++	ND
871-895	I873insLVPRGS	+++	++++	ND
871-895	delN872IINTS-insLVPRGS			ND
871-895	T876insLVPRGS			ND
871-895	L879insVPRGS			ND
871-895	delL879NLRYE-insLVPRGS			ND
871-895	N880insLVPRGS	+++	++++	4.05
871-895	L881 insVPRGS			ND
871-895	delL881 RYESN-insLVPRGS			ND
871-895	Y883insLVPRGS			ND
871-895	E884insLVPRGS	+++	+++	>50
871-895	S885insLVPRGS			ND
871-895	delH887LIDLS-insLVPRGS			ND
871-895	L888insVPRGS			ND
871-895	D890insLVPRGS	++	++++	3.15
871-895	L891 insVPRG			ND
871-895	delS892RYA-insVPRG			ND
467-496	T482insLVPRGS A489insLVPRGS	+	ND	ND
618-634 665-687	E620insLVPRGS 1673insLVPRGS	+	ND	ND
638-651 665-687	M646insLVPRGS 1673insLVPRGS	+	ND	ND
825-832 871-895	delR827GT-insLVPRGS K871insLVPRGS	+	+++	ND
844-863	T844insLVPRGS Q852insLVPRGS	-/+	ND	ND
844-863	Q852insLVPRGS L862insLVPRGS	-	ND	ND
825-832	delR827GT-insLVPRGS K871insLVPRGS	+	ND	ND

TABLA 7. Análisis de barrido de trombina

Región	Modificación	Expresión	Sensibilidad a la trombina	Potencia de BoNT/A
871-895				
825-832 871-895	delR827GT-insLVPRGS K880insLVPRGS	-	ND	ND
871-895	E868insLVPRGS 1873insLVPRGS			1.32
871-895	delE868YIKNI-insLVPRGS delL881 RYESN-insLVPRGS			0.86
871-895	I873insLVPRGS E884insLVPRGS			1.32
871-895	L881 insVPRGS L891 insVPRG	+++	++++	4.20
Control	Cadena principal	+++	-	Si

Sensibilidad a la proteasa: +, menos de 25% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas; ++, de 25% a 50% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas; +++, de 51% a 75% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas; +++++, más de 75% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas. La potencia de BoNT/A se calcula dividiendo el valor de CE₅₀ de la toxina entre el valor de CE₅₀ del control de cadena principal. ND es no determinado.

Para determinar el nivel de expresión de la proteína soluble para cada BoNT/A-TCS, se expresó una construcción de expresión que comprendía cada BoNT/A-TCS, se purificó por cromatografía de afinidad con metal inmovilizado y se analizó por análisis de SDS-PAGE. Primero, usando una placa de 96 pocillos, se inocularon 100 µl de medio PA-0.5G que contenía kanamicina 50 µg/ml con una sola colonia de células BL21(DE3) que albergaban la construcción de expresión adecuada y se cultivaron a 37°C con agitación durante la noche. Se usó una parte alícuota de 5 µl de este cultivo iniciador para inocular 1 ml de ZYP-5052 que contenía kanamicina 50 µg/ml y se cultivó a 37°C con agitación durante 3.5 horas y después a 22°C durante 16 h. Se añadió una parte alícuota de 110 µl de reactivo de extracción de proteínas que comprendía 10X reactivo de lisis celular FASTBREAK™ (Promega Corp., Madison, WI), nucleasa Benzonase 250 U/ml (EMD Biosciences-Novagen, Madison, WI), y 10X cóctel inhibidor de proteasas III (EMD Biosciences-Calbiochem, Gibbstown, NJ) a cada cultivo de expresión de 1 ml en una placa de 96 pocillos. Después se transfirieron 75 µl de resina HISLINK™ (Promega Corp., Madison, WI) a cada pocillo y la mezcla se mezcló alternativamente mediante pipeteo y con agitación a 900 rpm durante 30 minutos. Los lisatos se transfirieron a una placa de filtró con un tamaño de poros de 25 µm (Promega Corp., Madison, WI), con membranas previamente mojadas con agua, y el líquido se separó por filtración con vacío. La resina se lavó tres veces con 200 µl de tampón de lavado que comprende HEPES 100 mM (pH 7.5), imidazol 10 mM. La proteína se eluyó añadiendo 200 µl de tampón de elución que comprende HEPES 100 mM (pH 7.5), imidazol 500 mM, incubando durante 5 minutos y el eluido se recogió por filtración con vacío en una placa de 96 pocillos.

Para llevar a cabo en análisis de SDS-PAGE, se añadió un volumen igual de 2 x tampón de muestra de Laemmli a la BoNT/A purificada por IMAC que comprende un sitio de escisión de trombina, y la mezcla se incubó a 95°C durante 5 minutos. Se cargó una parte alícuota de 15 µl y se separó por electroforesis en gel de poliacrilamida-MOPS usando geles de poliacrilamida preformados Bis-Tris al 4-12% NUPAGE®Novex (Invitrogen, Inc, Carlsbad, CA) en condiciones reductoras, desnaturizantes. El gel se lavó y fijó en metanol al 10% y ácido acético al 7% durante 30 minutos. Se retiró la solución de lavado y el gel se incubó en solución de gel de tinción de proteínas SYPRO Ruby durante 3 horas a toda la noche a temperatura ambiente. El gel teñido se destiñó en metanol al 10% y ácido acético al 7% durante 30 minutos. El gel desteñido se visualizó con generador de imágenes digitales Fluro-S-Max (Bio-Rad).

Los resultados del análisis de expresión se dan en la tabla 7. En general, las toxinas que albergaban un sitio de escisión de trombina insertado en las regiones de inactivación que comprenden los aminoácidos 462-496 de la SEQ ID NO: 1, aminoácidos 844-863 o aminoácidos 871-895 de la SEQ ID NO: 1 se expresaron bien. Por ejemplo, las toxinas que comprenden A489insLVPRGS fueron expresada en aproximadamente un 50% respecto a la construcción de control de tipo natural y las toxinas que comprenden D848insLVPRGS o N880insLVPRGS fueron expresadas en niveles del control o cercanos a este (tabla 7). Estos resultados ponen de manifiesto que las regiones de sitios de escisión de inactivación situadas dentro del dominio de traslocación y/o el subdominio de unión H_{CN} toleraban la modificación de las regiones para incluir un sitio de escisión de proteasa.

Para explorar más la extensión en la que las regiones de sitios de escisión de inactivación identificadas podrían tolerar modificaciones que introducen un sitio de escisión de proteasa, se modificaron las toxinas para incluir sitios de escisión de trombina a lo largo de la región. Por ejemplo, se hicieron toxinas que comprendían T884insLVPRGS o L862insLVPRGS para examinar la región de sitios de escisión de inactivación que comprende 844-863 de la SEQ ID NO: 1. Igualmente, se hicieron toxinas que comprendían E868insLVPRGS, delE868YIKNI-insLVPRGS, delN872IINTS-insLVPRGS, T876insLVPRGS, L879insVPRGS, delL879NLRYE-insLVPRGS, L881insVPRGS, delL881 RYESN-

insLVPRGS, Y884insLVPRGS, E884insLVPRGS, S885insLVPRGS, delH887LIDLS-insLVPRGS, L888insLVPRGS, L891insVPRG y delS892RYA-insVPRG para examinar la región de sitios de escisión de inactivación región que comprende 871-895 de la SEQ ID NO: 1. Se hicieron modificaciones tanto de inserción como de sustitución para examinar si el tipo de modificación tenían algún efecto. En general, todas las toxinas que albergaban un sitio de escisión de trombina insertado en estas regiones de inactivación fueron expresadas en niveles de o cercanos a los de una construcción de control de tipo natural. Estos resultados ponen de manifiesto que las regiones de sitios de escisión de inactivación dentro del dominio de traslocación y/o el subdominio de unión H_{CN} pueden tolerar modificaciones situadas en cualquier sitio dentro de una región de sitios de inactivación.

Finalmente, se examinó la capacidad de una región de sitios de inactivación para tolerar la presencia de dos o más sitios de escisión de proteasa (tabla 7). Estos resultados indican que las regiones de sitios de escisión de inactivación dentro del dominio de traslocación y/o el subdominio de unión H_{CN} pueden tolerar modificaciones que ponen dos o más sitios de escisión de proteasas dentro de una región de sitios de inactivación.

Para determinar si una BoNT/A que comprende un sitio de escisión de trombina podía ser escindida por trombina, se llevó a cabo un ensayo de escisión con trombina in vitro. Se incubaron 5 µg de cada BoNT/A-TCS purificada, con 1 U de trombina (Novagen) a 23°C durante 1 hora, 3 horas y 18.5 horas. También se configuró un control de enzima cero en paralelo para cada BoNT/A-TCS. Se tomaron muestras en cada punto de medición y se inactivaron con SDS-tampón de carga que incluía DTT y se analizaron por SDS-PAGE como se ha descrito antes.

Los resultados del análisis de expresión se dan en la tabla 7. En general, la modificación de una región de sitios de escisión de inactivación que comprende los aminoácidos 467-496, 844-863 o 871-895 de la SEQ ID NO: 1 para incluir un sitio de escisión de proteasa daba como resultado una toxina que era susceptible de escisión proteolítica por la proteasa adecuada.

Para determinar si una BoNT/A que comprende un sitio de escisión de trombina mantenía su potencia, se llevó a cabo un ensayo de actividad de BoNT/A usando un ensayo de actividad basado en células. Para llevar a cabo un ensayo de actividad basado en células, se cultivaron aproximadamente 1.2×10^6 células Neuro-2a o SiMa en placas de cultivo tisular de 24 pocillos que contenían 1 ml de medio exento de suero que contenía medio esencial mínimo, GLUTAMAX™ I 2 mM con sales de Earle, 1 x complemento B27, 1 x complemento N2, aminoácidos no esenciales 0.1 mM, HEPES 10 mM y GT1 b 25 µg/ml. Las células se incubaron en un incubador a 37°C en 5% de dióxido de carbono hasta que las células se diferenciaron, evaluado por criterios morfológicos rutinarios y convencionales, tales como detención del crecimiento y extensión de neurita (aproximadamente 3 días). Se aspiró el medio de cada pocillo y se sustituyó por 1) medio de nueva aportación que no contenía toxina (línea celular no tratada), o 2) medio de nueva aportación que contenía un complejo de BoNT/A 1 nM (línea celular tratada). Después de incubación durante la noche, las células se lavaron aspirando el medio y aclarando cada pocillo con 200 µl de 1 x PBS. Para recoger las células, se aspiró el 1 x PBS, las células se lisaron por adición de 50 µl de 2 x SDS-tampón de carga, el lisato se transfirió a un tubo de ensayo limpio y la muestra se calentó a 95°C durante 5 minutos.

Para detectar la presencia de los productos SNAP-25 escindidos, se analizó una parte alícuota de cada muestra recogida por transferencia Western. En este análisis, se separó una parte alícuota de 12 µl de la muestra recogida por electroforesis en gel de poli(acrilamida-MOPS usando geles de poli(acrilamida preformados con Bis-Tris al 12% NUPAGE® Novex (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA) en condiciones reductoras desnaturizantes. Los péptidos separados se transfirieron del gel a membranas de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA) por transferencia Western usando un aparato de transferencia celular electroforética semiseca TRANS-BLOT® SD (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Las membranas de PVDF se bloquearon por incubación a temperatura ambiente durante 2 horas en una solución que contenía solución salina tamponada con Tris (TBS) (2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol ácido clorhídrico 25 mM (Tris-HCl)(pH 7.4), cloruro sódico 137 mM, cloruro potásico 2.7 mM), TWEEN-20® al 0.1% (monolaurato de sorbitán polioxietilénico (20)), albúmina de suero bovino al 2% (BSA), 5% leche en polvo desnatada. Las membranas bloqueadas se incubaron a 4 °C durante la noche en TBS, TWEEN-20® al 0.1% (monolaurato de sorbitán polioxietilénico (20)), BSA al 2%, y leche en polvo desnatada al 5% que contenía 1) una dilución 1:5,000 de un anticuerpo monoclonal de ratón α-SNAP-25 como anticuerpo primario (SMI-81; Sternberger Monoclonals Inc., Lutherville, MD); o 2) una dilución 1:5,000 de anticuerpo policlonal de conejo S9684 α-SNAP-25 como anticuerpo secundario (Sigma, St. Louis, MO). Tanto los anticuerpos monoclonales de ratón α-SNAP-25 como policlonales de conejo pueden detectar tanto el sustrato SNAP-25 no escindido como el producto de escisión de SNAP-25, permitiendo evaluar la expresión general de SNAP-25 en cada línea celular y el porcentaje de SNAP-25 escindido después de tratamiento de BoNT/A como un parámetro para evaluar la cantidad de BoNT/A absorbida. Las transferencias hibridadas con anticuerpo primario se lavaron tres veces durante 15 minutos cada vez en TBS, TWEEN-20® (monolaurato de sorbitán polioxietilénico (20)). Las membranas lavadas se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas en TBS, TWEEN-20® al 0.1% (monolaurato de sorbitán polioxietilénico (20)), BSA al 2%, y leche en polvo desnatada al 5% que contenía 1) una dilución 1:10,000 de anticuerpo policlonal de cabra anti-inmunoglobulina G de ratón, cadenas pesada y ligera (IgG, H+L) conjugado con peroxidasa de rábano picante (Zymed, South San Francisco, CA) como un anticuerpo secundario; o 2) una dilución 1:10,000 de anticuerpo policlonal de cabra anti-inmunoglobulina G de conejo, cadenas pesada y ligera (IgG, H+L) conjugado con peroxidasa de rábano picante (Zymed, South San Francisco, CA) como un anticuerpo secundario. Las transferencias hibridadas con anticuerpo secundario se lavaron tres veces durante 15 minutos cada vez en TBS, TWEEN-20® al 0.1% (monolaurato de sorbitán

polioxi-etilénico (20)). La detección de señales de los productos SNAP-25 marcados se visualizaron usando un sistema de detección de transferencia Western ECL Plus™ (GE Healthcare, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) y se adquirieron imágenes de la membrana y el porcentaje de escisión se cuantificó con un Typhoon 9410 Variable Mode Imager y programa Imager Analysis (GE Healthcare, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ). La elección del tamaño de píxeles (100 a 200 píxeles) y ajustes de voltaje PMT (350 a 600, normalmente 400) dependían de la transferencia individual.

Los resultados del análisis de expresión se dan en la tabla 7. En general, la modificación de una región de sitios de escisión de inactivación que comprende los aminoácidos 467-496, 844-863 o 871-895 de la SEQ ID NO: 1 para incluir un sitio de escisión de proteasa dio como resultado una toxina potente que era capaz de ejecutar el proceso de intoxicación completo.

Considerados juntos, estos resultados indican que aunque se identificaron ocho regiones de escisión de inactivación diferentes, no todas podían soportar la inserción de un sitio de escisión de trombina funcional. En general, la modificación de regiones de sitios de escisión de inactivación que comprenden los aminoácidos 467-496, 844-863 y 871-895 de SEQ ID NO: 1 para incluir un sitio de escisión de proteasa dieron como resultado una toxina producida de forma estable que podía ejecutar el proceso de intoxicación completo y era sensible a la escisión proteolítica por la proteasa adecuada.

Debido a que la estructura tridimensional de todas las toxinas clostridiales es similar, las correspondientes posiciones en BoNT/B, BoNT/C1, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F, BoNT/G, TeNT, BaNT y BuNT también son adecuadas como regiones de sitios de escisión de inactivación. La tabla 5 cita estas regiones.

Ejemplo 2

Análisis del sitio de escisión de proteasa

Este ejemplo ilustra como hacer una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación.

Para explorar si los sitios de escisión de proteasas distintas de trombina podrían ser útiles como un sitio de inactivación, se examinaron toxinas que comprendían muchos sitios de escisión de proteasa diferentes.

Para hacer una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación, se modificaron genéticamente sitios de escisión de proteasa en regiones de sitios de escisión de inactivación usando mutagénesis de multicebadores como se describe en el ejemplo 1. La tabla 8 cita construcciones de expresión modificadas para contener un sitio de escisión de proteasa.

Para determinar si una BoNT/A que comprende un sitio de escisión de proteasa podía ser escindida por su proteasa cognada, se llevaron a cabo ensayos de escisión de proteasa in vitro esencialmente como se ha descrito antes, pero usando una proteasa adecuada en lugar de trombina. Se tomaron muestras en todos los tiempos de medición y se inactivaron con SDS-tampón de carga que incluía DTT, y se analizaron por SDS-PAGE como se describe en el ejemplo 1.

Los resultados del análisis de expresión se dan en la tabla 7. En general, la modificación de una región de sitios de escisión de inactivación que comprende los aminoácidos 467-496, 844-863 o 871-895 de la SEQ ID NO: 1 para incluir un sitio de escisión de proteasa dio como resultado una toxina que era susceptible de escisión proteolítica por la proteasa adecuada.

TABLA 8. Análisis de sitios de escisión de proteasa				
Sitio de escisión de proteasa	Región	Modificación	Sensibilidad a proteasa	Potencia de BoNT/A
Factor Xa	535	E535insG	+	2.70
Factor Xa	844-863	L863insIEGR	+	>50
Factor Xa	871-895	K871insIEGR	++	6.15
Factor Xa	871-895	I873insEGR	+	3.97
Factor Xa	871-895	L881 insIEG	ND	ND
Factor Xa	871-895	E884insIEGR	+	2.95
Factor Xa	871-895	L891insIEGR	++	ND
Factor Xa	1272	E1272insG	+	ND

TABLA 8. Análisis de sitios de escisión de proteasa				
Sitio de escisión de proteasa	Región	Modificación	Sensibilidad a proteasa	Potencia de BoNT/A
Factor Xa x 2	535 1272	E535insG E1272insG	+	ND
Factor Xa x 2	871-895	K871insIEGR L891insIEGR	++	4.35
Factor Xa x 2	871-895	I873insEGR L891insIEGR	+	7.63
Factor Xa x 2	871-895	L881insIEG L891insIEGR	++	>50
Factor Xa tPA	871-895	I873insEGR delS885NHLIDL-insPQRGRSA	ND	ND
Factor Xa trombina	871-895	I873insEGR E884insLVPRG	+ + + + +	3.29
MMP-2	871-895	S885insGPLGMLSQ	+	6.55
MMP-2	871-895	delK871NIINTSI-insGPLGMLSQ	++	5.27
MMP-2	871-895	delS885NHLIDLS-insGPLGMLSQ	++	4.76
MMP-9	871-895	K871insGPLGLWAQ	ND	ND
MMP-9	871-895	delK871NIINTSI-insGPLGLWAQ	+	3.36
MMP-9	871-895	I873insGPLGLWAQ		22.8
MMP-9	871-895	delI874NTSILNL-insGPLGLWAQ		37.7
MMP-9	871-895	delL881 RYESNHL-insGPLGLWAQ	ND	ND
MMP-9	871-895	E884insGPLGLWAQ	ND	ND
MMP-9	871-895	delS885NHLIDLS-insGPLGLWAQ	+	4.38
MMP-9	871-895	S885insGPLGLWAQ		3.38
MMP-9	871-895	L891insGPLGLWAQ		20.61
MMP-9	871-895	delK871NIINTSI-insGPLGLWAQ	ND	ND
Trombina		E884insLVPRG		
MMP-9 Factor Xa	871-895	delK871NIINTSI-insGPLGLWAQ E884insIEGR		19.62
u-PA	871-895	delN872IINTSI-insPGSGKSA	+	ND
u-PA	871-895	S885insPGSGKSA	++	3.00
u-PA	871-895	delN886HLIDL-insPGSGKSA	++	4.90
t-PA	871-895	delN872IINTSI-insPQRGRSA	++	3.65
t-PA	871-895	S885insPQRGRSA	+++	3.30
t-PA	871-895	delS885NHLIDL-insPQRGRSA	++	4.80
Trombina tPA	871-895	I873LVPRGS delS885NHLIDL-insPQRGRSA	ND	ND
Furina	871-895	I870insRKKR	+++	6.70
Furina	871-895	delK871NII-insRKKR	+	3.50
Furina	871-895	L881 insRKK	+	7.20
Furina	871-895	delY883ES-insKKR	+	12.1
Furina	871-895	S892RKK	+	15.2
Furina x 2	871-895	delK871NII-insRKKR delY883ES-insKKR	+	12.6
Furina x 2	871-895	delK871NII-insRKKR	++	6.00

TABLA 8. Análisis de sitios de escisión de proteasa

Sitio de escisión de proteasa	Región	Modificación	Sensibilidad a proteasa	Potencia de BoNT/A
		S892RKK		
Furina x 3	871-895	delK871NII-insRKKR delY883ES-insKKR S892RKK	ND	ND
Kell	871-895	L891 insAAF	+	10.8
Kell	871-895	delI889DL-insAAF	+	4.80
Triptasa ε	871-895	K871insIVGGE	+	9.45
Triptasa ε	871-895	K871 insRIVGGE	+	6.48
Triptasa ε	871-895	delN886HLIDL-insRIVGGE		5.50
Triptasa ε	871-895	delN886HLIDL-insKIVGGE	ND	ND
mMMCP-7	871-895	K871insSLSSRQSP		3.90
mMMCP-7	871-895	delN886HLIDLS-insLSSRQSP		4.80
ECE-1	871-895	I870insRPPGFSAF	+	5.70
ECE-1	871-895	K871insAFA	+	3.85
ECE-1	871-895	K871insDIIWVNTPEHVVPYGLGS	+	>50
ECE-1	871-895	K871insRPKPQQFFGLM	ND	ND
ECE-1	871-895	delYES885NHLIDLS-insPKPQQFFGLM	+	9.20
ECE-1	871-895	E884insKAFA	+	2.95
ECE-1	871-895	delS885NHLIDLS-insRPPGFSAF	+	3.70
Catepsina L	871-895	I870insRGFFYTPK	++++	10.3
Catepsina L	871-895	K871insLR	++++	2.25
Catepsina L	871-895	K871insFR	++++	3.05
Catepsina L Trombina	871-895	K871insLR L891insLVPRGS		12.6
PoliArg	844-863	R861insRR	ND	ND
PoliArg	871-895	R882insRRR		Si
PoliArg	871-895	S885insRRR		2.22
PoliArg	871-895	S892insRRR		3.02
PoliArg x 2	844-863 871-895	R861insRR K871 insRKR	ND	ND
PoliArg x 2	844-863 871-895	R861insRR I873insRRRR	ND	ND
PoliArg x 2	844-863 871-895	R861insRR R882insRRR	ND	ND
PoliArg x 2	871-895	K871insRKR S885insRRR		1.92
PoliArg x 2	871-895	R882insRRR S892insRRR	ND	ND

Sensibilidad a la proteasa: +, menos de 25% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas; ++, de 25% a 50% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas; +++, de 51% a 75% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas; +++, más de 75% de la toxina proteolizada en aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas.

TABLA 8. Análisis de sitios de escisión de proteasa

Sitio de escisión de proteasa	Región	Modificación	Sensibilidad a proteasa	Potencia de BoNT/A
La potencia de BoNT/A se calcula dividiendo el valor de CE ₅₀ de la toxina entre el valor de CE ₅₀ del control de cadena principal.				
ND es no determinado				

Para determinar si una BoNT/A que comprendía un sitio de escisión de proteasa mantenía su potencia, se llevó a cabo el ensayo de actividad basado en células descrito antes (tabla 8). En general, las toxinas que comprendían un sitio de escisión de proteasa que presentaban una CE₅₀ de aproximadamente 20 o menos, se consideró que retenían suficiente potencia para justificar la evaluación usando un ensayo basado en animales.

Ejemplo 3

Análisis in vivo

Este ejemplo ilustra cómo evaluar una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación usando un análisis de ensayo basado en animales.

Aunque el ensayo de actividad basado en células es una buena evaluación de si una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación puede ser escindida por su proteasa cognada, se seleccionaron algunos candidatos para la evaluación en un ensayo basado en animales.

Para ensayar la actividad de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación usando un ensayo basado en animales, se llevó a cabo inicialmente un ensayo in vivo de puntuación de abducción de los dedos (DAS, por sus siglas en inglés *Digit Abduction Score*). Ratones CD-1 Fe se pesaron y se pusieron en subconjuntos de 10 animales para el ensayo de DAS discreto. Los ratones se incluyeron en un subconjunto particular basándose en los siguientes criterios: 1) buena salud; 2) respuesta 0 de DAS inicial fuerte; 3) inclusión en un intervalo de mediana de peso de ± 2 g establecido para el subconjunto seleccionado y 4) peso mayor que 17.0 g.

Se inyectó a cada ratón, usando una aguja de calibre 30 en el músculo gastrocnemio de la extremidad trasera derecha: 1) 5 µl de BoNT/A 10.0 nM que comprende un sitio de escisión de inactivación (estudio DAS de una sola dosis); o 2) 5 µl de una de las siete dosis diferentes de BoNT/A que comprende un sitio de escisión de inactivación (0.01 nM, 0.04 nM, 0.12 nM, 0.37 nM, 1.11 nM, 3.33 nM y 10.0 nM; estudio DAS de dosis completo). Como control, se inyectaron en el músculo gastrocnemio de la extremidad trasera izquierda 5 µl de una solución que no contenía ninguna toxina. Se observó en los ratones la respuesta de DAS consecutivamente durante los primeros 4 días. Das se leyó levantando cada ratón por la cola y observando con precisión las extremidades traseras inyectadas. La abducción o no abducción de los dedos traseros puso de manifiesto el efecto de parálisis debida a la toxina de ensayo inyectada en el músculo. La abducción de los dedos de la extremidad trasera inyectada se comparó con la de la extremidad trasera no inyectada, y se puntuó en consecuencia. Los datos de DAS se analizaron calculando la dosis de DE₅₀ basada en la puntuación de DAS media máxima y la AUC (área bajo la curva) en términos de u/Kg y/o ng/kg. Esto se llevó a cabo como sigue: 1) se calculó la puntuación media de DAS máximo para cada dosis en cada estudio; 2) cualquier dosis que provocaba más de cinco muertes en cualquier estudio se eliminó de la consideración; 3) la dosis más alta usada en un estudio individual era la dosis más baja que producía un máximo promedio de 4.0; 4) la dosis más baja usada en un estudio individual dado era la dosis más alta que producía un máximo promedio de 0; 5) se construyeron curvas para cada estudio individual de la DAS máxima frente a log(dosis); 6) se calculó un valor de AUC para cada grupo de 10 ratones de los múltiples grupos en algunos estudios; 7) se construyeron curvas para cada estudio individual de la AUC promedio frente a log(dosis); 8) se construyó una curva de respuestas repetidas x, y, para cada conjunto de estudios idénticos múltiples; para cada toxina de ensayo; 9) los datos de dosis-respuesta se analizaron por regresión no lineal (no ponderada) usando una ecuación logística de tres parámetros (Sigma Plot v 8.0; SPSS Science, Chicago, Illinois) usando la siguiente ecuación:

$$y = a / (1 + (x/x_0)^b)$$

donde y es la respuesta, a es la y_{máx} asintótica, b es la pendiente, x es la dosis, y x₀ es la dosis DE₅₀. Para determinaciones de DE₅₀ máxima, la Y_{máx} se fijó en 4 (lectura máxima de DAS en la escala). Se computaron los valores de DE₅₀ medios (máximo y/o AUC) para cada estudios de ocho dosis realizado.

Los resultados indican que (tabla 9), en general, las toxinas que comprenden un sitio de escisión de inactivación que presentaba una potencia relativa de aproximadamente 10 o superior se consideró que retenían suficiente potencia para justificar la evaluación de su margen de seguridad.

- 5 Para determinar el margen de seguridad de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación, se llevó a cabo un ensayo de letalidad de ratones.

- 10 Para calcular el margen de seguridad de una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación, el valor de DL_{50} obtenido del estudio de letalidad de ratones se dividió entre el valor de CE_{50} obtenido de un estudio de DAS de dosis completa. Una toxina que comprende un sitio de escisión de inactivación se consideró que tenía suficiente actividad en el sitio de escisión de inactivación si presentaba un valor de margen de seguridad de aproximadamente 15 o más.

TABLA 9. Análisis de ensayo basado en animales

Sitio de escisión de proteasa	Región	Modificación	DAS dosis única		DAS de dosis completa		Ensayo de letalidad	Margen de seguridad
			CE_{50}	Relativo	CE_{50}	Relativo	DL_{50}	$DL_{50}/DAS_{DE_{50}}$
Trombina	871-895	I873insLVPGRS	1.08	30.5	ND	ND	ND	ND
Trombina	871-895	L881 insVPRGS	0.37	7.38	ND	ND	ND	ND
Trombina	871-895	E884insLVPRGS	0.16	25.3	0.15	46.7	1.90	12.5
Trombina	871-895	L891 insVPRG	0.12	23.3	0.19	36.8	2.74	14.8
Trombina x 2	871-895	L881 insVPRGS L891 insVPRG	0.25	11.0	0.15	34.5	4.20	26.9
Factor Xa	871-895	I873insEGR	0.11	46.3	0.10	70.0	2.39	23.0
Factor Xa Trombina	871-895	I873insEGR E884insLVPRG	0.09	37.2	0.26	15.3	6.69	26.9
MMP-2	871-895	delK871NIINTSI-insGPLGMLSQ	0.33	10.0	ND	ND	ND	ND
MMP-2	871-895	delS885NHLIDL-insGPLGMLSQ	0.10	34.5	ND	ND	ND	ND
MMP-9	871-895	delK871NIINTSI-insGPLGLWAQ	0.11	29.1	0.16	27.7	5.04	23.9
MMP-9	871-895	delS885NHLIDL-insGPLGLWAQ	0.08	40.8	ND	ND	ND	ND
u-PA	871-895	S885insPGSGKSA	0.03	36.6	ND	ND	ND	ND
u-PA	871-895	delN886HLIDL-insPGSGKSA	0.35	3.52	ND	ND	ND	ND
t-PA	871-895	delN872IINTSI-insPQRGRSA	0.04	30.0	ND	ND	ND	ND
t-PA	871-895	S885insPQRGRSA	0.12	10.1	ND	ND	ND	ND
t-PA	871-895	delS885NHLIDL-insPQRGRSA	0.08	16.0	0.27	25.9	4.46	17.2
Furina	871-895	I870insRKKR	0.80	2.68	ND	ND	ND	ND
Furina x 2	871-895	delK871NII-insRKKR delY883ES-insKKR	0.24	8.93	ND	ND	ND	ND
Furina x 2	871-895	delK871NII-insRKKR S892RKK	0.34	6.25	ND	ND	ND	ND
Triptasa ϵ	871-895	K871insIVGGE	0.14	37.3	ND	ND	ND	ND
Triptasa ϵ	871-895	K871insRIVGGE	0.21	10.4	ND	ND	ND	ND

TABLA 9. Análisis de ensayo basado en animales

Sitio de escisión de proteasa	Región	Modificación	DAS dosis única		DAS de dosis completa		Ensayo de letalidad	Margen de seguridad
			CE ₅₀	Relativo	CE ₅₀	Relativo	DL ₅₀	DL ₅₀ /DAS DE ₅₀
Triptasa ε	871-895	delN886HLIDL-insRIVGGE	0.13	17.2	ND	ND	ND	ND
ECE-1	871-895	E884insKAFA	0.05	43.1	ND	ND	ND	ND
Catespina L	871-895	K871insLR	0.10	34.3	ND	ND	ND	ND
Catespina L	871-895	K871insFR	0.27	13.0	ND	ND	ND	ND
Control	-	WT	0.05	57.0	0.07	32.4	0.88	14.2
ND es no determinado.								

Después del análisis de DAS, una toxina clostridial o toxina clostridial quimérica que comprende un sitio de escisión de inactivación se evaluó usando un ensayo de letalidad de ratones con el fin de determinar el margen de seguridad comparando la DE₅₀ con la DL₅₀.

5 Aunque se han descrito aspectos de la presente memoria descriptiva con referencia a las realizaciones descritas, un experto en la técnica apreciará fácilmente que los ejemplos específicos descritos son solo ilustrativos de estos aspectos y de ninguna forma limitan la presente memoria descriptiva.

10 Listado de secuencias

<110> Steward, Lance E.
Ghanshani, Sanjiv
Fernandez-Salas, Ester
15 Gilmore, Marcella A.
Francis, Joseph
Aoki, Kei Roger

20 <120> Toxinas clostridiales degradables

<130> 17994-PCT (BOT)

<150> US 61/346.578

<151> 20-05-2010

25 <160> 537

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

30 <210> 1

<211> 1296

<212> PRT

<213> Clostridium botulinum A1

35 <400> 1

ES 2 813 650 T3

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

ES 2 813 650 T3

	290						295						300					
Gly 305	Thr	Thr	Ala	Ser	Leu 310	Gln	Tyr	Met	Lys	Asn 315	Val	Phe	Lys	Glu	Lys 320			
Tyr	Leu	Leu	Ser	Glu 325	Asp	Thr	Ser	Gly	Lys 330	Phe	Ser	Val	Asp	Lys 335	Leu			
Lys	Phe	Asp	Lys	Leu 340	Tyr	Lys	Met	Leu 345	Thr	Glu	Ile	Tyr	Thr	Glu 350	Asp			
Asn	Phe	Val	Lys	Phe 355	Phe	Lys	Val	Leu 360	Asn	Arg	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn			
Phe	Asp	Lys	Ala	Val 370	Phe	Lys	Ile	Asn 375	Ile	Val	Pro	Lys	Val	Asn	Tyr			
Thr	Ile	Tyr	Asp	Gly 385	Phe 390	Asn	Leu	Arg	Asn 395	Thr	Asn	Leu	Ala	Ala	Asn 400			
Phe	Asn	Gly	Gln	Asn 405	Thr	Glu	Ile	Asn 410	Asn	Met	Asn	Phe	Thr	Lys 415	Leu			
Lys	Asn	Phe	Thr	Gly 420	Leu	Phe	Glu	Phe 425	Tyr	Lys	Leu	Leu	Cys	Val	Arg			
Gly	Ile	Ile	Thr	Ser 435	Lys	Thr	Lys 440	Ser 445	Leu	Asp	Lys	Gly 445	Tyr	Asn	Lys			
Ala	Leu	Asn	Asp	Leu 450	Cys 455	Ile	Lys	Val	Asn 460	Asn	Trp	Asp	Leu	Phe	Phe			
Ser	Pro	Ser	Glu	Asp 465	Asn 470	Thr	Asn	Asp 475	Leu	Asn	Lys	Gly	Glu	Glu	480			
Ile	Thr	Ser	Asp	Thr 485	Asn	Ile	Glu	Ala 490	Glu	Glu	Asn	Ile	Ser	Leu	495			
Asp	Leu	Ile	Gln	Gln 500	Tyr	Tyr	Leu	Thr 505	Phe	Asn	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro			
Glu	Asn	Ile	Ser	Ile 515	Glu	Asn	Leu	Ser 520	Ser	Asp	Ile	Ile	Gly	Gln	Leu			
Glu	Leu	Met	Pro	Asn 530	Ile	Glu	Arg	Phe 535	Pro	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Glu			
Leu	Asp	Lys	Tyr	Thr 545	Met 550	Phe	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	Gln	Glu	Phe	Glu 560			
His	Gly	Lys	Ser	Arg 565	Ile	Ala	Leu	Thr 570	Asn	Ser	Val	Asn	Glu	Ala	Leu 575			
Leu	Asn	Pro	Ser	Arg 580	Val	Tyr	Thr	Phe 585	Ser	Ser	Asp	Tyr	Val	Lys	590			
Lys	Val	Asn	Lys	Ala 595	Thr	Glu	Ala	Ala 600	Met	Phe	Leu	Gly	Trp	Val	Glu			
Gln	Leu	Val	Tyr	Asp 610	Phe	Thr	Asp	Glu 615	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Thr			
Asp	Lys	Ile	Ala	Asp 625	Ile	Thr	Ile	Ile 630	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala			
Leu	Asn	Ile	Gly	Asn 645	Met	Leu	Tyr	Lys 650	Asp	Asp	Phe	Val	Gly	Ala	Leu			
Ile	Phe	Ser	Gly	Ala 660	Val	Ile	Leu	Leu 665	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Ile	Ala			
Ile	Pro	Val	Leu	Gly 675	Thr	Phe	Ala	Leu 680	Val	Ser	Tyr	Ile	Ala	Asn	Lys			
Val	Leu	Thr	Val	Gln 690	Thr	Ile	Asp	Asn 695	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Asn	Glu			
Lys	Trp	Asp	Glu	Val 705	Tyr 710	Lys	Tyr	Ile	Val	Thr	Asn	Trp	Leu	Ala	Lys 720			
Val	Asn	Thr	Gln	Ile 725	Asp	Leu	Ile	Arg	Lys 730	Lys	Met	Lys	Glu	Ala	Leu			
Glu	Asn	Gln	Ala	Glu 740	Ala	Thr	Lys	Ala 745	Ile	Ile	Asn	Tyr	Gln	Tyr	Asn			
Gln	Tyr	Thr	Glu	Glu 755	Glu	Lys	Asn	Asn 760	Ile	Asn	Phe	Asn	Ile	Asp	Asp			
Leu	Ser	Ser	Lys	Leu 770	Asn	Glu	Ser	Ile 775	Asn	Lys	Ala	Met	Ile	Asn	Ile			
Asn	Lys	Phe	Leu	Asn 785	Gln 790	Cys	Ser	Val	Ser	Tyr	Leu	Met	Asn	Ser	Met			
Ile	Pro	Tyr	Gly	Val 805	Lys	Arg	Leu	Glu	Asp 810	Phe	Asp	Ala	Ser	Leu	Lys			

Asp Ala Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly
 820 825 830
 Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp
 835 840 845
 Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser
 850 855 860
 Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys Asn Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn
 865 870 875 880
 Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Ala Ser
 885 890 895
 Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Asp Lys Asn
 900 905 910
 Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile Glu Val Ile Leu
 915 920 925
 Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser
 930 935 940
 Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn
 945 950 955 960
 Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val
 965 970 975
 Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu
 980 985 990
 Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser
 995 1000 1005
 Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu
 1010 1015 1020
 Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro
 1025 1030 1035 1040
 Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys
 1045 1050 1055
 Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe
 1060 1065 1070
 Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr
 1075 1080 1085
 Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr
 1090 1095 1100
 Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn
 1105 1110 1115 1120
 Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu
 1125 1130 1135
 Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser
 1140 1145 1150
 Ser Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly
 1155 1160 1165
 Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val
 1170 1175 1180
 Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala
 1185 1190 1195 1200
 Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn
 1205 1210 1215
 Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr
 1220 1225 1230
 Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly
 1235 1240 1245
 Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser
 1250 1255 1260
 Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys
 1265 1270 1275 1280
 Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu
 1285 1290 1295

<210> 2

<211> 1296

<212> PRT

<213> Clostridium botulinum A2

<400> 2

ES 2 813 650 T3

Met	Pro	Phe	Val	Asn	Lys	Gln	Phe	Asn	Tyr	Lys	Asp	Pro	Val	Asn	Gly
1				5					10					15	
Val	Asp	Ile	Ala	Tyr	Ile	Lys	Ile	Pro	Asn	Ala	Gly	Gln	Met	Gln	Pro
			20					25					30		
Val	Lys	Ala	Phe	Lys	Ile	His	Asn	Lys	Ile	Trp	Val	Ile	Pro	Glu	Arg
		35					40					45			
Asp	Thr	Phe	Thr	Asn	Pro	Glu	Glu	Gly	Asp	Leu	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu
	50					55					60				
Ala	Lys	Gln	Val	Pro	Val	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Thr	Tyr	Leu	Ser	Thr
65					70					75					80
Asp	Asn	Glu	Lys	Asp	Asn	Tyr	Leu	Lys	Gly	Val	Thr	Lys	Leu	Phe	Glu
				85					90					95	
Arg	Ile	Tyr	Ser	Thr	Asp	Leu	Gly	Arg	Met	Leu	Leu	Thr	Ser	Ile	Val
			100					105						110	
Arg	Gly	Ile	Pro	Phe	Trp	Gly	Gly	Ser	Thr	Ile	Asp	Thr	Glu	Leu	Lys
		115					120					125			
Val	Ile	Asp	Thr	Asn	Cys	Ile	Asn	Val	Ile	Gln	Pro	Asp	Gly	Ser	Tyr
	130					135					140				
Arg	Ser	Glu	Glu	Leu	Asn	Leu	Val	Ile	Ile	Gly	Pro	Ser	Ala	Asp	Ile
145					150					155					160
Ile	Gln	Phe	Glu	Cys	Lys	Ser	Phe	Gly	His	Asp	Val	Leu	Asn	Leu	Thr
				165					170					175	
Arg	Asn	Gly	Tyr	Gly	Ser	Thr	Gln	Tyr	Ile	Arg	Phe	Ser	Pro	Asp	Phe
			180					185						190	
Thr	Phe	Gly	Phe	Glu	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Asp	Thr	Asn	Pro	Leu	Leu
		195					200					205			
Gly	Ala	Gly	Lys	Phe	Ala	Thr	Asp	Pro	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	His	Glu
	210					215					220				
Leu	Ile	His	Ala	Glu	His	Arg	Leu	Tyr	Gly	Ile	Ala	Ile	Asn	Pro	Asn
225					230					235					240
Arg	Val	Phe	Lys	Val	Asn	Thr	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Glu	Met	Ser	Gly	Leu
				245					250					255	
Glu	Val	Ser	Phe	Glu	Glu	Leu	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	His	Asp	Ala	Lys
			260					265					270		
Phe	Ile	Asp	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Glu	Phe	Arg	Leu	Tyr	Tyr	Tyr	Asn
		275					280					285			
Lys	Phe	Lys	Asp	Val	Ala	Ser	Thr	Leu	Asn	Lys	Ala	Lys	Ser	Ile	Ile
	290						295				300				
Gly	Thr	Thr	Ala	Ser	Leu	Gln	Tyr	Met	Lys	Asn	Val	Phe	Lys	Glu	Lys
305					310					315					320
Tyr	Leu	Leu	Ser	Glu	Asp	Thr	Ser	Gly	Lys	Phe	Ser	Val	Asp	Lys	Leu
				325					330					335	
Lys	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Met	Leu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Thr	Glu	Asp
			340					345						350	
Asn	Phe	Val	Asn	Phe	Phe	Lys	Val	Ile	Asn	Arg	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
		355					360					365			
Phe	Asp	Lys	Ala	Val	Phe	Arg	Ile	Asn	Ile	Val	Pro	Asp	Glu	Asn	Tyr
	370					375					380				
Thr	Ile	Lys	Asp	Gly	Phe	Asn	Leu	Lys	Gly	Ala	Asn	Leu	Ser	Thr	Asn
385					390					395					400
Phe	Asn	Gly	Gln	Asn	Thr	Glu	Ile	Asn	Ser	Arg	Asn	Phe	Thr	Arg	Leu
				405					410					415	
Lys	Asn	Phe	Thr	Gly	Leu	Phe	Glu	Phe	Tyr	Lys	Leu	Leu	Cys	Val	Arg
			420					425					430		
Gly	Ile	Ile	Pro	Phe	Lys	Thr	Lys	Ser	Leu	Asp	Glu	Gly	Tyr	Asn	Lys
		435					440					445			
Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Cys	Ile	Lys	Val	Asn	Asn	Trp	Asp	Leu	Phe	Phe
	450					455					460				
Ser	Pro	Ser	Glu	Asp	Asn	Phe	Thr	Asn	Asp	Leu	Asp	Lys	Val	Glu	Glu
465					470					475					480
Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Asn	Ile	Glu	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Ile	Ser	Leu
				485					490						495

```

Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu Thr Phe Asp Phe Asp Asn Glu Pro
      500      505      510
Glu Asn Ile Ser Ile Glu Asn Leu Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu
      515      520      525
Glu Pro Met Pro Asn Ile Glu Arg Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu
      530      535      540
Leu Asp Lys Tyr Thr Met Phe His Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Glu
545      550      555      560
His Gly Asp Ser Arg Ile Ile Leu Thr Asn Ser Ala Glu Glu Ala Leu
      565      570      575
Leu Lys Pro Asn Val Ala Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Lys Tyr Val Lys
      580      585      590
Lys Ile Asn Lys Ala Val Glu Ala Phe Met Phe Leu Asn Trp Ala Glu
      595      600      605
Glu Leu Val Tyr Asp Phe Thr Asp Glu Thr Asn Glu Val Thr Thr Met
      610      615      620
Asp Lys Ile Ala Asp Ile Thr Ile Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Ala
625      630      635      640
Leu Asn Ile Gly Asn Met Leu Ser Lys Gly Glu Phe Val Glu Ala Ile
      645      650      655
Ile Phe Thr Gly Val Val Ala Met Leu Glu Phe Ile Pro Glu Tyr Ala
      660      665      670
Leu Pro Val Phe Gly Thr Phe Ala Ile Val Ser Tyr Ile Ala Asn Lys
      675      680      685
Val Leu Thr Val Gln Thr Ile Asn Asn Ala Leu Ser Lys Arg Asn Glu
      690      695      700
Lys Trp Asp Glu Val Tyr Lys Tyr Thr Val Thr Asn Trp Leu Ala Lys
705      710      715      720
Val Asn Thr Gln Ile Asp Leu Ile Arg Glu Lys Met Lys Lys Ala Leu
      725      730      735
Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn
      740      745      750
Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp
      755      760      765
Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asn Ser Ala Met Ile Asn Ile
      770      775      780
Asn Lys Phe Leu Asp Gln Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met
785      790      795      800
Ile Pro Tyr Ala Val Lys Arg Leu Lys Asp Phe Asp Ala Ser Val Arg
      805      810      815
Asp Val Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Val Leu
      820      825      830
Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Glu Val Asn Asn Thr Leu Ser Ala Asp
      835      840      845
Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr Val Asp Asn Lys Lys Leu Leu Ser
      850      855      860
Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys Asn Ile Val Asn Thr Ser Ile Leu Ser
865      870      875      880
Ile Val Tyr Lys Lys Asp Asp Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Gly Ala
      885      890      895
Lys Ile Asn Ile Gly Asp Arg Val Tyr Tyr Asp Ser Ile Asp Lys Asn
      900      905      910
Gln Ile Lys Leu Ile Asn Leu Glu Ser Ser Thr Ile Glu Val Ile Leu
      915      920      925
Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser
      930      935      940
Phe Trp Ile Lys Ile Pro Lys Tyr Phe Ser Lys Ile Asn Leu Asn Asn
945      950      955      960
Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Ile Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val
      965      970      975
Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Asn Lys Gln
      980      985      990
Asn Ile Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Val Asn Ile Ser
      995      1000      1005
Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu

```



```

1010      1015      1020
Thr Lys Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro
1025      1030      1035      1040
Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Lys Ile Met Phe Lys
1045      1050      1055
Leu Asp Gly Cys Arg Asp Pro Arg Arg Tyr Ile Met Ile Lys Tyr Phe
1060      1065      1070
Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr
1075      1080      1085
Asp Ser Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr
1090      1095      1100
Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Phe Asp Pro Asn
1105      1110      1115      1120
Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Ile Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu
1125      1130      1135
Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Val Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser
1140      1145      1150
Thr Leu Tyr Glu Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly
1155      1160      1165
Asn Glu Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val
1170      1175      1180
Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala
1185      1190      1195      1200
Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn
1205      1210      1215
Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asp Asp Gln Gly Ile Arg
1220      1225      1230
Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly
1235      1240      1245
Phe Ile Gly Phe His Leu Tyr Asp Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser
1250      1255      1260
Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Val Gly Lys Ala Ser Arg Thr Phe Gly Cys
1265      1270      1275      1280
Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Ser Ser Leu
1285      1290      1295

```

<210> 3
 <211> 1292
 5 <212> PRT
 <213> Clostridium botulinum A3

<400> 3

```

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

```

ES 2 813 650 T3

Arg	Asn	Gly	Tyr	Gly	Ser	Thr	Gln	Tyr	Ile	Arg	Phe	Ser	Pro	Asp	Phe
		180						185					190		
Thr	Phe	Gly	Phe	Glu	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Asp	Thr	Asn	Pro	Leu	Leu
		195					200					205			
Gly	Ala	Gly	Thr	Phe	Ala	Thr	Asp	Pro	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	His	Glu
		210				215					220				
Leu	Ile	His	Ala	Ala	His	Arg	Leu	Tyr	Gly	Ile	Ala	Ile	Asn	Pro	Asn
225					230				235						240
Arg	Val	Leu	Lys	Val	Lys	Thr	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Glu	Met	Ser	Gly	Leu
			245						250					255	
Glu	Val	Ser	Phe	Glu	Glu	Leu	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Asn	Asp	Thr	Asn
			260					265					270		
Phe	Ile	Asp	Ser	Leu	Trp	Gln	Lys	Lys	Phe	Ser	Arg	Asp	Ala	Tyr	Asp
		275					280					285			
Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Ala	Arg	Ile	Leu	Asn	Glu	Ala	Lys	Thr	Ile	Val
		290				295					300				
Gly	Thr	Thr	Thr	Pro	Leu	Gln	Tyr	Met	Lys	Asn	Ile	Phe	Ile	Arg	Lys
305					310					315					320
Tyr	Phe	Leu	Ser	Glu	Asp	Ala	Ser	Gly	Lys	Ile	Ser	Val	Asn	Lys	Ala
			325						330					335	
Ala	Phe	Lys	Glu	Phe	Tyr	Arg	Val	Leu	Thr	Arg	Gly	Phe	Thr	Glu	Leu
			340					345					350		
Glu	Phe	Val	Asn	Pro	Phe	Lys	Val	Ile	Asn	Arg	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
			355				360					365			
Phe	Asp	Lys	Ala	Val	Phe	Arg	Ile	Asn	Ile	Val	Pro	Asp	Glu	Asn	Tyr
		370				375					380				
Thr	Ile	Asn	Glu	Gly	Phe	Asn	Leu	Glu	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Gly	Gln
385					390					395					400
Asn	Thr	Glu	Ile	Asn	Ser	Arg	Asn	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Asn	Phe	Thr
			405						410					415	
Gly	Leu	Phe	Glu	Phe	Tyr	Lys	Leu	Leu	Cys	Val	Arg	Gly	Ile	Ile	Pro
			420				425						430		
Phe	Lys	Thr	Lys	Ser	Leu	Asp	Glu	Gly	Tyr	Asn	Lys	Ala	Leu	Asn	Tyr
		435					440					445			
Leu	Cys	Ile	Lys	Val	Asn	Asn	Trp	Asp	Leu	Phe	Phe	Ser	Pro	Ser	Glu
		450				455					460				
Asp	Asn	Phe	Thr	Asn	Asp	Leu	Asp	Lys	Val	Glu	Glu	Ile	Thr	Ala	Asp
465					470					475					480
Thr	Asn	Ile	Glu	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Ile	Ser	Ser	Asp	Leu	Ile	Gln
				485					490					495	
Gln	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Phe	Asp	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser
			500					505						510	
Ile	Glu	Asn	Leu	Ser	Ser	Asp	Ile	Ile	Gly	Gln	Leu	Glu	Pro	Met	Pro
		515					520					525			
Asn	Ile	Glu	Arg	Phe	Pro	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr
		530				535					540				
Thr	Met	Phe	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	Gln	Glu	Phe	Glu	His	Gly	Asp	Ser
545					550					555					560
Arg	Ile	Ile	Leu	Thr	Asn	Ser	Ala	Glu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Pro	Asn
			565						570					575	
Val	Ala	Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Lys	Tyr	Val	Lys	Lys	Ile	Asn	Lys
			580					585					590		
Ala	Val	Glu	Ala	Val	Ile	Phe	Leu	Ser	Trp	Ala	Glu	Glu	Leu	Val	Tyr
		595					600					605			
Asp	Phe	Thr	Asp	Glu	Thr	Asn	Glu	Val	Thr	Thr	Met	Asp	Lys	Ile	Ala
		610				615					620				
Asp	Ile	Thr	Ile	Ile	Val	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly
625					630					635					640
Asn	Met	Val	Ser	Lys	Gly	Glu	Phe	Val	Glu	Ala	Ile	Leu	Phe	Thr	Gly
			645						650					655	
Val	Val	Ala	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Tyr	Ser	Leu	Pro	Val	Phe
		660						665					670		
Gly	Thr	Phe	Ala	Ile	Val	Ser	Tyr	Ile	Ala	Asn	Lys	Val	Leu	Thr	Val
		675					680					685			
Gln	Thr	Ile	Asn	Asn	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Asn	Glu	Lys	Trp	Asp	Glu

ES 2 813 650 T3

690	695	700
Val Tyr Lys Tyr Thr	Val Thr Asn Trp Leu	Ala Lys Val Asn Thr Gln
705	710	715
Ile Asp Leu Ile Arg	Lys Met Lys Lys Ala	Leu Glu Asn Gln Ala
725	730	735
Glu Ala Thr Arg Ala	Ile Ile Asn Tyr Gln	Tyr Asn Gln Tyr Thr Glu
740	745	750
Glu Glu Lys Asn Asn	Ile Asn Phe Asn Ile	Asp Asp Leu Ser Ser Lys
755	760	765
Leu Asn Arg Ser Ile	Asn Arg Ala Met	Ile Asn Ile Asn Lys Phe Leu
770	775	780
Asp Gln Cys Ser Val	Ser Tyr Leu Met	Asn Ser Met Ile Pro Tyr Ala
785	790	795
Val Lys Arg Leu Lys	Asp Phe Asp Ala	Ser Val Arg Asp Val Leu Leu
805	810	815
Lys Tyr Ile Tyr Asp	Asn Arg Gly Thr	Leu Ile Leu Gln Val Asp Arg
820	825	830
Leu Lys Asp Glu Val	Asn Asn Thr Leu	Ser Ala Asp Ile Pro Phe Gln
835	840	845
Leu Ser Lys Tyr Val	Asn Asp Lys Lys	Leu Leu Ser Thr Phe Thr Glu
850	855	860
Tyr Ile Lys Asn Ile	Val Asn Thr Ser	Ile Leu Ser Ile Val Tyr Lys
865	870	875
Lys Asp Asp Leu Ile	Asp Leu Ser Arg	Tyr Gly Ala Lys Ile Asn Ile
885	890	895
Gly Asp Arg Val Tyr	Tyr Asp Ser Ile	Asp Lys Asn Gln Ile Lys Leu
900	905	910
Ile Asn Leu Glu Ser	Ser Thr Ile Glu	Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile
915	920	925
Val Tyr Asn Ser Met	Tyr Glu Asn Phe	Ser Thr Ser Phe Trp Ile Lys
930	935	940
Ile Pro Lys Tyr Phe	Ser Lys Ile Asn	Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile
945	950	955
Ile Asn Cys Ile Glu	Asn Asn Ser Gly	Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr
965	970	975
Gly Glu Ile Ile Trp	Thr Leu Gln Asp	Asn Lys Gln Asn Ile Gln Arg
980	985	990
Val Val Phe Lys Tyr	Ser Gln Met Val	Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn
995	1000	1005
Arg Trp Met Phe Val	Thr Ile Thr Asn	Asn Arg Leu Thr Lys Ser Lys
1010	1015	1020
Ile Tyr Ile Asn Gly	Arg Leu Ile Asp	Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu
1025	1030	1035
Gly Asn Ile His Ala	Ser Asn Lys Ile	Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys
1045	1050	1055
Arg Asp Pro Arg Arg	Tyr Ile Met Ile	Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp
1060	1065	1070
Lys Glu Leu Asn Glu	Lys Glu Ile Lys	Asp Leu Tyr Asp Ser Gln Ser
1075	1080	1085
Asn Pro Gly Ile Leu	Lys Asp Phe Trp	Gly Asn Tyr Leu Gln Tyr Asp
1090	1095	1100
Lys Pro Tyr Tyr Met	Leu Asn Leu Phe	Asp Pro Asn Lys Tyr Val Asp
1105	1110	1115
Val Asn Asn Ile Gly	Ile Arg Gly Tyr	Met Tyr Leu Lys Gly Pro Arg
1125	1130	1135
Gly Ser Val Met Thr	Thr Asn Ile Tyr	Leu Asn Ser Thr Leu Tyr Met
1140	1145	1150
Gly Thr Lys Phe Ile	Ile Lys Lys Tyr	Ala Ser Gly Asn Glu Asp Asn
1155	1160	1165
Ile Val Arg Asn Asn	Asp Arg Val Tyr	Ile Asn Val Val Val Lys Asn
1170	1175	1180
Lys Glu Tyr Arg Leu	Ala Thr Asn Ala	Ser Gln Ala Gly Val Glu Lys
1185	1190	1195
Ile Leu Ser Ala Leu	Glu Ile Pro Asp	Val Gly Asn Leu Ser Gln Val
1205	1210	1215
Val Val Met Lys Ser	Lys Asp Asp Gln	Gly Ile Arg Asn Lys Cys Lys
1220	1225	1230
Met Asn Leu Gln Asp	Asn Asn Gly Asn	Asp Ile Gly Phe Val Gly Phe
1235	1240	1245
His Leu Tyr Asp Asn	Ile Ala Lys Leu	Val Ala Ser Asn Trp Tyr Asn
1250	1255	1260
Arg Gln Val Gly Lys	Ala Ser Arg Thr	Phe Gly Cys Ser Trp Glu Phe
1265	1270	1275
Ile Pro Val Asp Asp	Gly Trp Gly Glu	Ser Ser Leu
1285	1290	

<210> 4
 <211> 1296
 <212> PRT
 <213> Clostridium botulinum A4

5

<400> 4

```

Met Pro Leu Val Asn Gln Gln Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Val Asn Gly
 1      5      10      15
Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Ala Gly Lys Met Gln Pro
      20      25      30
Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Val Trp Val Ile Pro Glu Arg
      35      40      45
Asp Ile Phe Thr Asn Pro Glu Glu Val Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
      50      55      60
Ala Lys Gln Val Pro Ile Ser Tyr Tyr Asp Ser Ala Tyr Leu Ser Thr
      65      70      75      80
Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Ile Lys Leu Phe Glu
      85      90      95
Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Ile Ser Ile Val
      100      105      110
Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Gly Lys Ile Asp Thr Glu Leu Lys
      115      120      125
Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Ile Ile Gln Leu Asp Asp Ser Tyr
      130      135      140
Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Ala Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asn Ile
      145      150      155      160
Ile Glu Ser Gln Cys Ser Ser Phe Arg Asp Asp Val Leu Asn Leu Thr
      165      170      175
Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
      180      185      190
Thr Val Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
      195      200      205
Gly Ala Gly Lys Phe Ala Gln Asp Pro Ala Val Ala Leu Ala His Glu
      210      215      220
Leu Ile His Ala Glu His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Thr Asn
      225      230      235      240
Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ala Gly Leu
      245      250      255
Glu Val Ser Leu Glu Glu Leu Ile Thr Phe Gly Gly Asn Asp Ala Lys
      260      265      270
Phe Ile Asp Ser Leu Gln Lys Lys Glu Phe Ser Leu Tyr Tyr Tyr Asn
      275      280      285
Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
      290      295      300
Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
      305      310      315      320
Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Ala Thr Gly Lys Phe Leu Val Asp Arg Leu
      325      330      335
Lys Phe Asp Glu Leu Tyr Lys Leu Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
      340      345      350
Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
      355      360      365
Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Asp Val Asn Tyr
    
```

10

ES 2 813 650 T3

370	375	380
Thr Ile His Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn		
385	390	395
Phe Asn Gly Gln Asn Ile Glu Ile Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu		400
	405	410
Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys Val Arg		415
	420	425
Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Glu Gly Tyr Asn Lys		430
	435	440
Ala Leu Asn Glu Leu Cys Ile Lys Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe		445
	450	455
Ser Pro Ser Glu Asp Asn Phe Thr Asn Asp Leu Asp Lys Val Glu Glu		460
465	470	475
Ile Thr Ser Asp Thr Asn Ile Glu Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu		480
	485	490
Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu Asn Phe Asn Phe Asp Asn Glu Pro		495
	500	505
Glu Asn Thr Ser Ile Glu Asn Leu Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu		510
	515	520
Glu Pro Met Pro Asn Ile Glu Arg Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu		525
	530	535
Leu Asn Lys Tyr Thr Met Phe His Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Lys		540
545	550	555
His Ser Asn Ser Arg Ile Ile Leu Thr Asn Ser Ala Lys Glu Ala Leu		560
	565	570
Leu Lys Pro Asn Ile Val Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Lys Tyr Ile Lys		575
	580	585
Ala Ile Asn Lys Ala Val Glu Ala Val Thr Phe Val Asn Trp Ile Glu		590
	595	600
Asn Leu Val Tyr Asp Phe Thr Asp Glu Thr Asn Glu Val Ser Thr Met		605
	610	615
Asp Lys Ile Ala Asp Ile Thr Ile Val Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala		620
625	630	635
Leu Asn Ile Gly Asn Met Ile Tyr Lys Gly Glu Phe Val Glu Ala Ile		640
	645	650
Ile Phe Ser Gly Ala Val Ile Leu Leu Glu Ile Val Pro Glu Ile Ala		655
	660	665
Leu Pro Val Leu Gly Thr Phe Ala Leu Val Ser Tyr Val Ser Asn Lys		670
	675	680
Val Leu Thr Val Gln Thr Ile Asp Asn Ala Leu Ser Lys Arg Asn Glu		685
	690	695
Lys Trp Asp Glu Val Tyr Lys Tyr Ile Val Thr Asn Trp Leu Ala Ile		700
705	710	715
Val Asn Thr Gln Ile Asn Leu Ile Arg Glu Lys Met Lys Lys Ala Leu		720
	725	730
Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn		735
	740	745
Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp		750
	755	760
Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asn Ser Ala Met Ile Asn Ile		765
	770	775
Asn Lys Phe Leu Asp Gln Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met		780
785	790	795
Ile Pro Tyr Ala Val Lys Arg Leu Lys Asp Phe Asp Ala Ser Val Arg		800
	805	810
Asp Val Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly		815
	820	825
Gln Val Asn Arg Leu Lys Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Ala Asp		830
	835	840
Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr Val Asp Asn Lys Lys Leu Leu Ser		845
	850	855
Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys Asn Ile Thr Asn Ala Ser Ile Leu Ser		860
865	870	875
Ile Val Tyr Lys Asp Asp Asp Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Gly Ala		880
	885	890
		895

Glu Ile Tyr Asn Gly Asp Lys Val Tyr Tyr Asn Ser Ile Asp Lys Asn
900 905 910
Gln Ile Arg Leu Ile Asn Leu Glu Ser Ser Thr Ile Glu Val Ile Leu
915 920 925
Lys Lys Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser
930 935 940
Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn
945 950 955 960
Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val
965 970 975
Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Phe Gln Asp Thr Gln Glu
980 985 990
Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser
995 1000 1005
Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ile
1010 1015 1020
Thr Lys Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro
1025 1030 1035 1040
Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Lys Ile Met Phe Lys
1045 1050 1055
Leu Asp Gly Cys Arg Asp Pro His Arg Tyr Ile Val Ile Lys Tyr Phe
1060 1065 1070
Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Ser Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr
1075 1080 1085
Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr
1090 1095 1100
Leu Gln Tyr Asp Lys Ser Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn
1105 1110 1115 1120
Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu
1125 1130 1135
Lys Gly Pro Arg Asp Asn Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser
1140 1145 1150
Ser Leu Tyr Met Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly
1155 1160 1165
Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val
1170 1175 1180
Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala
1185 1190 1195 1200
Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn
1205 1210 1215
Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr
1220 1225 1230
Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly
1235 1240 1245
Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser
1250 1255 1260
Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys
1265 1270 1275 1280
Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Arg Glu Arg Pro Leu
1285 1290 1295

<210> 5

<211> 1296

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum A5

<400> 5

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

ES 2 813 650 T3

50	55	60
Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr		
65	70	75
Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu		80
	85	90
Arg Ile Tyr Ser Thr Glu Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val		95
	100	105
Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys		110
	115	120
Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr		125
	130	135
Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile		140
	145	150
Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Asp Val Leu Asn Leu Thr		155
	165	170
Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe		175
	180	185
Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu		190
	195	200
Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu		205
	210	215
Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn		220
	225	230
Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu		235
	245	250
Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Glu His Asp Ala Lys		255
	260	265
Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn		270
	275	280
Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val		285
	290	295
Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys		300
	305	310
Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu		315
	325	330
Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp		335
	340	345
Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn		350
	355	360
Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Glu Val Asn Tyr		365
	370	375
Thr Ile Tyr Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn		380
	385	390
Phe Asn Gly Gln Asn Thr Glu Ile Asn Asn Met Asn Phe Thr Lys Leu		395
	405	410
Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys Val Arg		415
	420	425
Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Glu Gly Tyr Asn Lys		430
	435	440
Ala Leu Asn Asp Leu Cys Ile Lys Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe		445
	450	455
Ser Pro Ser Glu Asp Asn Phe Thr Asn Asp Leu Asn Lys Gly Glu Glu		460
	465	470
Ile Thr Ser Asp Thr Asn Ile Glu Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu		475
	485	490
Asp Leu Ile Gln Gln Tyr Tyr Leu Thr Phe Asn Phe Asp Asn Glu Pro		495
	500	505
Glu Asn Ile Ser Ile Glu Asn Leu Ser Ser Asp Ile Ile Gly Gln Leu		510
	515	520
Glu Leu Met Pro Asn Ile Glu Arg Phe Pro Asn Gly Lys Lys Tyr Glu		525
	530	535
Leu Asp Lys Tyr Thr Met Phe His Tyr Leu Arg Ala Gln Glu Phe Glu		540
	545	550
His Gly Lys Ser Arg Ile Val Leu Thr Asn Ser Val Asn Glu Ala Leu		555
	565	570
		575

ES 2 813 650 T3

Leu	Asn	Pro	Ser	Ser	Val	Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Asp	Tyr	Val	Arg
		580						585				590			
Lys	Val	Asn	Lys	Ala	Thr	Glu	Ala	Ala	Met	Phe	Leu	Gly	Trp	Val	Glu
		595					600					605			
Gln	Leu	Val	Tyr	Asp	Phe	Thr	Asp	Glu	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Thr
		610				615					620				
Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Thr	Ile	Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala
		625			630					635					640
Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Met	Leu	Tyr	Lys	Asp	Asp	Phe	Val	Gly	Ala	Leu
			645						650					655	
Ile	Phe	Ser	Gly	Ala	Val	Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Ile	Ala
			660					665					670		
Ile	Pro	Val	Leu	Gly	Thr	Phe	Ala	Leu	Val	Ser	Tyr	Ile	Ala	Asn	Lys
		675					680					685			
Val	Leu	Thr	Val	Gln	Thr	Ile	Asp	Asn	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Asn	Glu
		690				695					700				
Lys	Trp	Gly	Glu	Val	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Val	Thr	Asn	Trp	Leu	Ala	Lys
		705			710					715					720
Val	Asn	Thr	Gln	Ile	Asp	Leu	Ile	Arg	Lys	Lys	Met	Lys	Glu	Ala	Leu
			725						730					735	
Glu	Asn	Gln	Ala	Glu	Ala	Thr	Lys	Ala	Ile	Ile	Asn	Tyr	Gln	Tyr	Asn
			740					745					750		
Gln	Tyr	Thr	Glu	Glu	Glu	Lys	Asn	Asn	Ile	Asn	Phe	Asn	Ile	Gly	Asp
		755					760					765			
Leu	Ser	Ser	Lys	Leu	Asn	Asp	Ser	Ile	Asn	Lys	Ala	Met	Ile	Asn	Ile
		770				775					780				
Asn	Lys	Phe	Leu	Asn	Gln	Cys	Ser	Val	Ser	Tyr	Leu	Met	Asn	Ser	Met
		785			790					795					800
Ile	Pro	Tyr	Gly	Val	Lys	Arg	Leu	Glu	Asp	Phe	Asp	Ala	Ser	Leu	Lys
			805						810					815	
Asp	Ala	Leu	Leu	Lys	Tyr	Ile	Tyr	Asp	Asn	Arg	Gly	Thr	Leu	Ile	Gly
		820						825					830		
Gln	Val	Asp	Arg	Leu	Lys	Asp	Lys	Val	Asn	Asn	Thr	Leu	Ser	Thr	Asp
		835					840					845			
Ile	Pro	Phe	Gln	Leu	Ser	Lys	Tyr	Val	Asp	Asn	Gln	Arg	Leu	Leu	Ser
		850				855					860				
Thr	Phe	Thr	Glu	Tyr	Ile	Lys	Asn	Ile	Ile	Asn	Thr	Ser	Ile	Leu	Asn
		865			870						875				880
Leu	Arg	Tyr	Glu	Ser	Asn	His	Leu	Ile	Asp	Leu	Ser	Arg	Tyr	Ala	Ser
				885					890						895
Glu	Ile	Asn	Ile	Gly	Ser	Lys	Val	Asn	Phe	Asp	Pro	Ile	Asp	Lys	Asn
			900					905					910		
Gln	Ile	Gln	Leu	Phe	Asn	Leu	Glu	Ser	Ser	Lys	Ile	Glu	Ile	Ile	Leu
		915					920					925			
Lys	Asn	Ala	Ile	Val	Tyr	Asn	Ser	Met	Tyr	Glu	Asn	Phe	Ser	Thr	Ser
		930				935					940				
Phe	Trp	Ile	Lys	Ile	Pro	Lys	Tyr	Phe	Ser	Lys	Ile	Asn	Leu	Asn	Asn
		945			950					955					960
Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Cys	Ile	Glu	Asn	Asn	Ser	Gly	Trp	Lys	Val
			965					970						975	
Ser	Leu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Ile	Ile	Trp	Thr	Leu	Gln	Asp	Asn	Lys	Gln
		980						985					990		
Asn	Ile	Gln	Arg	Val	Val	Phe	Lys	Tyr	Ser	Gln	Met	Val	Ala	Ile	Ser
		995				1000						1005			
Asp	Tyr	Ile	Asn	Arg	Trp	Ile	Phe	Ile	Thr	Ile	Thr	Asn	Asn	Arg	Leu
		1010				1015						1020			
Asn	Asn	Ser	Lys	Ile	Tyr	Ile	Asn	Gly	Arg	Leu	Ile	Asp	Gln	Lys	Pro
		1025			1030					1035					1040
Ile	Ser	Asn	Leu	Gly	Asn	Ile	His	Ala	Ser	Asn	Asn	Ile	Met	Phe	Lys
			1045						1050					1055	
Leu	Asp	Gly	Cys	Arg	Asp	Pro	Gln	Arg	Tyr	Ile	Trp	Ile	Lys	Tyr	Phe
		1060						1065					1070		
Asn	Leu	Phe	Asp	Lys	Glu	Leu	Asn	Glu	Lys	Glu	Ile	Lys	Asp	Leu	Tyr
		1075					1080					1085			
Asp	Asn	Gln	Ser	Asn	Ser	Gly	Ile	Leu	Lys	Asp	Phe	Trp	Gly	Asn	Tyr


```

1090          1095          1100
Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn
1105          1110          1115          1120
Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu
          1125          1130          1135
Lys Gly Pro Arg Gly Ser Ile Val Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser
          1140          1145          1150
Ser Leu Tyr Met Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly
          1155          1160          1165
Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val
          1170          1175          1180
Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala
1185          1190          1195          1200
Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Val Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn
          1205          1210          1215
Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Arg
          1220          1225          1230
Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly
          1235          1240          1245
Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Asp Lys Leu Val Ala Ser
          1250          1255          1260
Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Phe Gly Cys
1265          1270          1275          1280
Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Ser Pro Leu
          1285          1290          1295

```

<210> 6
 <211> 1291
 <212> PRT
 <213> Clostridium botulinum B1

<400> 6

```

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

```

ES 2 813 650 T3

Phe	Met	Gln	Ser	Thr	Asp	Ala	Ile	Gln	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Thr	Phe		
		260						265					270				
Gly	Gly	Gln	Asp	Pro	Ser	Ile	Ile	Thr	Pro	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Ile		
		275						280					285				
Tyr	Asp	Lys	Val	Leu	Gln	Asn	Phe	Arg	Gly	Ile	Val	Asp	Arg	Leu	Asn		
		290						295				300					
Lys	Val	Leu	Val	Cys	Ile	Ser	Asp	Pro	Asn	Ile	Asn	Ile	Asn	Ile	Tyr		
		305				310				315					320		
Lys	Asn	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Tyr	Lys	Phe	Val	Glu	Asp	Ser	Glu	Gly		
			325						330					335			
Lys	Tyr	Ser	Ile	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu		
			340					345						350			
Met	Phe	Gly	Phe	Thr	Glu	Thr	Asn	Ile	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Ile	Lys		
		355					360					365					
Thr	Arg	Ala	Ser	Tyr	Phe	Ser	Asp	Ser	Leu	Pro	Pro	Val	Lys	Ile	Lys		
		370				375						380					
Asn	Leu	Leu	Asp	Asn	Glu	Ile	Tyr	Thr	Ile	Glu	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile		
		385				390				395					400		
Ser	Asp	Lys	Asp	Met	Glu	Lys	Glu	Tyr	Arg	Gly	Gln	Asn	Lys	Ala	Ile		
			405						410					415			
Asn	Lys	Gln	Ala	Tyr	Glu	Glu	Ile	Ser	Lys	Glu	His	Leu	Ala	Val	Tyr		
		420						425					430				
Lys	Ile	Gln	Met	Cys	Lys	Ser	Val	Lys	Ala	Pro	Gly	Ile	Cys	Ile	Asp		
		435					440					445					
Val	Asp	Asn	Glu	Asp	Leu	Phe	Phe	Ile	Ala	Asp	Lys	Asn	Ser	Phe	Ser		
		450				455				460							
Asp	Asp	Leu	Ser	Lys	Asn	Glu	Arg	Ile	Glu	Tyr	Asn	Thr	Gln	Ser	Asn		
		465				470				475					480		
Tyr	Ile	Glu	Asn	Asp	Phe	Pro	Ile	Asn	Glu	Leu	Ile	Leu	Asp	Thr	Asp		
			485					490					495				
Leu	Ile	Ser	Lys	Ile	Glu	Leu	Pro	Ser	Glu	Asn	Thr	Glu	Ser	Leu	Thr		
		500						505					510				
Asp	Phe	Asn	Val	Asp	Val	Pro	Ala	Tyr	Glu	Lys	Gln	Pro	Ala	Ile	Lys		
		515				520						525					
Lys	Ile	Phe	Thr	Asp	Glu	Asn	Thr	Ile	Phe	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Ser	Gln		
		530				535					540						
Thr	Phe	Pro	Leu	Asp	Ile	Arg	Asp	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Ser	Phe	Asp		
		545				550				555					560		
Asp	Ala	Leu	Leu	Phe	Ser	Asn	Lys	Val	Tyr	Ser	Phe	Phe	Ser	Met	Asp		
			565						570					575			
Tyr	Ile	Lys	Thr	Ala	Asn	Lys	Val	Val	Glu	Ala	Gly	Leu	Phe	Ala	Gly		
		580						585					590				
Trp	Val	Lys	Gln	Ile	Val	Asn	Asp	Phe	Val	Ile	Glu	Ala	Asn	Lys	Ser		
		595				600						605					
Asn	Thr	Met	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Ser	Leu	Ile	Val	Pro	Tyr	Ile		
		610				615						620					
Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Val	Gly	Asn	Glu	Thr	Ala	Lys	Gly	Asn	Phe	Glu		
		625				630				635					640		
Asn	Ala	Phe	Glu	Ile	Ala	Gly	Ala	Ser	Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro		
			645						650				655				
Glu	Leu	Leu	Ile	Pro	Val	Val	Gly	Ala	Phe	Leu	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile		
		660					665						670				
Asp	Asn	Lys	Asn	Lys	Ile	Ile	Lys	Thr	Ile	Asp	Asn	Ala	Leu	Thr	Lys		
		675					680					685					
Arg	Asn	Glu	Lys	Trp	Ser	Asp	Met	Tyr	Gly	Leu	Ile	Val	Ala	Gln	Trp		
		690				695					700						
Leu	Ser	Thr	Val	Asn	Thr	Gln	Phe	Tyr	Thr	Ile	Lys	Glu	Gly	Met	Tyr		
		705			710					715					720		
Lys	Ala	Leu	Asn	Tyr	Gln	Ala	Gln	Ala	Leu	Glu	Glu	Ile	Ile	Lys	Tyr		
			725						730					735			
Arg	Tyr	Asn	Ile	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Lys	Ser	Asn	Ile	Asn	Ile	Asp		
		740					745						750				
Phe	Asn	Asp	Ile	Asn	Ser	Lys	Leu	Asn	Glu	Gly	Ile	Asn	Gln	Ala	Ile		
		755					760					765					
Asp	Asn	Ile	Asn	Asn	Phe	Ile	Asn	Gly	Cys	Ser	Val	Ser	Tyr	Leu	Met		

ES 2 813 650 T3

770	775	780
Lys Lys Met Ile Pro Leu	Ala Val Glu Lys Leu	Leu Asp Phe Asp Asn
785	790	795
Thr Leu Lys Lys Asn Leu	Leu Asn Tyr Ile Asp Glu	Asn Lys Leu Tyr
	805	810
Leu Ile Gly Ser Ala Glu	Tyr Glu Lys Ser Lys Val	Asn Lys Tyr Leu
	820	825
Lys Thr Ile Met Pro Phe	Asp Leu Ser Ile Tyr Thr	Asn Asp Thr Ile
	835	840
Leu Ile Glu Met Phe Asn	Lys Tyr Asn Ser Glu Ile	Leu Asn Asn Ile
	850	855
Ile Leu Asn Leu Arg Tyr	Lys Asp Asn Asn Leu Ile	Asp Leu Ser Gly
865	870	875
Tyr Gly Ala Lys Val Glu	Val Tyr Asp Gly Val Glu	Leu Asn Asp Lys
	885	890
Asn Gln Phe Lys Leu Thr	Ser Ser Ala Asn Ser Lys	Ile Arg Val Thr
	900	905
Gln Asn Gln Asn Ile Ile	Phe Asn Ser Val Phe Leu	Asp Phe Ser Val
	915	920
Ser Phe Trp Ile Arg Ile	Pro Lys Tyr Lys Asn Asp	Gly Ile Gln Asn
	930	935
Tyr Ile His Asn Glu Tyr	Thr Ile Ile Asn Cys Met	Lys Asn Asn Ser
945	950	955
Gly Trp Lys Ile Ser Ile	Arg Gly Asn Arg Ile Ile	Trp Thr Leu Ile
	965	970
Asp Ile Asn Gly Lys Thr	Lys Ser Val Phe Phe Glu	Tyr Asn Ile Arg
	980	985
Glu Asp Ile Ser Glu Tyr	Ile Asn Arg Trp Phe Phe	Val Thr Ile Thr
	995	1000
Asn Asn Leu Asn Asn Ala	Lys Ile Tyr Ile Asn Gly	Lys Leu Glu Ser
	1010	1015
Asn Thr Asp Ile Lys Asp	Ile Arg Glu Val Ile Ala	Asn Gly Glu Ile
1025	1030	1035
Ile Phe Lys Leu Asp Gly	Asp Ile Asp Arg Thr Gln	Phe Ile Trp Met
	1045	1050
Lys Tyr Phe Ser Ile Phe	Asn Thr Glu Leu Ser Gln	Ser Asn Ile Glu
	1060	1065
Glu Arg Tyr Lys Ile Gln	Ser Tyr Ser Glu Tyr Leu	Lys Asp Phe Trp
	1075	1080
Gly Asn Pro Leu Met Tyr	Asn Lys Glu Tyr Tyr Met	Phe Asn Ala Gly
	1090	1095
Asn Lys Asn Ser Tyr Ile	Lys Leu Lys Lys Asp Ser	Pro Val Gly Glu
1105	1110	1115
Ile Leu Thr Arg Ser Lys	Tyr Asn Gln Asn Ser Lys	Tyr Ile Asn Tyr
	1125	1130
Arg Asp Leu Tyr Ile Gly	Glu Lys Phe Ile Ile Arg	Arg Lys Ser Asn
	1140	1145
Ser Gln Ser Ile Asn Asp	Asp Ile Val Arg Lys Glu	Asp Tyr Ile Tyr
	1155	1160
Leu Asp Phe Phe Asn Leu	Asn Gln Glu Trp Arg Val	Tyr Ile Tyr Lys
	1170	1175
Tyr Phe Lys Lys Glu Glu	Glu Lys Leu Phe Leu Ala	Pro Ile Ser Asp
1185	1190	1195
Ser Asp Glu Phe Tyr Asn	Thr Ile Gln Ile Lys Glu	Tyr Asp Glu Gln
	1205	1210
Pro Thr Tyr Ser Cys Gln	Leu Leu Phe Lys Lys Asp	Glu Glu Ser Thr
	1220	1225
Asp Glu Ile Gly Leu Ile	Gly Ile His Arg Phe Tyr	Glu Ser Gly Ile
	1235	1240
Val Phe Lys Glu Tyr Lys	Asp Tyr Phe Cys Ile Ser	Lys Trp Tyr Leu
	1250	1255
Lys Glu Val Lys Arg Lys	Pro Tyr Asn Ser Lys Leu	Gly Cys Asn Trp
1265	1270	1275
Gln Phe Ile Pro Lys Asp	Glu Gly Trp Thr Glu	
	1285	1290

<210> 7

<211> 1291

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum B2

<400> 7

ES 2 813 650 T3

Met	Pro	Val	Thr	Ile	Asn	Asn	Phe	Asn	Tyr	Asn	Asp	Pro	Ile	Asp	Asn
1				5					10					15	
Asn	Asn	Ile	Ile	Met	Met	Glu	Pro	Pro	Phe	Ala	Arg	Gly	Thr	Gly	Arg
		20						25					30		
Tyr	Tyr	Lys	Ala	Phe	Lys	Ile	Thr	Asp	Arg	Ile	Trp	Ile	Ile	Pro	Glu
		35					40					45			
Arg	Tyr	Thr	Phe	Gly	Tyr	Lys	Pro	Glu	Asp	Phe	Asn	Lys	Ser	Ser	Gly
	50					55					60				
Ile	Phe	Asn	Arg	Asp	Val	Cys	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Asp	Tyr	Leu	Asn
65					70					75					80
Thr	Asn	Asp	Lys	Lys	Asn	Ile	Phe	Leu	Gln	Thr	Met	Ile	Lys	Leu	Phe
				85					90					95	
Asn	Arg	Ile	Lys	Ser	Lys	Pro	Leu	Gly	Glu	Lys	Leu	Leu	Glu	Met	Ile
			100					105					110		
Ile	Asn	Gly	Ile	Pro	Tyr	Leu	Gly	Asp	Arg	Arg	Val	Pro	Leu	Glu	Glu
		115					120					125			
Phe	Asn	Thr	Asn	Ile	Ala	Ser	Val	Thr	Val	Asn	Lys	Leu	Ile	Ser	Asn
130						135					140				
Pro	Gly	Glu	Val	Glu	Arg	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Ala	Asn	Leu	Ile	Ile
145					150					155					160
Phe	Gly	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Asn	Glu	Asn	Glu	Thr	Ile	Asp	Ile	Gly
				165					170					175	
Ile	Gln	Asn	His	Phe	Ala	Ser	Arg	Glu	Gly	Phe	Gly	Gly	Ile	Met	Gln
			180					185					190		
Met	Lys	Phe	Cys	Pro	Glu	Tyr	Val	Ser	Val	Phe	Asn	Asn	Val	Gln	Glu
		195					200					205			
Asn	Lys	Gly	Ala	Ser	Ile	Phe	Asn	Arg	Arg	Gly	Tyr	Phe	Ser	Asp	Pro
210						215					220				
Ala	Leu	Ile	Leu	Met	His	Glu	Leu	Ile	His	Val	Leu	His	Gly	Leu	Tyr
225					230					235					240
Gly	Ile	Lys	Val	Asp	Asp	Leu	Pro	Ile	Val	Pro	Asn	Glu	Lys	Lys	Phe
			245						250					255	
Phe	Met	Gln	Ser	Thr	Asp	Ala	Ile	Gln	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Thr	Phe
			260					265						270	
Gly	Gly	Gln	Asp	Pro	Ser	Ile	Ile	Thr	Pro	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Ile
		275					280					285			
Tyr	Asp	Lys	Val	Leu	Gln	Asn	Phe	Arg	Gly	Ile	Val	Asp	Arg	Leu	Asn
290						295					300				
Lys	Val	Leu	Val	Cys	Ile	Ser	Asp	Pro	Asn	Ile	Asn	Ile	Asn	Ile	Tyr
305					310					315					320
Lys	Asn	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Tyr	Lys	Phe	Val	Glu	Asp	Ser	Glu	Gly
			325						330					335	
Lys	Tyr	Ser	Ile	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu
			340					345					350		
Met	Phe	Gly	Phe	Thr	Glu	Thr	Asn	Ile	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Ile	Lys
		355					360					365			
Thr	Arg	Ala	Ser	Tyr	Phe	Ser	Asp	Ser	Leu	Pro	Pro	Val	Lys	Ile	Lys
		370					375					380			
Asn	Leu	Leu	Asp	Asn	Glu	Ile	Tyr	Thr	Ile	Glu	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile
385					390					395					400
Ser	Asp	Lys	Asn	Met	Glu	Lys	Glu	Tyr	Arg	Gly	Gln	Asn	Lys	Ala	Ile
			405						410					415	
Asn	Lys	Gln	Ala	Tyr	Glu	Glu	Ile	Ser	Lys	Glu	His	Leu	Ala	Val	Tyr
			420					425					430		
Lys	Ile	Gln	Met	Cys	Lys	Ser	Val	Arg	Ala	Pro	Gly	Ile	Cys	Ile	Asp
		435					440					445			
Val	Asp	Asn	Glu	Asp	Leu	Phe	Phe	Ile	Ala	Asp	Lys	Asn	Ser	Phe	Ser

450	455	460
Asp Asp Leu Ser Lys	Asn Glu Arg Ile Glu Tyr	Asp Thr Gln Ser Asn
465	470	475
Tyr Ile Glu Asn Arg	Ser Ser Ile Asp Glu Leu Ile	Leu Asp Thr Asn
	485	490
Leu Ile Ser Lys Ile	Glu Leu Pro Ser Glu Asn Thr	Glu Ser Leu Thr
	500	505
Asp Phe Asn Val Asp	Val Pro Val Tyr Glu Lys Gln	Pro Ala Ile Lys
	515	520
Lys Ile Phe Thr Asp	Glu Asn Thr Ile Phe Gln Tyr	Leu Tyr Ser Gln
	530	535
Thr Phe Pro Leu Asp	Ile Arg Asp Ile Ser Leu Thr	Ser Ser Phe Asp
	545	550
Asp Ala Leu Leu Phe	Ser Lys Lys Val Tyr Ser Phe	Phe Ser Met Asp
	565	570
Tyr Ile Lys Thr Ala	Asn Lys Val Val Glu Ala Gly	Leu Phe Ala Gly
	580	585
Trp Val Lys Gln Ile	Val Asp Asp Phe Val Ile Glu	Ala Asn Lys Ser
	595	600
Ser Thr Met Asp Lys	Ile Ala Asp Ile Ser Leu Ile	Val Pro Tyr Ile
	610	615
Gly Leu Ala Leu Asn	Val Gly Asn Glu Thr Ala Lys	Gly Asn Phe Glu
	625	630
Asn Ala Phe Glu Ile	Ala Gly Ala Ser Ile Leu Leu	Glu Phe Ile Pro
	645	650
Glu Leu Leu Ile Pro	Val Val Gly Ala Phe Leu Leu	Glu Ser Tyr Ile
	660	665
Asp Asn Lys Asn Lys	Ile Ile Lys Thr Ile Asp Asn	Ala Leu Thr Lys
	675	680
Arg Asp Glu Lys Trp	Ile Asp Met Tyr Gly Leu Ile	Val Ala Gln Trp
	690	695
Leu Ser Thr Val Asn	Thr Gln Phe Tyr Thr Ile Lys	Glu Gly Met Tyr
	705	710
Lys Ala Leu Asn Tyr	Gln Ala Gln Ala Leu Glu Glu	Ile Ile Lys Tyr
	725	730
Lys Tyr Asn Ile Tyr	Ser Glu Lys Glu Lys Ser Asn	Ile Asn Ile Asp
	740	745
Phe Asn Asp Ile Asn	Ser Lys Leu Asn Glu Gly Ile Asn	Gln Ala Ile
	755	760
Asp Asn Ile Asn Asn	Phe Ile Asn Glu Cys Ser Val Ser	Tyr Leu Met
	770	775
Lys Lys Met Ile Pro	Leu Ala Val Glu Lys Leu Leu	Asp Phe Asp Asn
	785	790
Thr Leu Lys Lys Asn	Leu Leu Asn Tyr Ile Asp Glu	Asn Lys Leu Tyr
	805	810
Leu Ile Gly Ser Ala	Glu Tyr Glu Lys Ser Lys Val Asp	Lys His Leu
	820	825
Lys Thr Ile Ile Pro	Phe Asp Leu Ser Lys Tyr Thr Asn	Asn Thr Ile
	835	840
Leu Ile Glu Ile Phe	Asn Lys Tyr Asn Ser Glu Ile Leu	Asn Asn Ile
	850	855
Ile Leu Asn Leu Arg	Tyr Arg Asp Asn Asn Leu Ile Asp	Leu Ser Gly
	865	870
Tyr Gly Ala Asn Val	Glu Val Tyr Asp Gly Val Glu Leu	Asn Asp Lys
	885	890
Asn Gln Phe Lys Leu	Thr Ser Ser Thr Asn Ser Glu Ile Arg	Val Thr
	900	905
Gln Asn Gln Asn Ile	Ile Phe Asn Ser Met Phe Leu Asp	Phe Ser Val
	915	920
Ser Phe Trp Ile Arg	Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly	Ile Gln Asn
	930	935
Tyr Ile His Asn Glu	Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Ile Lys	Asn Asn Ser
	945	950
Gly Trp Lys Ile Ser	Ile Arg Gly Asn Arg Ile Ile Trp	Thr Leu Thr
	965	970
		975

Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Ser Ile Arg
 980 985 990
 Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr
 995 1000 1005
 Asn Asn Ser Asp Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu Glu Ser
 1010 1015 1020
 Asn Ile Asp Ile Lys Asp Ile Gly Glu Val Ile Ala Asn Gly Glu Ile
 1025 1030 1035 1040
 Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg Thr Gln Phe Ile Trp Met
 1045 1050 1055
 Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu Leu Ser Gln Ser Asn Ile Lys
 1060 1065 1070
 Glu Ile Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp
 1075 1080 1085
 Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly
 1090 1095 1100
 Asn Lys Asn Ser Tyr Ile Lys Leu Lys Lys Asp Ser Ser Val Gly Glu
 1105 1110 1115 1120
 Ile Leu Thr Arg Ser Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Asn Tyr Ile Asn Tyr
 1125 1130 1135
 Arg Asn Leu Tyr Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn
 1140 1145 1150
 Ser Gln Ser Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr
 1155 1160 1165
 Leu Asp Phe Phe Asn Ser Asn Arg Glu Trp Arg Val Tyr Ala Tyr Lys
 1170 1175 1180
 Asp Phe Lys Glu Glu Glu Lys Lys Leu Phe Leu Ala Asn Ile Tyr Asp
 1185 1190 1195 1200
 Ser Asn Glu Phe Tyr Lys Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu Gln
 1205 1210 1215
 Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu Ser Thr
 1220 1225 1230
 Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu Ser Gly Thr
 1235 1240 1245
 Val Phe Lys Asn Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser Lys Trp Tyr Leu
 1250 1255 1260
 Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Ser Asp Leu Gly Cys Asn Trp
 1265 1270 1275 1280
 Lys Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr Glu
 1285 1290

<210> 8
 <211> 1291
 5 <212> PRT
 <213> Clostridium botulinum B3

<400> 8

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

ES 2 813 650 T3

130	135	140
Pro Gly Glu Val Glu Arg	Lys Lys Gly Ile Phe Ala Asn Leu Ile Ile	
145	150	155
Phe Gly Pro Gly Pro Val	Leu Asn Glu Asn Glu Thr Ile Asp Ile Gly	160
	165	170
Ile Gln Asn His Phe Ala Ser Arg Glu Gly Phe Gly Gly Ile Met Gln		175
	180	185
Met Lys Phe Cys Pro Glu Tyr Val Ser Val Phe Asn Asn Val Gln Glu		190
	195	200
Asn Lys Gly Ala Ser Ile Phe Asn Arg Arg Gly Tyr Phe Ser Asp Pro		205
	210	215
Ala Leu Ile Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly Leu Tyr		220
225	230	235
Gly Ile Lys Val Asp Asp Leu Pro Ile Val Pro Asn Glu Lys Lys Phe		240
	245	250
Phe Met Gln Ser Thr Asp Ala Ile Gln Ala Glu Glu Leu Tyr Thr Phe		255
	260	265
Gly Gly Gln Asp Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ser Thr Asp Lys Ser Ile		270
	275	280
Tyr Asp Lys Val Leu Gln Asn Phe Arg Gly Ile Val Asp Arg Leu Asn		285
	290	295
Lys Val Leu Val Cys Ile Ser Asp Pro Asn Ile Asn Ile Tyr		300
305	310	315
Lys Asn Lys Phe Lys Asp Lys Tyr Lys Phe Val Glu Asp Ser Glu Gly		320
	325	330
Lys Tyr Ser Ile Asp Val Glu Ser Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Ser Leu		335
	340	345
Met Phe Gly Phe Thr Glu Thr Asn Ile Ala Glu Asn Tyr Lys Ile Lys		350
	355	360
Thr Arg Ala Ser Tyr Phe Ser Asp Ser Leu Pro Pro Val Lys Ile Lys		365
	370	375
Asn Leu Leu Asp Asn Glu Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Gly Phe Asn Ile		380
385	390	395
Ser Asp Lys Asn Met Glu Lys Glu Tyr Arg Gly Gln Asn Lys Ala Ile		400
	405	410
Asn Lys Gln Ala Tyr Glu Glu Ile Ser Lys Glu His Leu Ala Val Tyr		415
	420	425
Lys Ile Gln Met Cys Lys Ser Val Arg Ala Pro Gly Ile Cys Ile Asp		430
	435	440
Val Asp Asn Glu Asp Leu Phe Ile Ala Asp Lys Asn Ser Phe Ser		445
	450	455
Asp Asp Leu Ser Lys Asn Glu Arg Ile Glu Tyr Asp Thr Gln Ser Asn		460
465	470	475
Tyr Ile Glu Asn Arg Ser Ser Ile Asp Glu Leu Ile Leu Asp Thr Asn		480
	485	490
Leu Ile Ser Lys Ile Glu Leu Pro Ser Glu Asn Thr Glu Ser Leu Thr		495
	500	505
Asp Phe Asn Val Asp Val Pro Val Tyr Glu Lys Gln Pro Ala Ile Lys		510
	515	520
Lys Ile Phe Thr Asp Glu Asn Thr Ile Phe Gln Tyr Leu Tyr Ser Gln		525
	530	535
Thr Phe Pro Leu Asp Ile Arg Asp Ile Ser Leu Thr Ser Ser Phe Asp		540
545	550	555
Asp Ala Leu Leu Phe Ser Asn Lys Val Tyr Ser Phe Phe Ser Met Asp		560
	565	570
Tyr Ile Lys Thr Ala Asn Lys Val Val Glu Ala Gly Leu Phe Ala Gly		575
	580	585
Trp Val Lys Gln Ile Val Asp Phe Val Ile Glu Ala Asn Lys Ser		590
	595	600
Ser Thr Met Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Leu Ile Val Pro Tyr Ile		605
	610	615
Gly Leu Ala Leu Asn Val Gly Asn Glu Thr Ala Lys Gly Asn Phe Glu		620
625	630	635
Asn Ala Phe Glu Ile Ala Gly Ala Ser Ile Leu Leu Glu Phe Ile Pro		640
	645	650
		655

Glu Leu Leu Ile Pro Val Val Gly Ala Phe Leu Leu Glu Ser Tyr Ile
 660 665 670
 Asp Asn Lys Asn Lys Ile Ile Lys Thr Ile Asp Asn Ala Leu Thr Lys
 675 680 685
 Arg Asp Glu Lys Trp Ile Asp Met Tyr Gly Leu Ile Val Ala Gln Trp
 690 695 700
 Leu Ser Thr Val Asn Thr Gln Phe Tyr Thr Ile Lys Glu Gly Met Tyr
 705 710 715 720
 Lys Ala Leu Asn Tyr Gln Ala Gln Ala Leu Glu Glu Ile Ile Lys Tyr
 725 730 735
 Lys Tyr Asn Ile Tyr Ser Glu Lys Glu Lys Ser Asn Ile Asn Ile Asp
 740 745 750
 Phe Asn Asp Ile Asn Ser Lys Leu Asn Glu Gly Ile Asn Gln Ala Ile
 755 760 765
 Asp Asn Ile Asn Asn Phe Ile Asn Glu Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met
 770 775 780
 Lys Lys Met Ile Pro Leu Ala Val Glu Lys Leu Leu Asp Phe Asp Asn
 785 790 795 800
 Thr Leu Lys Lys Asn Leu Leu Asn Tyr Ile Asp Glu Asn Lys Leu Tyr
 805 810 815
 Leu Ile Gly Ser Ala Glu Tyr Glu Lys Ser Lys Val Asp Lys His Leu
 820 825 830
 Lys Thr Ile Ile Pro Phe Asp Leu Ser Met Tyr Thr Asn Asn Thr Ile
 835 840 845
 Leu Ile Glu Ile Phe Asn Lys Tyr Asn Ser Glu Ile Leu Asn Asn Ile
 850 855 860
 Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Arg Asp Asn Asn Leu Ile Asp Leu Ser Gly
 865 870 875 880
 Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asn Gly Val Glu Leu Asn Asp Lys
 885 890 895
 Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser Lys Ile Arg Val Thr
 900 905 910
 Gln Asn Gln Asp Ile Ile Phe Asn Ser Met Phe Leu Asp Phe Ser Val
 915 920 925
 Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly Ile Gln Asn
 930 935 940
 Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Ile Lys Asn Asn Ser
 945 950 955 960
 Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Lys Ile Ile Trp Thr Leu Thr
 965 970 975
 Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Ser Ile Arg
 980 985 990
 Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr
 995 1000 1005
 Asn Asn Ser Asp Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu Glu Ser
 1010 1015 1020
 Asn Ile Asp Ile Lys Asp Ile Gly Glu Val Ile Ala Asn Gly Glu Ile
 1025 1030 1035 1040
 Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg Thr Gln Phe Ile Trp Met
 1045 1050 1055
 Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu Leu Ser Gln Ser Asn Ile Lys
 1060 1065 1070
 Glu Ile Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp
 1075 1080 1085
 Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly
 1090 1095 1100
 Asn Lys Asn Ser Tyr Ile Lys Leu Lys Lys Asp Ser Ser Val Gly Glu
 1105 1110 1115 1120
 Ile Leu Thr Arg Ser Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Asn Tyr Ile Asn Tyr
 1125 1130 1135
 Arg Asn Leu Tyr Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn
 1140 1145 1150
 Ser Gln Ser Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr
 1155 1160 1165
 Leu Asp Phe Phe Asn Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr Ala Tyr Lys

ES 2 813 650 T3

```

1170          1175          1180
Asp Phe Lys Lys Lys Glu Glu Lys Leu Phe Leu Ala Asn Ile Tyr Asp
1185          1190          1195          1200
Ser Asn Glu Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu Gln
1205          1210          1215
Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu Ser Thr
1220          1225          1230
Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu Ser Gly Ile
1235          1240          1245
Val Phe Lys Asp Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser Lys Trp Tyr Leu
1250          1255          1260
Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Pro Asn Leu Gly Cys Asn Trp
1265          1270          1275          1280
Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Ile Glu
1285          1290

```

<210> 9

<211> 1291

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum Bnp

<400> 9

```

Met Pro Val Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Asn
1   5   10   15
Asp Asn Ile Ile Met Met Glu Pro Pro Phe Ala Arg Gly Thr Gly Arg
20  25  30
Tyr Tyr Lys Ala Phe Lys Ile Thr Asp Arg Ile Trp Ile Ile Pro Glu
35  40  45
Arg Tyr Thr Phe Gly Tyr Lys Pro Glu Asp Phe Asn Lys Ser Ser Gly
50  55  60
Ile Phe Asn Arg Asp Val Cys Glu Tyr Tyr Asp Pro Asp Tyr Leu Asn
65  70  75  80
Thr Asn Asp Lys Lys Asn Ile Phe Leu Gln Thr Met Ile Lys Leu Phe
85  90  95
Asn Arg Ile Lys Ser Lys Pro Leu Gly Glu Lys Leu Leu Glu Met Ile
100 105 110
Ile Asn Gly Ile Pro Tyr Leu Gly Asp Arg Arg Val Pro Leu Glu Glu
115 120 125
Phe Asn Thr Asn Ile Ala Ser Val Thr Val Asn Lys Leu Ile Ser Asn
130 135 140
Pro Gly Glu Val Glu Gln Lys Lys Gly Ile Phe Ala Asn Leu Ile Ile
145 150 155 160
Phe Gly Pro Gly Pro Val Leu Asn Glu Asn Glu Thr Ile Asp Ile Gly
165 170 175
Ile Gln Asn His Phe Ala Ser Arg Glu Gly Phe Gly Gly Ile Met Gln
180 185 190
Met Lys Phe Cys Pro Glu Tyr Val Ser Val Phe Asn Asn Val Gln Glu
195 200 205
Asn Lys Gly Ala Ser Ile Phe Asn Arg Arg Gly Tyr Phe Ser Asp Pro
210 215 220
Ala Leu Ile Leu Met His Glu Leu Ile His Val Leu His Gly Leu Tyr
225 230 235 240
Gly Ile Lys Val Asp Asp Leu Pro Ile Val Pro Asn Glu Lys Lys Phe
245 250 255
Phe Met Gln Ser Thr Asp Thr Ile Gln Ala Glu Glu Leu Tyr Thr Phe
260 265 270
Gly Gly Gln Asp Pro Ser Ile Ile Ser Pro Ser Thr Asp Lys Ser Ile
275 280 285
Tyr Asp Lys Val Leu Gln Asn Phe Arg Gly Ile Val Asp Arg Leu Asn
290 295 300
Lys Val Leu Val Cys Ile Ser Asp Pro Asn Ile Asn Ile Asn Ile Tyr
305 310 315 320
Lys Asn Lys Phe Lys Asp Lys Tyr Lys Phe Val Glu Asp Ser Glu Gly
325 330 335

```

10

ES 2 813 650 T3

Lys	Tyr	Ser	Ile	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Asn	Lys	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu
			340					345					350		
Met	Phe	Gly	Phe	Thr	Glu	Ile	Asn	Ile	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Ile	Lys
		355					360					365			
Thr	Arg	Ala	Ser	Tyr	Phe	Ser	Asp	Ser	Leu	Pro	Pro	Val	Lys	Ile	Lys
		370				375				380					
Asn	Leu	Leu	Asp	Asn	Glu	Ile	Tyr	Thr	Ile	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile	
385					390					395				400	
Ser	Asp	Lys	Asn	Met	Gly	Lys	Glu	Tyr	Arg	Gly	Gln	Asn	Lys	Ala	Ile
			405						410					415	
Asn	Lys	Gln	Ala	Tyr	Glu	Glu	Ile	Ser	Lys	Glu	His	Leu	Ala	Val	Tyr
			420					425					430		
Lys	Ile	Gln	Met	Cys	Lys	Ser	Val	Lys	Val	Pro	Gly	Ile	Cys	Ile	Asp
		435					440					445			
Val	Asp	Asn	Glu	Asn	Leu	Phe	Phe	Ile	Ala	Asp	Lys	Asn	Ser	Phe	Ser
		450				455				460					
Asp	Asp	Leu	Ser	Lys	Asn	Glu	Arg	Val	Glu	Tyr	Asn	Thr	Gln	Asn	Asn
465					470					475				480	
Tyr	Ile	Gly	Asn	Asp	Phe	Pro	Ile	Asn	Glu	Leu	Ile	Leu	Asp	Thr	Asp
			485						490				495		
Leu	Ile	Ser	Lys	Ile	Glu	Leu	Pro	Ser	Glu	Asn	Thr	Glu	Ser	Leu	Thr
			500					505				510			
Asp	Phe	Asn	Val	Asp	Val	Pro	Val	Tyr	Glu	Lys	Gln	Pro	Ala	Ile	Lys
		515					520					525			
Lys	Val	Phe	Thr	Asp	Glu	Asn	Thr	Ile	Phe	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Ser	Gln
		530				535					540				
Thr	Phe	Pro	Leu	Asn	Ile	Arg	Asp	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Ser	Phe	Asp
545					550					555				560	
Asp	Ala	Leu	Leu	Val	Ser	Ser	Lys	Val	Tyr	Ser	Phe	Phe	Ser	Met	Asp
			565						570					575	
Tyr	Ile	Lys	Thr	Ala	Asn	Lys	Val	Val	Glu	Ala	Gly	Leu	Phe	Ala	Gly
			580					585					590		
Trp	Val	Lys	Gln	Ile	Val	Asp	Asp	Phe	Val	Ile	Glu	Ala	Asn	Lys	Ser
		595					600					605			
Ser	Thr	Met	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Ser	Leu	Ile	Val	Pro	Tyr	Ile
		610				615					620				
Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Val	Gly	Asp	Glu	Thr	Ala	Lys	Gly	Asn	Phe	Glu
625					630					635				640	
Ser	Ala	Phe	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ser	Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro
			645						650					655	
Glu	Leu	Leu	Ile	Pro	Val	Val	Gly	Val	Phe	Leu	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile
			660					665					670		
Asp	Asn	Lys	Asn	Lys	Ile	Ile	Lys	Thr	Ile	Asp	Asn	Ala	Leu	Thr	Lys
		675					680					685			
Arg	Val	Glu													

```

      850              855              860
Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Arg Asp Asn Asn Leu Ile Asp Leu Ser Gly
865              870              875              880
Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val Lys Leu Asn Asp Lys
      885              890              895
Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asp Ser Lys Ile Arg Val Thr
      900              905              910
Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Met Phe Leu Asp Phe Ser Val
      915              920              925
Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Arg Asn Asp Asp Ile Gln Asn
      930              935              940
Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Lys Asn Asn Ser
945              950              955              960
Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile Ile Trp Thr Leu Ile
      965              970              975
Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Asn Ile Arg
      980              985              990
Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr
      995              1000              1005
Asn Asn Leu Asp Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Thr Leu Glu Ser
      1010              1015              1020
Asn Met Asp Ile Lys Asp Ile Gly Glu Val Ile Val Asn Gly Glu Ile
1025              1030              1035              1040
Thr Phe Lys Leu Asp Gly Asp Val Asp Arg Thr Gln Phe Ile Trp Met
      1045              1050              1055
Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Gln Leu Asn Gln Ser Asn Ile Lys
      1060              1065              1070
Glu Ile Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp
      1075              1080              1085
Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly
      1090              1095              1100
Asn Lys Asn Ser Tyr Ile Lys Leu Val Lys Asp Ser Ser Val Gly Glu
1105              1110              1115              1120
Ile Leu Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Asn Tyr Ile Asn Tyr
      1125              1130              1135
Arg Asn Leu Tyr Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn
      1140              1145              1150
Ser Gln Ser Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile His
      1155              1160              1165
Leu Asp Phe Val Asn Ser Asn Glu Glu Trp Arg Val Tyr Ala Tyr Lys
      1170              1175              1180
Asn Phe Lys Glu Gln Glu Gln Lys Leu Phe Leu Ser Ile Ile Tyr Asp
1185              1190              1195              1200
Ser Asn Glu Phe Tyr Lys Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu Gln
      1205              1210              1215
Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu Ser Thr
      1220              1225              1230
Asp Asp Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu Ser Gly Val
      1235              1240              1245
Leu Arg Lys Lys Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser Lys Trp Tyr Leu
      1250              1255              1260
Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Lys Ser Asn Leu Gly Cys Asn Trp
1265              1270              1275              1280
Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr Glu
      1285              1290

```

<210> 10
 <211> 1291
 5 <212> PRT
 <213> Clostridium botulinum Bbv

<400> 10

10 Met Pro Val Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Asn
 1 5 10 15

ES 2 813 650 T3

Asn	Asn	Ile	Ile	Met	Met	Glu	Pro	Pro	Phe	Ala	Arg	Gly	Met	Gly	Arg
		20						25					30		
Tyr	Tyr	Lys	Ala	Phe	Lys	Ile	Thr	Asp	Arg	Ile	Trp	Ile	Ile	Pro	Glu
		35					40					45			
Arg	Tyr	Thr	Phe	Gly	Tyr	Lys	Pro	Glu	Asp	Phe	Asn	Lys	Ser	Ser	Gly
		50				55					60				
Ile	Phe	Asn	Arg	Asp	Val	Cys	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Asp	Tyr	Leu	Asn
65					70					75				80	
Thr	Asn	Asp	Lys	Lys	Asn	Ile	Phe	Leu	Gln	Thr	Met	Ile	Lys	Leu	Phe
			85						90					95	
Asn	Arg	Ile	Lys	Ser	Lys	Pro	Leu	Gly	Glu	Lys	Leu	Leu	Glu	Met	Ile
			100					105					110		
Ile	Asn	Gly	Ile	Pro	Tyr	Leu	Gly	Asp	Arg	Arg	Val	Pro	Leu	Glu	Glu
		115					120					125			
Phe	Asn	Thr	Asn	Ile	Ala	Ser	Val	Thr	Val	Asn	Lys	Leu	Ile	Ser	Asn
		130				135					140				
Pro	Gly	Glu	Val	Glu	Arg	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Ala	Asn	Leu	Ile	Ile
145					150					155					160
Phe	Gly	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Asn	Glu	Asn	Glu	Thr	Ile	Asp	Ile	Gly
			165					170						175	
Ile	Gln	Asn	His	Phe	Ala	Ser	Arg	Glu	Gly	Phe	Gly	Gly	Ile	Met	Gln
		180					185						190		
Met	Lys	Phe	Cys	Pro	Glu	Tyr	Val	Ser	Val	Phe	Asn	Asn	Val	Gln	Glu
		195					200					205			
Asn	Lys	Gly	Ala	Ser	Ile	Phe	Asn	Arg	Arg	Gly	Tyr	Phe	Ser	Asp	Pro
		210				215					220				
Ala	Leu	Ile	Leu	Met	His	Glu	Leu	Ile	His	Val	Leu	His	Gly	Leu	Tyr
225					230					235					240
Gly	Ile	Lys	Val	Asn	Asp	Leu	Pro	Ile	Val	Pro	Asn	Glu	Lys	Lys	Phe
			245					250						255	
Phe	Met	Gln	Ser	Thr	Asp	Ala	Ile	Gln	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Thr	Phe
		260					265						270		
Gly	Gly	Gln	Asp	Pro	Ser	Ile	Ile	Ser	Pro	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Ile
		275					280					285			
Tyr	Asp	Lys	Val	Leu	Gln	Asn	Phe	Arg	Gly	Ile	Val	Asp	Arg	Leu	Asn
		290				295					300				
Lys	Val	Leu	Val	Cys	Ile	Ser	Asp	Pro	Asn	Ile	Asn	Ile	Asn	Ile	Tyr
305					310					315					320
Lys	Asn	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Tyr	Lys	Phe	Val	Glu	Asp	Ser	Glu	Gly
			325						330					335	
Lys	Tyr	Ser	Ile	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu
		340						345					350		
Met	Phe	Gly	Phe	Thr	Glu	Thr	Asn	Ile	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Ile	Lys
		355					360					365			
Thr	Arg	Ala	Ser	Tyr	Phe	Ser	Asp	Ser	Leu	Pro	Pro	Val	Lys	Ile	Lys
		370				375					380				
Asn	Leu	Leu	Asp	Asn	Glu	Ile	Tyr	Thr	Ile	Glu	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile
385					390					395					400
Ser	Asp	Lys	Asn	Met	Glu	Lys	Glu	Tyr	Arg	Gly	Gln	Asn	Lys	Ala	Ile
			405					410						415	
Asn	Lys	Gln	Ala	Tyr	Glu	Glu	Ile	Ser	Lys	Glu	His	Leu	Ala	Val	Tyr
		420						425					430		
Lys	Ile	Gln	Met	Cys	Lys	Ser	Val	Lys	Ala	Pro	Gly	Ile	Cys	Ile	Asp
		435					440					445			
Val	Asp	Asn	Glu	Asp	Leu	Phe	Phe	Ile	Ala	Asp	Lys	Asn	Ser	Phe	Ser
		450				455					460				
Asp	Asp	Leu	Ser	Lys	Asn	Glu	Arg	Ile	Ala	Tyr	Asn	Thr	Gln	Asn	Asn
465					470					475					480
Tyr	Ile	Glu	Asn	Asp	Phe	Ser	Ile	Asn	Glu	Leu	Ile	Leu	Asp	Thr	Asp
			485						490					495	
Leu	Ile	Ser	Lys	Ile	Glu	Leu	Pro	Ser	Glu	Asn	Thr	Glu	Ser	Leu	Thr
		500						505					510		
Asp	Phe	Asn	Val	Tyr	Val	Pro	Val	Tyr	Lys	Lys	Gln	Pro	Ala	Ile	Lys
		515					520					525			
Lys	Ile	Phe	Thr	Asp	Glu	Asn	Thr	Ile	Phe	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Ser	Gln

ES 2 813 650 T3

530	Thr Phe Pro Leu Asp Ile	535	Arg Asp Ile Ser Leu	540	Thr Ser Ser Phe Asp
545	Asp Ala Leu Leu Phe Ser	550	Asn Lys Val Tyr Ser	555	Phe Phe Ser Met Asp
	565		570		575
Tyr Ile Lys Thr Ala Asn Lys Val Val Glu Ala Gly Leu Phe Ala Gly	580	585		590	
Trp Val Lys Gln Ile Val Asp Asp Phe Val Ile Glu Ala Asn Lys Ser	595	600		605	
Ser Thr Met Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Leu Ile Val Pro Tyr Ile	610	615		620	
Gly Leu Ala Leu Asn Val Gly Asn Glu Thr Ala Lys Gly Asn Phe Glu	625	630		635	640
Asn Ala Phe Glu Ile Ala Gly Ala Ser Ile Leu Leu Glu Phe Ile Pro	645	650		655	
Glu Leu Leu Ile Pro Val Val Gly Ala Phe Leu Leu Glu Ser Tyr Ile	660	665		670	
Asp Asn Lys Asn Lys Ile Ile Glu Thr Ile Asn Ser Ala Leu Thr Lys	675	680		685	
Arg Asp Glu Lys Trp Ile Asp Met Tyr Gly Leu Ile Val Ala Gln Trp	690	695		700	
Leu Ser Thr Val Asn Thr Gln Phe Tyr Thr Ile Lys Glu Gly Met Tyr	705	710		715	720
Lys Ala Leu Asn Tyr Gln Ala Gln Ala Leu Glu Glu Ile Ile Lys Tyr	725	730		735	
Lys Tyr Asn Ile Tyr Ser Glu Lys Glu Arg Ser Asn Ile Asn Ile Asp	740	745		750	
Phe Asn Asp Val Asn Ser Lys Leu Asn Glu Gly Ile Asn Gln Ala Ile	755	760		765	
Asp Asn Ile Asn Asn Phe Ile Asn Glu Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met	770	775		780	
Lys Lys Met Ile Pro Leu Ala Val Glu Lys Leu Leu Asp Phe Asp Asn	785	790		795	800
Thr Leu Arg Lys Asn Leu Leu Asn Tyr Ile Asp Glu Asn Lys Leu Tyr	805	810		815	
Leu Ile Gly Ser Ala Glu Tyr Glu Lys Ser Lys Val Asp Lys Tyr Leu	820	825		830	
Lys Thr Ser Ile Pro Phe Asp Leu Ser Thr Tyr Thr Asn Asn Thr Ile	835	840		845	
Leu Ile Glu Ile Phe Asn Lys Tyr Asn Ser Asp Ile Leu Asn Asn Ile	850	855		860	
Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Arg Asp Asn Lys Leu Ile Asp Leu Ser Gly	865	870		875	880
Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val Lys Leu Asn Asp Lys	885	890		895	
Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser Lys Ile Arg Val Ile	900	905		910	
Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Met Phe Leu Asp Phe Ser Val	915	920		925	
Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly Ile Gln Asn	930	935		940	
Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Lys Asn Asn Ser	945	950		955	960
Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Met Ile Ile Trp Thr Leu Ile	965	970		975	
Asp Ile Asn Gly Lys Ile Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Ser Ile Lys	980	985		990	
Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val Thr Ile Thr	995	1000		1005	
Asn Asn Ser Asp Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu Glu Ser	1010	1015		1020	
His Ile Asp Ile Arg Asp Ile Arg Glu Val Ile Ala Asn Asp Glu Ile	1025	1030		1035	1040
Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asn Ile Asp Arg Thr Gln Phe Ile Trp Met	1045	1050		1055	

Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu Leu Ser Gln Ser Asn Ile Glu
1060 1065 1070
Glu Ile Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp
1075 1080 1085
Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly
1090 1095 1100
Asn Lys Asn Ser Tyr Ile Lys Leu Lys Lys Asp Ser Ser Val Gly Glu
1105 1110 1115 1120
Ile Leu Thr Arg Ser Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr
1125 1130 1135
Arg Asp Leu Tyr Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn
1140 1145 1150
Ser Gln Ser Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr
1155 1160 1165
Leu Asp Phe Phe Asn Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr Met Tyr Lys
1170 1175 1180
Tyr Phe Lys Lys Glu Glu Glu Lys Leu Phe Leu Ala Pro Ile Ser Asp
1185 1190 1195 1200
Ser Asp Glu Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu Gln
1205 1210 1215
Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu Ser Thr
1220 1225 1230
Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu Ser Gly Ile
1235 1240 1245
Val Phe Lys Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser Lys Trp Tyr Leu
1250 1255 1260
Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Ser Lys Leu Gly Cys Asn Trp
1265 1270 1275 1280
Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr Glu
1285 1290

<210> 11

<211> 1291

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum C1-1

<400> 11

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

210		215		220	
Leu Ile Leu Met His Glu	Leu Asn His Ala Met His Asn Leu Tyr Gly				
225		230		235	240
Ile Ala Ile Pro Asn Asp Gln Thr Ile Ser Ser Val Thr Ser Asn Ile					
		245		250	255
Phe Tyr Ser Gln Tyr Asn Val Lys Leu Glu Tyr Ala Glu Ile Tyr Ala					
		260		265	270
Phe Gly Gly Pro Thr Ile Asp Leu Ile Pro Lys Ser Ala Arg Lys Tyr					
		275		280	285
Phe Glu Glu Lys Ala Leu Asp Tyr Tyr Arg Ser Ile Ala Lys Arg Leu					
		290		295	300
Asn Ser Ile Thr Thr Ala Asn Pro Ser Ser Phe Asn Lys Tyr Ile Gly					
305		310		315	320
Glu Tyr Lys Gln Lys Leu Ile Arg Lys Tyr Arg Phe Val Val Glu Ser					
		325		330	335
Ser Gly Glu Val Thr Val Asn Arg Asn Lys Phe Val Glu Leu Tyr Asn					
		340		345	350
Glu Leu Thr Gln Ile Phe Thr Glu Phe Asn Tyr Ala Lys Ile Tyr Asn					
		355		360	365
Val Gln Asn Arg Lys Ile Tyr Leu Ser Asn Val Tyr Thr Pro Val Thr					
		370		375	380
Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Val Tyr Asp Ile Gln Asn Gly Phe Asn					
385		390		395	400
Ile Pro Lys Ser Asn Leu Asn Val Leu Phe Met Gly Gln Asn Leu Ser					
		405		410	415
Arg Asn Pro Ala Leu Arg Lys Val Asn Pro Glu Asn Met Leu Tyr Leu					
		420		425	430
Phe Thr Lys Phe Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn					
		435		440	445
Lys Thr Leu Asp Cys Arg Glu Leu Val Lys Asn Thr Asp Leu Pro					
		450		455	460
Phe Ile Gly Asp Ile Ser Asp Val Lys Thr Asp Ile Phe Leu Arg Lys					
465		470		475	480
Asp Ile Asn Glu Glu Thr Glu Val Ile Tyr Tyr Pro Asp Asn Val Ser					
		485		490	495
Val Asp Gln Val Ile Leu Ser Lys Asn Thr Ser Glu His Gly Gln Leu					
		500		505	510
Asp Leu Leu Tyr Pro Ser Ile Asp Ser Glu Ser Glu Ile Leu Pro Gly					
		515		520	525
Glu Asn Gln Val Phe Tyr Asp Asn Arg Thr Gln Asn Val Asp Tyr Leu					
		530		535	540
Asn Ser Tyr Tyr Tyr Leu Glu Ser Gln Lys Leu Ser Asp Asn Val Glu					
545		550		555	560
Asp Phe Thr Phe Thr Arg Ser Ile Glu Glu Ala Leu Asp Asn Ser Ala					
		565		570	575
Lys Val Tyr Thr Tyr Phe Pro Thr Leu Ala Asn Lys Val Asn Ala Gly					
		580		585	590
Val Gln Gly Gly Leu Phe Leu Met Trp Ala Asn Asp Val Val Glu Asp					
		595		600	605
Phe Thr Thr Asn Ile Leu Arg Lys Asp Thr Leu Asp Lys Ile Ser Asp					
		610		615	620
Val Ser Ala Ile Ile Pro Tyr Ile Gly Pro Ala Leu Asn Ile Ser Asn					
625		630		635	640
Ser Val Arg Arg Gly Asn Phe Thr Glu Ala Phe Ala Val Thr Gly Val					
		645		650	655
Thr Ile Leu Leu Glu Ala Phe Pro Glu Phe Thr Ile Pro Ala Leu Gly					
		660		665	670
Ala Phe Val Ile Tyr Ser Lys Val Gln Glu Arg Asn Glu Ile Ile Lys					
		675		680	685
Thr Ile Asp Asn Cys Leu Glu Gln Arg Ile Lys Arg Trp Lys Asp Ser					
		690		695	700
Tyr Glu Trp Met Met Gly Thr Trp Leu Ser Arg Ile Ile Thr Gln Phe					
705		710		715	720
Asn Asn Ile Ser Tyr Gln Met Tyr Asp Ser Leu Asn Tyr Gln Ala Gly					
		725		730	735

Ala Ile Lys Ala Lys Ile Asp Leu Glu Tyr Lys Lys Tyr Ser Gly Ser
 740 745 750
 Asp Lys Glu Asn Ile Lys Ser Gln Val Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu
 755 760 765
 Asp Val Lys Ile Ser Glu Ala Met Asn Asn Ile Asn Lys Phe Ile Arg
 770 775 780
 Glu Cys Ser Val Thr Tyr Leu Phe Lys Asn Met Leu Pro Lys Val Ile
 785 790 795 800
 Asp Glu Leu Asn Glu Phe Asp Arg Asn Thr Lys Ala Lys Leu Ile Asn
 805 810 815
 Leu Ile Asp Ser His Asn Ile Ile Leu Val Gly Glu Val Asp Lys Leu
 820 825 830
 Lys Ala Lys Val Asn Asn Ser Phe Gln Asn Thr Ile Pro Phe Asn Ile
 835 840 845
 Phe Ser Tyr Thr Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Ile Ile Asn Glu Tyr
 850 855 860
 Phe Asn Asn Ile Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys
 865 870 875 880
 Asn Thr Leu Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu
 885 890 895
 Gly Asp Val Gln Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly
 900 905 910
 Ser Ser Gly Glu Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn
 915 920 925
 Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile
 930 935 940
 Arg Ile Asn Lys Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp
 945 950 955 960
 Ser Val Lys Asn Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe
 965 970 975
 Leu Val Phe Thr Leu Lys Gln Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn
 980 985 990
 Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe
 995 1000 1005
 Phe Val Thr Val Thr Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr Ile
 1010 1015 1020
 Asn Gly Lys Leu Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr Gly Ile
 1025 1030 1035 1040
 Asn Phe Ser Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile Pro Asp Thr
 1045 1050 1055
 Gly Leu Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met Trp Ile Arg Asp
 1060 1065 1070
 Phe Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys Asp Ile Asn Ile Leu
 1075 1080 1085
 Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val Lys Asp Tyr Trp Gly Asn
 1090 1095 1100
 Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Val Asn Ile Asp Tyr Leu
 1105 1110 1115 1120
 Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser Arg Gln Ile Val Phe Asn Thr Arg
 1125 1130 1135
 Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn Glu Gly Tyr Lys Ile Ile Ile Lys Arg
 1140 1145 1150
 Ile Arg Gly Asn Thr Asn Asp Thr Arg Val Arg Gly Gly Asp Ile Leu
 1155 1160 1165
 Tyr Phe Asp Met Thr Ile Asn Asn Lys Ala Tyr Asn Leu Phe Met Lys
 1170 1175 1180
 Asn Glu Thr Met Tyr Ala Asp Asn His Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala
 1185 1190 1195 1200
 Ile Gly Leu Arg Glu Gln Thr Lys Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe
 1205 1210 1215
 Gln Ile Gln Pro Met Asn Asn Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe
 1220 1225 1230
 Lys Ser Asn Phe Asn Gly Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly
 1235 1240 1245
 Thr Tyr Arg Phe Arg Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr Leu
 1250 1255 1260
 Val Pro Thr Val Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu Ser Thr
 1265 1270 1275 1280
 Ser Thr His Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu
 1285 1290

5 <210> 12
 <211> 1280
 <212> PRT
 <213> Clostridium botulinum C1-2

<400> 12

```

Met Pro Ile Thr Ile Asn Asn Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asp Asn
 1           5           10           15
Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Asp Thr His Leu Asn Thr Leu Ala Asn Glu
          20           25           30
Pro Glu Lys Ala Phe Arg Ile Ile Gly Asn Ile Trp Val Ile Pro Asp
          35           40           45
Arg Phe Ser Arg Asp Ser Asn Pro Asn Leu Asn Lys Pro Pro Arg Val
 50           55           60
Thr Ser Pro Lys Ser Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Ser Thr Asp
65           70           75           80
Ser Glu Lys Asp Thr Phe Leu Lys Glu Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
          85           90           95
Ile Asn Ser Arg Glu Ile Gly Glu Glu Leu Ile Tyr Arg Leu Ala Thr
          100          105          110
Asp Ile Pro Phe Pro Gly Asn Asn Asn Thr Pro Ile Asn Thr Phe Asp
          115          120          125
Phe Asp Val Asp Phe Asn Ser Val Asp Val Lys Thr Arg Gln Gly Asn
130          135          140
Asn Trp Val Lys Thr Gly Ser Ile Asn Pro Ser Val Ile Ile Thr Gly
145          150          155          160
Pro Arg Glu Asn Ile Ile Asp Pro Glu Thr Ser Thr Phe Lys Leu Thr
          165          170          175
Asn Asn Thr Phe Ala Ala Gln Glu Gly Phe Gly Ala Leu Ser Ile Ile
          180          185          190
Ser Ile Ser Pro Arg Phe Met Leu Thr Tyr Ser Asn Ala Thr Asn Asn
          195          200          205
Val Gly Glu Gly Arg Phe Ser Lys Ser Glu Phe Cys Met Asp Pro Ile
210          215          220
Leu Ile Leu Met His Glu Leu Asn His Thr Met His Asn Leu Tyr Gly
225          230          235          240
Ile Ala Ile Pro Asn Asp Gln Arg Ile Ser Ser Val Thr Ser Asn Ile
          245          250          255
Phe Tyr Ser Gln Tyr Lys Val Lys Leu Glu Tyr Ala Glu Ile Tyr Ala
          260          265          270
Phe Gly Gly Pro Thr Ile Asp Leu Ile Pro Lys Ser Gly Arg Lys Tyr
          275          280          285
Phe Glu Glu Lys Ala Leu Asp Tyr Tyr Arg Ser Ile Ala Lys Arg Leu
290          295          300
Asn Ser Ile Thr Thr Ala Asn Pro Ser Ser Phe Asn Lys Tyr Ile Gly
305          310          315          320
Glu Tyr Lys Gln Lys Leu Ile Arg Lys Tyr Arg Phe Val Val Glu Ser
          325          330          335
Ser Gly Glu Val Ala Val Asp Arg Asn Lys Phe Ala Glu Leu Tyr Lys
          340          345          350
Glu Leu Thr Gln Ile Phe Thr Glu Phe Asn Tyr Ala Lys Ile Tyr Asn
          355          360          365
Val Gln Asn Arg Lys Ile Tyr Leu Ser Asn Val Tyr Thr Pro Val Thr
370          375          380
Ala Asn Ile Leu Asp Asp Asn Val Tyr Asp Ile Gln Asn Gly Phe Asn
385          390          395          400
Ile Pro Lys Ser Asn Leu Asn Val Leu Phe Met Gly Gln Asn Leu Ser
          405          410          415

```

ES 2 813 650 T3

Arg	Asn	Pro	Ala	Leu	Arg	Lys	Val	Asn	Pro	Glu	Asn	Met	Leu	Tyr	Leu
			420					425					430		
Phe	Thr	Lys	Phe	Cys	His	Lys	Ala	Ile	Asp	Gly	Arg	Ser	Leu	Tyr	Asn
			435				440					445			
Lys	Thr	Leu	Asp	Cys	Arg	Glu	Leu	Leu	Val	Lys	Asn	Thr	Asp	Leu	Pro
			450			455					460				
Phe	Ile	Gly	Asp	Ile	Ser	Asp	Ile	Lys	Thr	Asp	Ile	Phe	Leu	Ser	Lys
465					470					475					480
Asp	Ile	Asn	Val	Glu	Thr	Glu	Val	Ile	Asp	Tyr	Pro	Asp	Asn	Val	Ser
				485					490					495	
Val	Asp	Gln	Val	Ile	Leu	Ser	Lys	Asn	Thr	Ser	Glu	His	Gly	Gln	Leu
			500					505					510		
Asp	Leu	Leu	Tyr	Pro	Ile	Ile	Glu	Gly	Glu	Ser	Gln	Val	Leu	Pro	Gly
			515				520					525			
Glu	Asn	Gln	Val	Phe	Tyr	Asp	Asn	Arg	Thr	Gln	Asn	Val	Asp	Tyr	Leu
			530			535					540				
Asn	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Ser	Gln	Lys	Leu	Ser	Asp	Asn	Val	Glu
545					550					555					560
Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Thr	Ser	Ile	Glu	Glu	Ala	Leu	Asp	Asn	Ser	Gly
				565					570					575	
Lys	Val	Tyr	Thr	Tyr	Phe	Pro	Lys	Leu	Ala	Asp	Lys	Val	Asn	Thr	Gly
				580				585					590		
Val	Gln	Gly	Gly	Leu	Phe	Leu	Met	Trp	Ala	Asn	Asp	Val	Val	Glu	Asp
			595				600					605			
Phe	Thr	Thr	Asn	Ile	Leu	Arg	Lys	Asp	Thr	Leu	Asp	Lys	Ile	Ser	Asp
					615						620				
Val	Ser	Ala	Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Ser	Asn
625					630					635					640
Ser	Val	Arg	Arg	Glu	Asn	Phe	Thr	Glu	Ala	Phe	Ala	Val	Thr	Gly	Val
				645					650					655	
Thr	Ile	Leu	Leu	Glu	Ala	Phe	Gln	Glu	Phe	Thr	Ile	Pro	Ala	Leu	Gly
			660					665					670		
Ala	Phe	Val	Ile	Tyr	Ser	Lys	Val	Gln	Glu	Arg	Asn	Glu	Ile	Ile	Lys
			675				680					685			
Thr	Ile	Asp	Asn	Cys	Leu	Glu	Gln	Arg	Ile	Lys	Arg	Trp	Lys	Asp	Ser
				695							700				
Tyr	Glu	Trp	Met	Ile	Gly	Thr	Trp	Leu	Ser	Arg	Ile	Thr	Thr	Gln	Phe
705				710						715					720
Asn	Asn	Ile	Ser	Tyr	Gln	Met	Tyr	Asp	Ser	Leu	Asn	Tyr	Gln	Ala	Asp
				725					730					735	
Ala	Ile	Lys	Asp	Lys	Ile	Asp	Leu	Glu	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Ser	Gly	Ser
			740					745					750		
Asp	Lys	Glu	Asn	Ile	Lys	Ser	Gln	Val	Glu	Asn	Leu	Lys	Asn	Ser	Leu
			755				760					765			
Asp	Ile	Lys													

```

      930              935              940
Lys Asp Leu Thr Asn Ser His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Ser Ile
945              950              955              960
Lys Gln Asn Ser Gly Trp Lys Leu Cys Ile Arg Asn Gly Asn Ile Glu
      965              970              975
Trp Ile Leu Gln Asp Ile Asn Arg Lys Tyr Lys Ser Leu Ile Phe Asp
      980              985              990
Tyr Ser Glu Ser Leu Ser His Thr Gly Tyr Thr Asn Lys Trp Phe Phe
      995              1000              1005
Val Thr Ile Thr Asn Asn Ile Met Gly Tyr Met Lys Leu Tyr Ile Asn
      1010              1015              1020
Gly Glu Leu Lys Gln Ser Glu Arg Ile Glu Asp Leu Asn Glu Val Lys
1025              1030              1035              1040
Leu Asp Lys Thr Ile Val Phe Gly Ile Asp Glu Asn Ile Asp Glu Asn
      1045              1050              1055
Gln Met Leu Trp Ile Arg Asp Phe Asn Ile Phe Ser Lys Glu Leu Ser
      1060              1065              1070
Asn Glu Asp Ile Asn Ile Val Tyr Glu Gly Gln Ile Leu Arg Asn Val
      1075              1080              1085
Ile Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Pro Leu Lys Phe Asp Thr Glu Tyr Tyr
      1090              1095              1100
Ile Ile Asn Asp Asn Tyr Ile Asp Arg Tyr Ile Ala Pro Lys Ser Asn
1105              1110              1115              1120
Ile Leu Val Leu Val Gln Tyr Pro Asp Arg Ser Lys Leu Tyr Thr Gly
      1125              1130              1135
Asn Pro Ile Thr Ile Lys Ser Val Ser Asp Lys Asn Pro Tyr Ser Arg
      1140              1145              1150
Ile Leu Asn Gly Asp Asn Ile Met Phe His Met Leu Tyr Asn Ser Gly
      1155              1160              1165
Lys Tyr Met Ile Ile Arg Asp Thr Asp Thr Ile Tyr Ala Ile Glu Gly
      1170              1175              1180
Arg Glu Cys Ser Lys Asn Cys Val Tyr Ala Leu Lys Leu Gln Ser Asn
1185              1190              1195              1200
Leu Gly Asn Tyr Gly Ile Gly Ile Phe Ser Ile Lys Asn Ile Val Ser
      1205              1210              1215
Gln Asn Lys Tyr Cys Ser Gln Ile Phe Ser Ser Phe Met Lys Asn Thr
      1220              1225              1230
Met Leu Leu Ala Asp Ile Tyr Lys Pro Trp Arg Phe Ser Phe Glu Asn
      1235              1240              1245
Ala Tyr Thr Pro Val Ala Val Thr Asn Tyr Glu Thr Lys Leu Leu Ser
      1250              1255              1260
Thr Ser Ser Phe Trp Lys Phe Ile Ser Arg Asp Pro Gly Trp Val Glu
1265              1270              1275              1280

```

<210> 13

<211> 1276

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum D1

<400> 13

```

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

```

10

Gly	Ser	Pro	Phe	Met	Gly	Asp	Ser	Ser	Thr	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Asp
	115					120					125				
Phe	Thr	Arg	His	Thr	Thr	Asn	Ile	Ala	Val	Glu	Lys	Phe	Glu	Asn	Gly
	130					135					140				
Ser	Trp	Lys	Val	Thr	Asn	Ile	Ile	Thr	Pro	Ser	Val	Leu	Ile	Phe	Gly
	145				150				155						160
Pro	Leu	Pro	Asn	Ile	Leu	Asp	Tyr	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Leu	Gln	Gly
			165					170						175	
Gln	Gln	Ser	Asn	Pro	Ser	Phe	Glu	Gly	Phe	Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Leu
			180				185						190		
Lys	Val	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Leu	Thr	Phe	Ser	Asp	Val	Thr	Ser	Asn
		195					200					205			
Gln	Ser	Ser	Ala	Val	Leu	Gly	Lys	Ser	Ile	Phe	Cys	Met	Asp	Pro	Val
	210					215					220				
Ile	Ala	Leu	Met	His	Glu	Leu	Thr	His	Ser	Leu	His	Gln	Leu	Tyr	Gly
	225				230					235					240
Ile	Asn	Ile	Pro	Ser	Asp	Lys	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Val	Ser	Glu	Gly
			245						250					255	
Phe	Phe	Ser	Gln	Asp	Gly	Pro	Asn	Val	Gln	Phe	Glu	Glu	Leu	Tyr	Thr
			260				265						270		
Phe	Gly	Gly	Leu	Asp	Val	Glu	Ile	Ile	Pro	Gln	Ile	Glu	Arg	Ser	Gln
	275						280					285			
Leu	Arg	Glu	Lys	Ala	Leu	Gly	His	Tyr	Lys	Asp	Ile	Ala	Lys	Arg	Leu
	290					295					300				
Asn	Asn	Ile	Asn	Lys	Thr	Ile	Pro	Ser	Ser	Trp	Ile	Ser	Asn	Ile	Asp
	305				310					315					320
Lys	Tyr	Lys	Lys	Ile	Phe	Ser	Glu	Lys	Tyr	Asn	Phe	Asp	Lys	Asp	Asn
			325						330					335	
Thr	Gly	Asn	Phe	Val	Val	Asn	Ile	Asp	Lys	Phe	Asn	Ser	Leu	Tyr	Ser
			340				345						350		
Asp	Leu	Thr	Asn	Val	Met	Ser	Glu	Val	Val	Tyr	Ser	Ser	Gln	Tyr	Asn
		355					360					365			
Val	Lys	Asn	Arg	Thr	His	Tyr	Phe	Ser	Arg	His	Tyr	Leu	Pro	Val	Phe
	370					375					380				
Ala	Asn	Ile	Leu	Asp	Asp	Asn	Ile	Tyr	Thr	Ile	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn
	385				390					395					400
Leu	Thr	Asn	Lys	Gly	Phe	Asn	Ile	Glu	Asn	Ser	Gly	Gln	Asn	Ile	Glu
			405						410					415	
Arg	Asn	Pro	Ala	Leu	Gln	Lys	Leu	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Val	Asp	Leu
			420					425					430		
Phe	Thr	Lys	Val	Cys	Leu	Arg	Leu	Thr	Lys	Asn	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser
			435				440					445			
Thr	Cys	Ile	Lys	Val	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Pro	Tyr	Val	Ala	Asp	Lys
	450					455					460				
Asp	Ser	Ile	Ser	Gln	Glu	Ile	Phe	Glu	Asn	Lys	Ile	Ile	Thr	Asp	Glu
	465				470					475					480
Thr	Asn	Val	Gln	Asn	Tyr	Ser	Asp	Lys	Phe	Ser	Leu	Asp	Glu	Ser	Ile
			485					490					495		
Leu	Asp	Gly	Gln	Val	Pro	Ile	Asn	Pro	Glu	Ile	Val	Asp	Pro	Leu	Leu
			500					505					510		
Pro	Asn	Val	Asn	Met	Glu	Pro	Leu	Asn	Leu	Pro	Gly	Glu	Glu	Ile	Val
		515					520					525			
Phe	Tyr	Asp	Asp	Ile	Thr	Lys	Tyr	Val	Asp	Tyr	Leu	Asn	Ser	Tyr	Tyr
	530					535					540				
Tyr	Leu	Glu	Ser	Gln	Lys	Leu	Ser	Asn	Asn	Val	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu
	545				550					555					560
Thr	Thr	Ser	Val	Glu	Glu	Ala	Leu	Gly	Tyr	Ser	Asn	Lys	Ile	Tyr	Thr
			565					570						575	
Phe	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Glu	Lys	Val	Asn	Lys	Gly	Val	Gln	Ala	Gly
			580					585					590		
Leu	Phe	Leu	Asn	Trp	Ala	Asn	Glu	Val	Val	Glu	Asp	Phe	Thr	Thr	Asn
		595					600					605			
Ile	Met	Lys	Lys	Asp	Thr	Leu	Asp	Lys	Ile	Ser	Asp	Val	Ser	Val	Ile
	610					615					620				
Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Ser	Ala	Leu	Arg

ES 2 813 650 T3

625				630				635			640
Gly	Asn	Phe	Asn	Gln	Ala	Phe	Ala	Thr	Ala	Gly	Val
				645					650		Ala
Glu	Gly	Phe	Pro	Glu	Phe	Thr	Ile	Pro	Ala	Leu	Gly
			660					665			Val
Tyr	Ser	Ser	Ile	Gln	Glu	Arg	Glu	Lys	Ile	Ile	Lys
		675					680				Thr
Cys	Leu	Glu	Gln	Arg	Val	Lys	Arg	Trp	Lys	Asp	Ser
	690					695				700	Tyr
Val	Ser	Asn	Trp	Leu	Ser	Arg	Ile	Thr	Thr	Gln	Phe
	705				710					715	Asn
Tyr	Gln	Met	Tyr	Asp	Ser	Leu	Ser	Tyr	Gln	Ala	Asp
			725						730		Ala
Lys	Ile	Asp	Leu	Glu	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Ser	Gly	Ser
		740					745				Asp
Ile	Lys	Ser	Gln	Val	Glu	Asn	Leu	Lys	Asn	Ser	Leu
	755					760				765	Asp
Ser	Glu	Ala	Met	Asn	Asn	Ile	Asn	Lys	Phe	Ile	Arg
	770				775					780	Glu
Thr	Tyr	Leu	Phe	Lys	Asn	Met	Leu	Pro	Lys	Val	Ile
	785				790					795	Asp
Lys	Phe	Asp	Leu	Arg	Thr	Lys	Thr	Glu	Leu	Ile	Asn
			805					810			Leu
His	Asn	Ile	Ile	Leu	Val	Gly	Glu	Val	Asp	Arg	Leu
		820						825			Lys
Asn	Glu	Ser	Phe	Glu	Asn	Thr	Met	Pro	Phe	Asn	Ile
	835					840				845	Phe
Asn	Asn	Ser	Leu	Leu	Lys	Asp	Ile	Ile	Asn	Glu	Tyr
	850				855					860	Phe
Asn	Asp	Ser	Lys	Ile	Leu	Ser	Leu	Gln	Asn	Lys	Lys
	865				870					875	Asn
Asp	Thr	Ser	Gly	Tyr	Asn	Ala	Glu	Val	Arg	Val	Gly
			885						890		Asp
Leu	Asn	Thr	Ile	Tyr	Thr	Asn	Asp	Phe	Lys	Leu	Ser
		900						905			Ser
Lys	Ile	Ile	Val	Asn	Leu	Asn	Asn	Ile	Leu	Tyr	Ser
	915					920				925	Ala
Glu	Asn	Ser	Ser	Val	Ser	Phe	Trp	Ile	Lys	Ile	Ser
	930					935				940	Lys
Asn	Ser	His	Asn	Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Ser	Ile
	945				950				955		Glu
Gly	Trp	Lys	Leu	Cys	Ile	Arg	Asn	Gly	Asn	Ile	Glu
			965					970			Trp
Asp	Val	Asn	Arg	Lys	Tyr	Lys	Ser	Leu	Ile	Phe	Asp
		980					985				Tyr
Leu	Ser	His	Thr	Gly	Tyr	Thr	Asn	Lys	Trp	Phe	Phe
		995				1000				1005	Val
Asn	Asn	Ile	Met	Gly	Tyr	Met	Lys	Leu	Tyr	Ile	Asn
	1010				1015					1020	Gly
Gln	Ser	Gln	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Asp	Glu	Val	Lys
	1025				1030				1035		Leu
Ile	Val	Phe	Gly	Ile	Asp	Glu	Asn	Ile	Asp	Glu	Asn
			1045					1050			Gln
Ile	Arg	Asp	Phe	Asn	Ile	Phe	Ser	Lys	Glu	Leu	Ser
		1060					1065				Asn
Asn	Ile	Val	Tyr	Glu	Gly	Gln	Ile	Leu	Arg	Asn	Val
	1075					1080				1085	Ile
Trp	Gly	Asn	Pro	Leu	Lys	Phe	Asp	Thr	Glu	Tyr	Tyr
	1090				1095					1100	Ile
Asn	Tyr	Ile	Asp	Arg	Tyr	Ile	Ala	Pro	Glu	Ser	Asn
	1105				1110				1115		Val
Val	Gln	Tyr	Pro	Asp	Arg	Ser	Lys	Leu	Tyr	Thr	Gly
			1125					1130			Asn
Ile	Lys	Ser	Val	Ser	Asp	Lys	Asn	Pro	Tyr	Ser	Arg
		1140					1145				Ile
											Leu
											Asn
											Gly

Asp Asn Ile Ile Leu His Met Leu Tyr Asn Ser Arg Lys Tyr Met Ile
 1155 1160 1165
 Ile Arg Asp Thr Asp Thr Ile Tyr Ala Thr Gln Gly Gly Glu Cys Ser
 1170 1175 1180
 Gln Asn Cys Val Tyr Ala Leu Lys Leu Gln Ser Asn Leu Gly Asn Tyr
 1185 1190 1195 1200
 Gly Ile Gly Ile Phe Ser Ile Lys Asn Ile Val Ser Lys Asn Lys Tyr
 1205 1210 1215
 Cys Ser Gln Ile Phe Ser Ser Phe Arg Glu Asn Thr Met Leu Leu Ala
 1220 1225 1230
 Asp Ile Tyr Lys Pro Trp Arg Phe Ser Phe Lys Asn Ala Tyr Thr Pro
 1235 1240 1245
 Val Ala Val Thr Asn Tyr Glu Thr Lys Leu Leu Ser Thr Ser Ser Phe
 1250 1255 1260
 Trp Lys Phe Ile Ser Arg Asp Pro Gly Trp Val Glu
 1265 1270 1275

<210> 14

<211> 1285

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum D2

<400> 14

Met Thr Trp Pro Val Lys Asp Phe Asn Tyr Ser Asp Pro Val Asn Asp
 1 5 10 15
 Asn Asp Ile Leu Tyr Leu Arg Ile Pro Gln Asn Lys Leu Ile Thr Thr
 20 25 30
 Pro Val Lys Ala Phe Met Ile Thr Gln Asn Ile Trp Val Ile Pro Glu
 35 40 45
 Arg Phe Ser Ser Asp Thr Asn Pro Ser Leu Ser Lys Pro Pro Arg Pro
 50 55 60
 Thr Ser Lys Tyr Gln Ser Tyr Tyr Asp Pro Ser Tyr Leu Ser Thr Asp
 65 70 75 80
 Glu Gln Lys Asp Thr Phe Leu Lys Gly Ile Ile Lys Leu Phe Lys Arg
 85 90 95
 Ile Asn Glu Arg Asp Ile Gly Lys Lys Leu Ile Asn Tyr Leu Val Val
 100 105 110
 Gly Ser Pro Phe Met Gly Asp Ser Ser Thr Pro Glu Asp Thr Phe Asp
 115 120 125
 Phe Thr Arg His Thr Thr Asn Ile Ala Val Glu Lys Phe Glu Asn Gly
 130 135 140
 Ser Trp Lys Val Thr Asn Ile Ile Thr Pro Ser Val Leu Ile Phe Gly
 145 150 155 160
 Pro Leu Pro Asn Ile Leu Asp Tyr Thr Ala Ser Leu Thr Leu Gln Gly
 165 170 175
 Gln Gln Ser Asn Pro Ser Phe Glu Gly Phe Gly Thr Leu Ser Ile Leu
 180 185 190
 Lys Val Ala Pro Glu Phe Leu Leu Thr Phe Ser Asp Val Thr Ser Asn
 195 200 205
 Gln Ser Ser Ala Val Leu Gly Lys Ser Ile Phe Cys Met Asp Pro Val
 210 215 220
 Ile Ala Leu Met His Glu Leu Thr His Ser Leu His Gln Leu Tyr Gly
 225 230 235 240
 Ile Asn Ile Pro Ser Asp Lys Arg Ile Arg Pro Gln Val Ser Glu Gly
 245 250 255
 Phe Phe Ser Gln Asp Gly Pro Asn Val Gln Phe Glu Glu Leu Tyr Thr
 260 265 270
 Phe Gly Gly Ser Asp Val Glu Ile Ile Pro Gln Ile Glu Arg Leu Gln
 275 280 285
 Leu Arg Glu Lys Ala Leu Gly His Tyr Lys Asp Ile Ala Lys Arg Leu
 290 295 300
 Asn Asn Ile Asn Lys Thr Ile Pro Ser Ser Trp Ser Ser Asn Ile Asp
 305 310 315 320
 Lys Tyr Lys Lys Ile Phe Ser Glu Lys Tyr Asn Phe Asp Lys Asp Asn

10

ES 2 813 650 T3

					325					330					335	
Thr	Gly	Asn	Phe	Val	Val	Asn	Ile	Asp	Lys	Phe	Asn	Ser	Leu	Tyr	Ser	
			340					345					350			
Asp	Leu	Thr	Asn	Val	Met	Ser	Glu	Val	Val	Tyr	Ser	Ser	Gln	Tyr	Asn	
		355					360					365				
Val	Lys	Asn	Arg	Thr	His	Tyr	Phe	Ser	Lys	His	Tyr	Leu	Pro	Val	Phe	
	370					375					380					
Ala	Asn	Ile	Leu	Asp	Asp	Asn	Ile	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Gly	Phe	Asn	
385				390						395					400	
Leu	Thr	Thr	Lys	Gly	Phe	Asn	Ile	Glu	Asn	Ser	Gly	Gln	Asn	Ile	Glu	
			405					410						415		
Arg	Asn	Pro	Ala	Leu	Gln	Lys	Leu	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Val	Asp	Leu	
			420					425				430				
Phe	Thr	Lys	Val	Cys	Leu	Arg	Leu	Thr	Arg	Asn	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	
	435						440					445				
Thr	Cys	Ile	Gln	Val	Lys	Asn	Asn	Thr	Leu	Pro	Tyr	Val	Ala	Asp	Lys	
	450					455					460					
Asp	Ser	Ile	Ser	Gln	Glu	Ile	Phe	Glu	Ser	Gln	Ile	Ile	Thr	Asp	Glu	
465				470						475					480	
Thr	Asn	Val	Glu	Asn	Tyr	Ser	Asp	Asn	Phe	Ser	Leu	Asp	Glu	Ser	Ile	
			485						490					495		
Leu	Asp	Ala	Lys	Val	Pro	Thr	Asn	Pro	Glu	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Leu	
		500						505					510			
Pro	Asn	Val	Asn	Met	Glu	Pro	Leu	Asn	Val	Pro	Gly	Glu	Glu	Glu	Val	
	515						520					525				
Phe	Tyr	Asp	Asp	Ile	Thr	Lys	Asp	Val	Asp	Tyr	Leu	Asn	Ser	Tyr	Tyr	
	530					535					540					
Tyr	Leu	Glu	Ala	Gln	Lys	Leu	Ser	Asn	Asn	Val	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu	
545				550						555					560	
Thr	Thr	Ser	Val	Glu	Glu	Ala	Leu	Gly	Tyr	Ser	Asn	Lys	Ile	Tyr	Thr	
			565					570						575		
Phe	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Glu	Lys	Val	Asn	Lys	Gly	Val	Gln	Ala	Gly	
			580					585					590			
Leu	Phe	Leu	Asn	Trp	Ala	Asn	Glu	Val	Val	Glu	Asp	Phe	Thr	Thr	Asn	
		595					600					605				
Ile	Met	Lys	Lys	Asp	Thr	Leu	Asp	Lys	Ile	Ser	Asp	Val	Ser	Ala	Ile	
	610					615					620					
Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Ser	Ala	Leu	Arg	
625				630						635					640	
Gly	Asn	Phe	Lys	Gln	Ala	Phe	Ala	Thr	Ala	Gly	Val	Ala	Phe	Leu	Leu	
			645						650					655		
Glu	Gly	Phe	Pro	Glu	Phe	Thr	Ile	Pro	Ala	Leu	Gly	Val	Phe	Thr	Phe	
			660													

ES 2 813 650 T3

```

Asn Asn Ser Leu Leu Lys Asp Met Ile Asn Glu Tyr Phe Asn Ser Ile
 850          855          860
Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Lys Lys Asn Thr Leu Met
865          870          875          880
Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Arg Val Glu Gly Asn Val Gln
          885          890          895
Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly Ser Ser Gly Asp
 900          905          910
Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn Ile Val Tyr Asn
 915          920          925
Ala Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Arg Ile Asn Lys
 930          935          940
Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp Ser Val Lys Asn
945          950          955          960
Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe Leu Val Phe Thr
 965          970          975
Leu Lys Gln Asn Glu Asn Ser Glu Gln Asp Ile Asn Phe Ser Tyr Asp
 980          985          990
Ile Ser Lys Asn Ala Ala Gly Tyr Asn Lys Trp Phe Phe Val Thr Ile
 995          1000          1005
Thr Thr Asn Met Met Gly Asn Met Met Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu
1010          1015          1020
Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr Gly Ile Asn Phe Ser Lys
1025          1030          1035          1040
Thr Ile Thr Phe Gln Met Asn Lys Ile Pro Asn Thr Gly Leu Ile Thr
 1045          1050          1055
Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met Trp Ile Arg Asp Phe Tyr Ile Phe
1060          1065          1070
Ala Lys Glu Leu Asp Asp Lys Asp Ile Asn Ile Leu Phe Asn Ser Leu
1075          1080          1085
Gln Tyr Thr Asn Val Val Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Asp Leu Arg Tyr
1090          1095          1100
Asp Lys Glu Tyr Tyr Met Ile Asn Val Asn Tyr Met Asn Arg Tyr Met
1105          1110          1115          1120
Ser Lys Lys Gly Asn Gly Ile Val Phe Asn Thr Arg Lys Asn Asn Asn
 1125          1130          1135
Asp Phe Asn Glu Gly Tyr Lys Ile Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn
1140          1145          1150
Thr Asn Asp Thr Arg Val Arg Gly Glu Asn Val Leu Tyr Phe Asn Thr
1155          1160          1165
Thr Ile Asp Asn Lys Gln Tyr Ser Leu Gly Met Tyr Lys Pro Ser Arg
1170          1175          1180
Asn Leu Gly Thr Asp Leu Val Pro Leu Gly Ala Leu Asp Gln Pro Met
1185          1190          1195          1200
Asp Glu Ile Arg Lys Tyr Gly Ser Phe Ile Ile Gln Pro Cys Asn Thr
 1205          1210          1215
Phe Asp Tyr Tyr Ala Ser Gln Leu Phe Leu Ser Ser Asn Ala Thr Thr
1220          1225          1230
Asn Arg Leu Gly Ile Leu Ser Ile Gly Ser Tyr Ser Phe Lys Leu Gly
1235          1240          1245
Asp Asp Tyr Trp Phe Asn His Glu Tyr Leu Ile Pro Val Ile Lys Ile
1250          1255          1260
Glu His Tyr Ala Ser Leu Leu Glu Ser Thr Ser Thr His Trp Val Phe
1265          1270          1275          1280
Val Pro Ala Ser Glu
          1285

```

<210> 15

<211> 1252

<212> PRT

<213> Clostridium botulinum E1

<400> 15

Met Pro Lys Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp Arg

ES 2 813 650 T3

1	5	10	15
Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Glu Phe Tyr Lys Ser			
	20	25	30
Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile			
	35	40	45
Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly			
	50	55	60
Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys			
65	70	75	80
Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn			
	85	90	95
Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro			
	100	105	110
Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp			
	115	120	125
Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu			
	130	135	140
Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr			
145	150	155	160
Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His			
	165	170	175
Gly Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe			
	180	185	190
Arg Phe Asn Asp Asn Ser Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu			
	195	200	205
Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala			
	210	215	220
Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu			
225	230	235	240
Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly			
	245	250	255
Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr			
	260	265	270
Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys			
	275	280	285
Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu			
	290	295	300
Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn			
305	310	315	320
Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu			
	325	330	335
Phe Asp Leu Ala Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile			
	340	345	350
Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile			
	355	360	365
Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe			
	370	375	380
Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr			
385	390	395	400
Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys Lys Asn Ile Val			
	405	410	415
Ser Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys Ile Glu Ile Asn Asn Gly			
	420	425	430
Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn Asp Asp Asn Ile			
	435	440	445
Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser Asn Asn Asn Tyr			
	450	455	460
Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn Ser Glu Ser Ala			
465	470	475	480
Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile Gln Asn Asp Ala			
	485	490	495
Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp Ile Glu Gln His			
	500	505	510
Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp Ala Gln Lys Val			
	515	520	525

```

Pro Glu Gly Glu Asn Asn Val Asn Leu Thr Ser Ser Ile Asp Thr Ala
530                    535                    540
Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Glu Phe Ile
545                    550                    555                    560
Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe Val Ser Trp Ile
565                    570                    575
Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn Gln Lys Ser Thr
580                    585                    590
Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro Tyr Ile Gly Leu
595                    600                    605
Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn Phe Lys Asp Ala
610                    615                    620
Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Glu Pro Glu Leu
625                    630                    635
Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe Leu Gly Ser
645                    650                    655
Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn Asn Ala Leu Lys
660                    665                    670
Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe Ile Val Ser Asn
675                    680                    685
Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys Glu Gln Met
690                    695                    700
Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Ile Lys Thr Ile Ile Glu
705                    710                    715
Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn Glu Leu Thr Asn
725                    730                    735
Lys Tyr Asp Ile Lys Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn Gln Lys Val Ser
740                    745                    750
Ile Ala Met Asn Asn Ile Asp Arg Phe Leu Thr Glu Ser Ser Ile Ser
755                    760                    765
Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn Lys Leu Arg Glu
770                    775                    780
Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr Ile Ile Gln His
785                    790                    795
Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn Ser Met Val Thr
805                    810                    815
Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser Ser Tyr Thr Asp
820                    825                    830
Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe Lys Arg Ile Lys
835                    840                    845
Ser Ser Ser Val Leu Asn Met Arg Tyr Lys Asn Asp Lys Tyr Val Asp
850                    855                    860
Thr Ser Gly Tyr Asp Ser Asn Ile Asn Ile Asn Gly Asp Val Tyr Lys
865                    870                    875
Tyr Pro Thr Asn Lys Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Asn Asp Lys Leu Ser
885                    890                    895
Glu Val Asn Ile Ser Gln Asn Asp Tyr Ile Ile Tyr Asp Asn Lys Tyr
900                    905                    910
Lys Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro Asn Tyr Asp Asn
915                    920                    925
Lys Ile Val Asn Val Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Arg
930                    935                    940
Asp Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn His Asn Glu Ile Ile
945                    950                    955
Trp Thr Leu Gln Asp Asn Ala Gly Ile Asn Gln Lys Leu Ala Phe Asn
965                    970                    975
Tyr Gly Asn Ala Asn Gly Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys Trp Ile Phe
980                    985                    990
Val Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Asn
995                    1000                    1005
Gly Asn Leu Ile Asp Gln Lys Ser Ile Leu Asn Leu Gly Asn Ile His
1010                    1015                    1020
Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Asn Cys Ser Tyr Thr Arg
1025                    1030                    1035                    1040
Tyr Ile Gly Ile Arg Tyr Phe Asn Ile Phe Asp Lys Glu Leu Asp Glu

```

```

      1045      1050      1055
Thr Glu Ile Gln Thr Leu Tyr Ser Asn Glu Pro Asn Thr Asn Ile Leu
      1060      1065      1070
Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr Leu
      1075      1080      1085
Leu Asn Val Leu Lys Pro Asn Asn Phe Ile Asp Arg Arg Lys Asp Ser
      1090      1095      1100
Thr Leu Ser Ile Asn Asn Ile Arg Ser Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg
      1105      1110      1115      1120
Leu Tyr Ser Gly Ile Lys Val Lys Ile Gln Arg Val Asn Asn Ser Ser
      1125      1130      1135
Thr Asn Asp Asn Leu Val Arg Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Phe
      1140      1145      1150
Val Ala Ser Lys Thr His Leu Phe Pro Leu Tyr Ala Asp Thr Ala Thr
      1155      1160      1165
Thr Asn Lys Glu Lys Thr Ile Lys Ile Ser Ser Ser Gly Asn Arg Phe
      1170      1175      1180
Asn Gln Val Val Val Met Asn Ser Val Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn
      1185      1190      1195      1200
Phe Lys Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe Lys Ala
      1205      1210      1215
Asp Thr Val Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His Met Arg Asp His
      1220      1225      1230
Thr Asn Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile Ser Glu Glu His Gly
      1235      1240      1245
Trp Gln Glu Lys
      1250

```

<210> 16

<211> 1252

<212> PRT

<213> Clostridium botulinum E2

<400> 16

```

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

```

ES 2 813 650 T3

Ile	Thr	Asn	Ile	Arg	Gly	Thr	Asn	Ile	Glu	Glu	Phe	Leu	Thr	Phe	Gly
			245						250					255	
Gly	Thr	Asp	Leu	Asn	Ile	Ile	Thr	Ser	Ala	Gln	Ser	Asn	Asp	Ile	Tyr
			260					265					270		
Thr	Asn	Leu	Leu	Ala	Asp	Tyr	Lys	Lys	Ile	Ala	Ser	Lys	Leu	Ser	Lys
		275					280					285			
Val	Gln	Val	Ser	Asn	Pro	Leu	Leu	Asn	Pro	Tyr	Lys	Asp	Val	Phe	Glu
	290					295					300				
Ala	Lys	Tyr	Gly	Leu	Asp	Lys	Asp	Ala	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Val	Asn
305				310						315					320
Ile	Asn	Lys	Phe	Asn	Asp	Ile	Phe	Lys	Lys	Leu	Tyr	Ser	Phe	Thr	Glu
			325						330					335	
Phe	Asp	Leu	Ala	Thr	Lys	Phe	Gln	Val	Lys	Cys	Arg	Gln	Thr	Tyr	Ile
		340					345						350		
Gly	Gln	Tyr	Lys	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	Asn	Leu	Leu	Asn	Asp	Ser	Ile
	355						360					365			
Tyr	Asn	Ile	Ser	Glu	Gly	Tyr	Asn	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Val	Asn	Phe
	370					375					380				
Arg	Gly	Gln	Asn	Ala	Asn	Leu	Asn	Pro	Arg	Ile	Ile	Thr	Pro	Ile	Thr
385				390						395					400
Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Lys	Lys	Ile	Ile	Arg	Phe	Cys	Lys	Asn	Ile	Val
			405					410						415	
Ser	Val	Lys	Gly	Ile	Arg	Lys	Ser	Ile	Cys	Ile	Glu	Ile	Asn	Asn	Gly
		420					425						430		
Glu	Leu	Phe	Phe	Val	Ala	Ser	Glu	Asn	Ser	Tyr	Asn	Asp	Asp	Asn	Ile
	435						440					445			
Asn	Thr	Pro	Lys	Glu	Ile	Asp	Asp	Thr	Val	Thr	Ser	Asn	Asn	Asn	Tyr
	450					455					460				
Glu	Asn	Asp	Leu	Asp	Gln	Val	Ile	Leu	Asn	Phe	Asn	Ser	Glu	Ser	Ala
465				470						475					480
Pro	Gly	Leu	Ser	Asp	Glu	Lys	Leu	Asn	Leu	Thr	Ile	Gln	Asn	Asp	Ala
			485					490					495		
Tyr	Ile	Pro	Lys	Tyr	Asp	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Asp	Ile	Glu	Gln	His
		500					505						510		
Asp	Val	Asn	Glu	Leu	Asn	Val	Phe	Phe	Tyr	Leu	Asp	Ala	Gln	Lys	Val
	515					520						525			
Pro	Glu	Gly	Glu	Asn	Asn	Val	Asn	Leu	Thr	Ser	Ser	Ile	Asp	Thr	Ala
	530					535						540			
Leu	Leu	Glu	Gln	Pro	Lys	Ile	Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Glu	Phe	Ile
545				550						555					560
Asn	Asn	Val	Asn	Lys	Pro	Val	Gln	Ala	Ala	Leu	Phe	Val	Ser	Trp	Ile
			565					570						575	
Gln	Gln	Val	Leu	Val	Asp	Phe	Thr	Thr	Glu	Ala	Asn	Gln	Lys	Ser	Thr
		580					585						590		
Val	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Ser	Ile	Val	Val	Pro	Tyr	Ile	Gly	Leu
	595						600					605			
Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Glu	Ala	Gln	Lys	Gly	Asn	Phe	Lys	Asp	Ala
	610					615					620				
Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Glu	Pro	Glu	Leu
625				630						635					640
Leu	Ile	Pro	Thr	Ile	Leu	Val	Phe	Thr	Ile	Lys	Ser	Phe	Leu	Gly	Ser
		645						650					655		
Ser	Asp	Asn	Lys	Asn	Lys	Val	Ile	Lys	Ala	Ile	Asn	Asn	Ala	Leu	Lys
		660						665					670		
Glu	Arg	Asp	Glu	Lys	Trp	Lys	Glu	Val	Tyr	Ser	Phe	Ile	Val	Ser	Asn
	675						680					685			
Trp	Met	Thr	Lys	Ile	Asn	Thr	Gln	Phe	Asn	Lys	Arg	Lys	Glu	Gln	Met
	690					695					700				
Tyr	Gln	Ala	Leu	Gln	Asn	Gln	Val	Asn	Ala	Ile	Lys	Thr	Ile	Ile	Glu
705				710						715					720
Ser	Lys	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Thr	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Glu	Leu	Thr	Asn
		725						730					735		
Lys	Tyr	Asp	Ile	Lys	Gln	Ile	Glu	Asn	Glu	Leu	Asn	Gln	Lys	Val	Ser
		740					745					750			
Ile	Ala	Met	Asn	Asn	Ile	Asp	Arg	Phe	Leu	Thr	Glu	Ser	Ser	Ile	Ser

ES 2 813 650 T3

```

755          760          765
Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn Lys Leu Arg Glu
770          775          780
Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asn Tyr Ile Ile Gln His
785          790          795          800
Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn Ser Met Val Thr
805          810          815
Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser Ser Tyr Thr Asp
820          825          830
Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe Lys Arg Ile Lys
835          840          845
Ser Ser Ser Val Leu Asn Met Arg Tyr Lys Asn Asp Lys Tyr Val Asp
850          855          860
Thr Ser Gly Tyr Asp Ser Asn Ile Asn Ile Asn Gly Asp Val Tyr Lys
865          870          875          880
Tyr Pro Thr Asn Lys Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Asn Asp Lys Leu Ser
885          890          895
Glu Val Asn Ile Ser Gln Asn Asp Tyr Ile Ile Tyr Asp Asn Lys Tyr
900          905          910
Lys Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro Asn Tyr Asp Asn
915          920          925
Lys Ile Val Asn Val Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Arg
930          935          940
Asp Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn His Asn Glu Ile Ile
945          950          955          960
Trp Thr Leu Gln Asp Asn Ala Gly Ile Asn Gln Lys Leu Ala Phe Asn
965          970          975
Tyr Gly Asn Ala Asn Gly Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys Trp Ile Phe
980          985          990
Val Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Asn
995          1000          1005
Gly Asn Leu Ile Asp Gln Lys Ser Ile Leu Asn Leu Gly Asn Ile His
1010          1015          1020
Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Asn Cys Ser Tyr Thr Arg
1025          1030          1035          1040
Tyr Ile Gly Ile Arg Tyr Phe Asn Ile Phe Asp Lys Glu Leu Asp Glu
1045          1050          1055
Thr Glu Ile Gln Thr Leu Tyr Asn Asn Glu Pro Asn Ala Asn Ile Leu
1060          1065          1070
Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr Leu
1075          1080          1085
Leu Asn Val Leu Lys Pro Asn Asn Phe Ile Asp Arg Arg Thr Asp Ser
1090          1095          1100
Thr Leu Ser Ile Asn Asn Ile Arg Ser Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg
1105          1110          1115          1120
Leu Tyr Ser Gly Ile Lys Val Lys Ile Gln Arg Val Asn Asn Ser Ser
1125          1130          1135
Thr Asn Asp Asn Leu Val Arg Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Phe
1140          1145          1150
Val Ala Ser Lys Thr His Leu Phe Pro Leu Tyr Ala Asp Thr Asn Thr
1155          1160          1165
Thr Asn Lys Glu Lys Thr Ile Lys Ser Ser Ser Ser Gly Asn Arg Phe
1170          1175          1180
Asn Gln Val Val Val Met Asn Ser Val Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn
1185          1190          1195          1200
Phe Lys Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ile Gly Met Leu Gly Phe Lys Asp
1205          1210          1215
Asn Thr Leu Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His Met Arg Asp Asn
1220          1225          1230
Thr Asn Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile Ser Glu Glu His Gly
1235          1240          1245
Trp Gln Glu Lys
1250

```

<210> 17

<211> 1252

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum E3

<400> 17

ES 2 813 650 T3

Met	Pro	Lys	Ile	Asn	Ser	Phe	Asn	Tyr	Asn	Asp	Pro	Val	Asn	Asp	Arg
1				5					10					15	
Thr	Ile	Leu	Tyr	Ile	Lys	Pro	Gly	Gly	Cys	Gln	Glu	Phe	Tyr	Lys	Ser
			20					25					30		
Phe	Asn	Ile	Met	Lys	Asn	Ile	Trp	Ile	Ile	Pro	Glu	Arg	Asn	Val	Ile
		35					40					45			
Gly	Thr	Thr	Pro	Gln	Asp	Phe	His	Pro	Pro	Thr	Ser	Leu	Lys	Asn	Gly
	50					55					60				
Asp	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Asn	Tyr	Leu	Gln	Ser	Asp	Glu	Glu	Lys
65					70					75					80
Asp	Arg	Phe	Leu	Lys	Ile	Val	Thr	Lys	Ile	Phe	Asn	Arg	Ile	Asn	Asn
				85					90					95	
Asn	Leu	Ser	Gly	Gly	Ile	Leu	Leu	Glu	Glu	Leu	Ser	Lys	Ala	Asn	Pro
			100					105					110		
Tyr	Leu	Gly	Asn	Asp	Asn	Thr	Pro	Asp	Asn	Gln	Phe	His	Ile	Gly	Asp
		115					120					125			
Ala	Ser	Ala	Val	Glu	Ile	Lys	Phe	Ser	Asn	Gly	Ser	Gln	His	Ile	Leu
	130					135						140			
Leu	Pro	Asn	Val	Ile	Ile	Met	Gly	Ala	Glu	Pro	Asp	Leu	Phe	Glu	Thr
145					150					155					160
Asn	Ser	Ser	Asn	Ile	Ser	Leu	Arg	Asn	Asn	Tyr	Met	Pro	Ser	Asn	His
			165						170					175	
Gly	Phe	Gly	Ser	Ile	Ala	Ile	Val	Thr	Phe	Ser	Pro	Glu	Tyr	Ser	Phe
			180					185					190		
Arg	Phe	Asn	Asp	Asn	Ser	Ile	Asn	Glu	Phe	Ile	Gln	Asp	Pro	Ala	Leu
		195					200					205			
Thr	Leu	Met	His	Glu	Leu	Ile	His	Ser	Leu	His	Gly	Leu	Tyr	Gly	Ala
	210					215						220			
Lys	Gly	Ile	Thr	Thr	Thr	Cys	Ile	Ile	Thr	Gln	Gln	Gln	Asn	Pro	Leu
225					230					235					240
Ile	Thr	Asn	Arg	Lys	Gly	Ile	Asn	Ile	Glu	Glu	Phe	Leu	Thr	Phe	Gly
				245					250					255	
Gly	Asn	Asp	Leu	Asn	Ile	Ile	Thr	Val	Ala	Gln	Tyr	Asn	Asp	Ile	Tyr
			260					265					270		
Thr	Asn	Leu	Leu	Asn	Asp	Tyr	Arg	Lys	Ile	Ala	Ser	Lys	Leu	Ser	Lys
		275					280					285			
Val	Gln	Val	Ser	Asn	Pro	Gln	Leu	Asn	Pro	Tyr	Lys	Asp	Ile	Phe	Gln
	290					295					300				
Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Asp	Lys	Asp	Ala	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ser	Val	Asn
305					310					315					320
Ile	Asn	Lys	Phe	Asp	Asp	Ile	Leu	Lys	Lys	Leu	Tyr	Ser	Phe	Thr	Glu
				325					330					335	
Phe	Asp	Leu	Ala	Thr	Lys	Phe	Gln	Val	Lys	Cys	Arg	Glu	Thr	Tyr	Ile
			340					345					350		
Gly	Gln	Tyr	Lys	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	Asn	Leu	Leu	Asn	Asp	Ser	Ile
		355					360					365			
Tyr	Asn	Ile	Ser	Glu	Gly	Tyr	Asn	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Val	Asn	Phe
	370					375						380			
Arg	Gly	Gln	Asn	Ala	Asn	Leu	Asn	Pro	Arg	Ile	Ile	Lys	Pro	Ile	Thr
385					390					395					400
Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Lys	Lys	Ile	Ile	Arg	Phe	Cys	Lys	Asn	Ile	Val
				405					410					415	
Ser	Val	Lys	Gly	Ile	Arg	Lys	Ser	Ile	Cys	Ile	Glu	Ile	Asn	Asn	Gly
			420					425					430		
Glu	Leu	Phe	Phe	Val	Ala	Ser	Glu	Asn	Ser	Tyr	Asn	Asp	Asp	Asn	Ile
		435					440					445			
Asn	Thr	Pro	Lys	Glu	Ile	Asp	Asp	Thr	Val	Thr	Ser	Asn	Asn	Asn	Tyr
	450					455					460				
Glu	Asn	Asp	Leu	Asp	Gln	Val	Ile	Leu	Asn	Phe	Asn	Ser	Glu	Ser	Ala

465					470					475				480
Pro	Gly	Leu	Ser	Asp	Glu	Lys	Leu	Asn	Leu	Thr	Ile	Gln	Asn	Asp
				485					490					495
Tyr	Ile	Pro	Lys	Tyr	Asp	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Asp	Ile	Glu	Gln
			500					505					510	His
Asp	Val	Asn	Glu	Leu	Asn	Val	Phe	Phe	Tyr	Leu	Asp	Ala	Gln	Lys
		515					520					525		Val
Pro	Glu	Gly	Glu	Asn	Asn	Val	Asn	Leu	Thr	Ser	Ser	Ile	Asp	Thr
	530					535					540			Ala
Leu	Leu	Glu	Gln	Pro	Lys	Ile	Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Glu	Phe
545					550					555				560
Asn	Asn	Val	Asn	Lys	Pro	Val	Gln	Ala	Ala	Leu	Phe	Val	Ser	Trp
				565					570					575
Gln	Gln	Val	Leu	Val	Asp	Phe	Thr	Thr	Glu	Ala	Asn	Gln	Lys	Ser
			580					585					590	Thr
Val	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Ser	Ile	Val	Val	Pro	Tyr	Ile	Gly
	595						600					605		Leu
Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Glu	Ala	Gln	Lys	Gly	Asn	Phe	Lys	Asp
	610					615					620			Ala
Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Glu	Pro	Glu
625					630					635				640
Leu	Ile	Pro	Thr	Ile	Leu	Val	Phe	Thr	Ile	Lys	Ser	Phe	Leu	Gly
			645						650					655
Ser	Asp	Asn	Lys	Asn	Lys	Val	Ile	Lys	Ala	Ile	Asn	Asn	Ala	Leu
		660						665					670	Lys
Glu	Arg	Asp	Glu	Lys	Trp	Lys	Glu	Val	Tyr	Ser	Phe	Ile	Val	Ser
	675						680					685		Asn
Trp	Met	Thr	Lys	Ile	Asn	Thr	Gln	Phe	Asn	Lys	Arg	Lys	Glu	Gln
	690					695					700			Met
Tyr	Gln	Ala	Leu	Gln	Asn	Gln	Val	Asn	Ala	Ile	Lys	Thr	Ile	Ile
705					710					715				Glu
Ser	Lys	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Thr	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Glu	Leu	Thr
			725						730					Asn
Lys	Tyr	Asp	Ile	Lys	Gln	Ile	Glu	Asn	Glu	Leu	Asn	Gln	Lys	Val
		740					745					750		Ser
Ile	Ala	Met	Asn	Asn	Ile	Asp	Arg	Phe	Leu	Thr	Glu	Ser	Ser	Ile
	755					760					765			Ser
Tyr	Leu	Met	Lys	Leu	Ile	Asn	Glu	Val	Lys	Ile	Asn	Lys	Leu	Arg
	770					775					780			Glu
Tyr	Asp	Glu	Asn	Val	Lys	Thr	Tyr	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Ile	Gln
785					790					795				His
Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Glu	Ser	Gln	Gln	Glu	Leu	Asn	Ser	Met	Val
			805						810					Thr
Asp	Thr	Leu	Asn	Asn	Ser	Ile	Pro	Phe	Lys	Leu	Ser	Ser	Tyr	Thr
		820						825					830	Asp
Asp	Lys	Ile	Leu	Ile	Ser	Tyr	Phe	Asn	Lys	Phe	Phe	Lys	Arg	Ile
	835						840					845		Lys
Ser	Ser	Ser	Val	Leu	Asn	Met	Arg	Tyr	Lys	Asn	Asp	Lys	Tyr	Val
	850					855					860			Asp
Thr	Ser	Gly	Tyr	Asp	Ser	Asn	Ile	Asn	Ile	Asn	Gly	Asp	Val	Tyr
865					870					875				Lys
Tyr	Pro	Thr	Asn	Lys	Asn	Gln	Phe	Gly	Ile	Tyr	Asn	Asp	Lys	Leu
			885						890					Ser
Glu	Val	Asn	Ile	Ser	Gln	Asn	Asp	Tyr	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asn	Lys
		900						905					910	Tyr
Lys	Asn	Phe	Ser	Ile	Ser	Phe	Trp	Val	Arg	Ile	Pro	Asn	Tyr	Asp
	915						920					925		Asn
Lys	Ile	Val	Asn	Val	Asn	Asn	Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Cys	Met
	930					935					940			Arg
Asp	Asn	Asn	Ser	Gly	Trp	Lys	Val	Ser	Leu	Asn	His	Asn	Glu	Ile
945					950					955				Ile
Trp	Thr	Leu	Gln	Asp	Asn	Ala	Gly	Ile	Asn	Gln	Lys	Leu	Ala	Phe
			965						970					Asn
Tyr	Gly	Asn	Ala	Asn	Gly	Ile	Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Lys	Trp	Ile
		980						985					990	Phe

Val Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Asn
 995 1000 1005
 Gly Asn Leu Ile Asp Gln Lys Ser Ile Leu Asn Leu Gly Asn Ile His
 1010 1015 1020
 Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Asn Cys Ser Tyr Thr Arg
 1025 1030 1035 1040
 Tyr Ile Gly Ile Arg Tyr Phe Asn Ile Phe Asp Lys Glu Leu Asp Glu
 1045 1050 1055
 Thr Glu Ile Gln Thr Leu Tyr Ser Asn Glu Pro Asn Thr Asn Ile Leu
 1060 1065 1070
 Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asp Lys Glu Tyr Tyr Leu
 1075 1080 1085
 Leu Asn Val Leu Lys Pro Asn Asn Phe Ile Asp Arg Lys Asp Ser
 1090 1095 1100
 Thr Leu Ser Ile Asn Asn Ile Arg Ser Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg
 1105 1110 1115 1120
 Leu Tyr Ser Gly Ile Lys Val Lys Ile Gln Arg Val Asn Asn Ser Ser
 1125 1130 1135
 Thr Asn Asp Asn Leu Val Arg Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Phe
 1140 1145 1150
 Val Ala Ser Lys Thr His Leu Phe Pro Leu Tyr Ala Asp Thr Ala Thr
 1155 1160 1165
 Thr Asn Lys Glu Lys Thr Ile Lys Ile Ser Ser Ser Gly Asn Arg Phe
 1170 1175 1180
 Asn Gln Val Val Val Met Asn Ser Val Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn
 1185 1190 1195 1200
 Phe Lys Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe Lys Ala
 1205 1210 1215
 Asp Thr Val Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His Met Arg Asp His
 1220 1225 1230
 Thr Asn Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile Ser Glu Glu His Gly
 1235 1240 1245
 Trp Gln Glu Lys
 1250

<210> 18

<211> 1274

5

<212> PRT

<213> Clostridium botulinum F1

<400> 18

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

10

Val	Thr	Phe	180													
		195	Ser	Pro	Glu	Tyr	Glu	Tyr	Thr	Phe	Asn	Asp	190	Ile	Ser	Gly
Gly	His	Asn	Ser	Ser	Thr	Glu	200	Ser	Phe	Ile	Ala	Asp	205	Pro	Ala	Ile
	210					215						220				
Leu	Ala	His	Glu	Leu	Ile	His	Ala	Leu	His	Gly	Leu	Tyr	Gly	Ala	Arg	
225					230					235					240	
Gly	Val	Thr	Tyr	Glu	Glu	Thr	Ile	Glu	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Leu	Met	
				245					250					255		
Ile	Ala	Glu	Lys	Pro	Ile	Arg	Leu	Glu	Glu	Phe	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	
			260					265					270			
Gln	Asp	Leu	Asn	Ile	Ile	Thr	Ser	Ala	Met	Lys	Glu	Lys	Ile	Tyr	Asn	
		275					280					285				
Asn	Leu	Leu	Ala	Asn	Tyr	Glu	Lys	Ile	Ala	Thr	Arg	Leu	Ser	Glu	Val	
	290					295					300					
Asn	Ser	Ala	Pro	Pro	Glu	Tyr	Asp	Ile	Asn	Glu	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Phe	
305					310					315					320	
Gln	Trp	Lys	Tyr	Gly	Leu	Asp	Lys	Asn	Ala	Asp	Gly	Ser	Tyr	Thr	Val	
				325					330					335		
Asn	Glu	Asn	Lys	Phe	Asn	Glu	Ile	Tyr	Lys	Lys	Leu	Tyr	Ser	Phe	Thr	
			340					345					350			
Glu	Ser	Asp	Leu	Ala	Asn	Lys	Phe	Lys	Val	Lys	Cys	Arg	Asn	Thr	Tyr	
		355					360					365				
Phe	Ile	Lys	Tyr	Glu	Phe	Leu	Lys	Val	Pro	Asn	Leu	Asp	Asp	Asp		
	370					375					380					
Ile	Tyr	Thr	Val	Ser	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile	Gly	Asn	Leu	Ala	Val	Asn	
385					390					395					400	
Asn	Arg	Gly	Gln	Ser	Ile	Lys	Leu	Asn	Pro	Lys	Ile	Ile	Asp	Ser	Ile	
				405					410					415		
Pro	Asp	Lys	Gly	Leu	Val	Glu	Lys	Ile	Val	Lys	Phe	Cys	Lys	Ser	Val	
			420					425					430			
Ile	Pro	Arg	Lys	Gly	Thr	Lys	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Cys	Ile	Arg	Val	
		435					440					445				
Asn	Asn	Ser	Glu	Leu	Phe	Phe	Val	Ala	Ser	Glu	Ser	Ser	Tyr	Asn	Glu	
	450					455						460				
Asn	Asp	Ile	Asn	Thr	Pro	Lys	Glu	Ile	Asp	Asp	Thr	Thr	Asn	Leu	Asn	
465					470					475					480	
Asn	Asn	Tyr	Arg	Asn	Asn	Leu	Asp	Glu	Val	Ile	Leu	Asp	Tyr	Asn	Ser	
				485					490					495		
Gln	Thr	Ile	Pro	Gln	Ile	Ser	Asn	Arg	Thr	Leu	Asn	Thr	Leu	Val	Gln	
			500					505					510			
Asp	Asn	Ser	Tyr	Val	Pro	Arg	Tyr	Asp	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Glu	Ile	
		515					520									

ES 2 813 650 T3

Ser	Asn	Trp	Leu	Thr	Arg	Ile	Asn	Thr	Gln	Phe	Asn	Lys	Arg	Lys	Glu
705					710					715					720
Gln	Met	Tyr	Gln	Ala	Leu	Gln	Asn	Gln	Val	Asp	Ala	Ile	Lys	Thr	Ala
				725					730					735	
Ile	Glu	Tyr	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Thr	Ser	Asp	Glu	Lys	Asn	Arg	Leu
			740					745					750		
Glu	Ser	Glu	Tyr	Asn	Ile	Asn	Asn	Ile	Glu	Glu	Glu	Leu	Asn	Lys	Lys
			755				760					765			
Val	Ser	Leu	Ala	Met	Lys	Asn	Ile	Glu	Arg	Phe	Met	Thr	Glu	Ser	Ser
					775					780					
Ile	Ser	Tyr	Leu	Met	Lys	Leu	Ile	Asn	Glu	Ala	Lys	Val	Gly	Lys	Leu
785					790					795					800
Lys	Lys	Tyr	Asp	Asn	His	Val	Lys	Ser	Asp	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Leu
				805					810					815	
Asp	His	Arg	Ser	Ile	Leu	Gly	Glu	Gln	Thr	Asn	Glu	Leu	Ser	Asp	Leu
			820					825					830		
Val	Thr	Ser	Thr	Leu	Asn	Ser	Ser	Ile	Pro	Phe	Glu	Leu	Ser	Ser	Tyr
			835				840					845			
Thr	Asn	Asp	Lys	Ile	Leu	Ile	Ile	Tyr	Phe	Asn	Arg	Leu	Tyr	Lys	Lys
					855					860					
Ile	Lys	Asp	Ser	Ser	Ile	Leu	Asp	Met	Arg	Tyr	Glu	Asn	Asn	Lys	Phe
865					870					875					880
Ile	Asp	Ile	Ser	Gly	Tyr	Gly	Ser	Asn	Ile	Ser	Ile	Asn	Gly	Asn	Val
				885					890					895	
Tyr	Ile	Tyr	Ser	Thr	Asn	Arg	Asn	Gln	Phe	Gly	Ile	Tyr	Asn	Ser	Arg
			900					905					910		
Leu	Ser	Glu	Val	Asn	Ile	Ala	Gln	Asn	Asn	Asp	Ile	Ile	Tyr	Asn	Ser
			915				920					925			
Arg	Tyr	Gln	Asn	Phe	Ser	Ile	Ser	Phe	Trp	Val	Arg	Ile	Pro	Lys	His
			930			935					940				
Tyr	Lys	Pro	Met	Asn	His	Asn	Arg	Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Cys	Met
945					950					955					960
Gly	Asn	Asn	Asn	Ser	Gly	Trp	Lys	Ile	Ser	Leu	Arg	Thr	Val	Arg	Asp
			965						970					975	
Cys	Glu	Ile	Ile	Trp	Thr	Leu	Gln	Asp	Thr	Ser	Gly	Asn	Lys	Glu	Asn
			980					985					990		
Leu	Ile	Phe	Arg	Tyr	Glu	Glu	Leu	Asn	Arg	Ile	Ser	Asn	Tyr	Ile	Asn
			995				1000					1005			
Lys	Trp	Ile	Phe	Val	Thr	Ile	Thr	Asn	Asn	Arg	Leu	Gly	Asn	Ser	Arg
			1010				1015				1020				
Ile	Tyr	Ile	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Val	Glu	Lys	Ser	Ile	Ser	Asn	Leu
1025					1030					1035					1040
Gly	Asp	Ile	His	Val	Ser	Asp	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Ile	Val	Gly	Cys
			1045						1050					1055	
Asp															

```
5      <210> 19
      <211> 1280
      <212> PRT
```

<213> Clostridium botulinum F2

<400> 19

```

Met Pro Val Val Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asp
 1      5      10      15
Glu Thr Ile Leu Tyr Met Gln Lys Pro Tyr Glu Glu Arg Ser Arg Lys
 20      25      30
Tyr Tyr Lys Ala Phe Glu Ile Met Pro Asn Val Trp Ile Met Pro Glu
 35      40      45
Arg Asp Thr Ile Gly Thr Lys Pro Asp Glu Phe Gln Val Pro Asp Ser
 50      55      60
Leu Lys Asn Gly Ser Ser Ala Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Thr Thr
 65      70      75      80
Asp Ala Glu Lys Asp Arg Tyr Leu Lys Thr Met Ile Lys Leu Phe Asn
 85      90      95
Arg Ile Asn Ser Asn Pro Thr Gly Lys Val Leu Leu Glu Glu Val Ser
100      105      110
Asn Ala Arg Pro Tyr Leu Gly Asp Asp Asp Thr Leu Ile Asn Glu Phe
115      120      125
Leu Pro Val Asn Val Thr Thr Ser Val Asn Ile Lys Phe Ser Thr Asp
130      135      140
Val Glu Ser Ser Ile Ile Ser Asn Leu Leu Val Leu Gly Ala Gly Pro
145      150      155      160
Asp Ile Phe Lys Ala Tyr Cys Thr Pro Leu Val Arg Phe Asn Lys Ser
165      170      175
Asp Lys Leu Ile Glu Pro Ser Asn His Gly Phe Gly Ser Ile Asn Ile
180      185      190
Leu Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Glu His Ile Phe Asn Asp Ile Ser Gly
195      200      205
Gly Asn His Asn Ser Thr Glu Ser Phe Ile Ala Asp Pro Ala Ile Ser
210      215      220
Leu Ala His Glu Leu Ile His Ala Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala Lys
225      230      235      240
Ala Val Thr His Lys Glu Ser Leu Val Ala Glu Arg Gly Pro Leu Met
245      250      255
Ile Ala Glu Lys Pro Ile Arg Leu Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly Gly
260      265      270
Glu Asp Leu Asn Ile Ile Pro Ser Ala Met Lys Glu Lys Ile Tyr Asn
275      280      285
Asp Leu Leu Ala Asn Tyr Glu Lys Ile Ala Thr Arg Leu Arg Glu Val
290      295      300
Asn Thr Ala Pro Pro Gly Tyr Asp Ile Asn Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe
305      310      315      320
Gln Trp Lys Tyr Gly Leu Asp Arg Asn Ala Asp Gly Ser Tyr Thr Val
325      330      335
Asn Arg Asn Lys Phe Asn Glu Ile Tyr Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr
340      345      350
Glu Ile Asp Leu Ala Asn Lys Phe Lys Val Lys Cys Arg Asn Thr Tyr
355      360      365
Phe Ile Lys Tyr Gly Phe Val Lys Val Pro Asn Leu Leu Asp Asp Asp
370      375      380
Ile Tyr Thr Val Ser Glu Gly Phe Asn Ile Gly Asn Leu Ala Val Asn
385      390      395      400

```

5

```

Asn Arg Gly Gln Asn Ile Asn Leu Asn Pro Lys Ile Ile Asp Ser Ile
405 410 415
Pro Asp Lys Gly Leu Val Glu Lys Ile Ile Lys Phe Cys Lys Ser Ile
420 425 430
Ile Pro Arg Lys Gly Thr Lys Gln Ser Pro Ser Leu Cys Ile Arg Val
435 440 445
Asn Asn Arg Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Ser Ser Tyr Asn Glu
450 455 460
Ser Asp Ile Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Thr Asn Leu Asn
465 470 475 480
Asn Asn Tyr Arg Asn Asn Leu Asp Glu Val Ile Leu Asp Tyr Asn Ser
485 490 495
Glu Thr Ile Pro Gln Ile Ser Asn Arg Thr Leu Asn Thr Leu Val Gln
500 505 510
Asp Asn Ser Tyr Val Pro Arg Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Glu Ile
515 520 525
Glu Glu Tyr Asp Val Val Asp Phe Asn Val Phe Phe Tyr Leu His Ala
530 535 540
Gln Lys Val Pro Glu Gly Glu Thr Asn Ile Ser Leu Thr Ser Ser Ile
545 550 555 560
Asp Thr Ala Leu Leu Glu Glu Ser Lys Val Tyr Thr Phe Phe Ser Ser
565 570 575
Glu Phe Ile Asp Thr Ile Asn Lys Pro Val Asn Ala Ala Leu Phe Ile
580 585 590
Asp Trp Ile Ser Lys Val Ile Arg Asp Phe Thr Thr Glu Ala Thr Gln
595 600 605
Lys Ser Thr Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Leu Ile Val Pro Tyr
610 615 620
Val Gly Leu Ala Leu Asn Ile Val Ile Glu Ala Glu Lys Gly Asn Phe
625 630 635 640
Glu Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Val
645 650 655
Pro Glu Leu Thr Ile Pro Val Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Tyr
660 665 670
Ile Asp Ser Tyr Glu Asn Lys Asn Lys Ala Ile Lys Ala Ile Asn Asn
675 680 685
Ser Leu Ile Glu Arg Glu Ala Lys Trp Lys Glu Ile Tyr Ser Trp Ile
690 695 700
Val Ser Asn Trp Leu Thr Arg Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys
705 710 715 720
Glu Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asp Ala Ile Lys Thr
725 730 735
Ala Ile Glu Tyr Lys Tyr Asn Asn Tyr Thr Ser Asp Glu Lys Asn Arg
740 745 750
Leu Glu Ser Lys Tyr Asn Ile Asn Asn Ile Glu Glu Glu Leu Asn Lys
755 760 765
Lys Val Ser Leu Ala Met Lys Asn Ile Glu Arg Phe Met Thr Glu Ser
770 775 780
Ser Ile Ser Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Ala Glu Val Gly Lys
785 790 795 800
Leu Lys Glu Tyr Asp Lys His Val Lys Ser Asp Leu Leu Asp Tyr Ile
805 810 815
Leu Tyr His Lys Leu Ile Leu Gly Glu Gln Thr Lys Glu Leu Ile Asp
820 825 830
Leu Val Thr Ser Thr Leu Asn Ser Ser Ile Pro Phe Glu Leu Ser Ser
835 840 845
Tyr Thr Asn Asp Lys Ile Leu Ile Ile Tyr Phe Asn Arg Leu Tyr Lys
850 855 860
Lys Ile Lys Asp Ser Ser Ile Leu Asp Met Arg Tyr Glu Asn Asn Lys
865 870 875 880
Phe Ile Asp Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Asn Ile Ser Ile Asn Gly Asn
885 890 895
Val Tyr Ile Tyr Ser Thr Asn Arg Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Ser Gly
900 905 910
Arg Leu Ser Glu Val Asn Ile Ala Gln Asn Asn Asp Ile Ile Tyr Asn

```

```

          915                      920                      925
Ser Arg Tyr Gln Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Thr Ile Pro Lys
 930                      935                      940
His Tyr Arg Pro Met Asn Arg Asn Arg Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys
945                      950                      955                      960
Met Gly Asn Asn Asn Ser Gly Trp Lys Ile Ser Leu Arg Thr Ile Arg
                      965                      970                      975
Asp Cys Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Ser Gly Asn Lys Glu
 980                      985                      990
Lys Leu Ile Phe Arg Tyr Glu Glu Leu Ala Ser Ile Ser Asp Tyr Ile
 995                      1000                      1005
Asn Lys Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Gly Asn Ser
1010                      1015                      1020
Arg Ile Tyr Ile Asn Gly Asn Leu Ile Val Glu Lys Ser Ile Ser Asn
1025                      1030                      1035                      1040
Leu Gly Asp Ile His Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Gly
                      1045                      1050                      1055
Cys Asp Asp Glu Thr Tyr Val Gly Ile Arg Tyr Phe Lys Val Phe Asn
1060                      1065                      1070
Thr Glu Leu Asp Lys Thr Glu Ile Glu Thr Leu Tyr Ser Asn Glu Pro
1075                      1080                      1085
Asp Pro Ser Ile Leu Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asn
1090                      1095                      1100
Lys Lys Tyr Tyr Leu Phe Asn Leu Leu Arg Lys Asp Lys Tyr Ile Thr
1105                      1110                      1115                      1120
Arg Asn Ser Gly Ile Leu Asn Ile Asn Gln Gln Arg Gly Val Thr Gly
                      1125                      1130                      1135
Gly Ile Ser Val Phe Leu Asn Tyr Lys Leu Tyr Glu Gly Val Glu Val
1140                      1145                      1150
Ile Ile Arg Lys Asn Ala Pro Ile Asp Ile Ser Asn Thr Asp Asn Phe
1155                      1160                      1165
Val Arg Lys Asn Asp Leu Ala Tyr Ile Asn Val Val Asp His Gly Val
1170                      1175                      1180
Glu Tyr Arg Leu Tyr Ala Asp Ile Ser Ile Thr Lys Ser Glu Lys Ile
1185                      1190                      1195                      1200
Ile Lys Leu Ile Arg Thr Ser Asn Pro Asn Asp Ser Leu Gly Gln Ile
1205                      1210                      1215
Ile Val Met Asp Ser Ile Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn Phe Gln Asn
1220                      1225                      1230
Asn Asp Gly Ser Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe His Ser Asp Asp Leu
1235                      1240                      1245
Val Ala Ser Ser Trp Tyr Tyr Asn His Ile Arg Arg Asn Thr Ser Ser
1250                      1255                      1260
Asn Gly Cys Phe Trp Ser Phe Ile Ser Lys Glu His Gly Trp Lys Glu
1265                      1270                      1275                      1280

```

<210> 20

<211> 1278

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum F3

<400> 20

```

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

```

10

ES 2 813 650 T3

Arg	Ile	Asn	Ser	Asn	Pro	Ala	Gly	Glu	Val	Leu	Leu	Gln	Glu	Ile	Ser
		100						105					110		
Tyr	Ala	Lys	Pro	Tyr	Leu	Gly	Asn	Glu	His	Thr	Pro	Ile	Asn	Glu	Phe
		115					120					125			
His	Pro	Val	Thr	Arg	Thr	Thr	Ser	Val	Asn	Ile	Lys	Ser	Ser	Thr	Asn
		130				135					140				
Val	Lys	Ser	Ser	Ile	Ile	Leu	Asn	Leu	Leu	Val	Leu	Gly	Ala	Gly	Pro
145					150					155					160
Asp	Ile	Phe	Glu	Asn	Ser	Ser	Tyr	Pro	Val	Arg	Lys	Leu	Met	Asp	Ser
			165					170					175		
Gly	Gly	Val	Tyr	Asp	Pro	Ser	Asn	Asp	Gly	Phe	Gly	Ser	Ile	Asn	Ile
			180					185					190		
Val	Thr	Phe	Ser	Pro	Glu	Tyr	Glu	Tyr	Thr	Phe	Asn	Asp	Ile	Ser	Gly
		195					200					205			
Gly	Tyr	Asn	Ser	Ser	Thr	Glu	Ser	Phe	Ile	Ala	Asp	Pro	Ala	Ile	Ser
		210				215					220				
Leu	Ala	His	Glu	Leu	Ile	His	Ala	Leu	His	Gly	Leu	Tyr	Gly	Ala	Arg
225					230					235					240
Gly	Val	Thr	Tyr	Lys	Glu	Thr	Ile	Lys	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Leu	Met
				245					250					255	
Ile	Ala	Glu	Lys	Pro	Ile	Arg	Leu	Glu	Glu	Phe	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly
			260					265					270		
Gln	Asp	Leu	Asn	Ile	Ile	Thr	Ser	Ala	Met	Lys	Glu	Lys	Ile	Tyr	Asn
		275					280					285			
Asn	Leu	Leu	Ala	Asn	Tyr	Glu	Lys	Ile	Ala	Thr	Arg	Leu	Ser	Arg	Val
		290				295					300				
Asn	Ser	Ala	Pro	Pro	Glu	Tyr	Asp	Ile	Asn	Glu	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Phe
305					310					315					320
Gln	Trp	Lys	Tyr	Gly	Leu	Asp	Lys	Asn	Ala	Asp	Gly	Ser	Tyr	Thr	Val
				325					330					335	
Asn	Glu	Asn	Lys	Phe	Asn	Glu	Ile	Tyr	Lys	Lys	Leu	Tyr	Ser	Phe	Thr
			340					345					350		
Glu	Ile	Asp	Leu	Ala	Asn	Lys	Phe	Lys	Val	Lys	Cys	Arg	Asn	Thr	Tyr
		355					360					365			
Phe	Ile	Lys	Tyr	Gly	Phe	Leu	Lys	Val	Pro	Asn	Leu	Leu	Asp	Asp	Asp
		370				375					380				
Ile	Tyr	Thr	Val	Ser	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile	Gly	Asn	Leu	Ala	Val	Asn
385					390					395					400
Asn	Arg	Gly	Gln	Asn	Ile	Lys	Leu	Asn	Pro	Lys	Ile	Ile	Asp	Ser	Ile
				405					410					415	
Pro	Asp	Lys	Gly	Leu	Val	Glu	Lys	Ile	Val	Lys	Phe	Cys	Lys	Ser	Val
			420					425					430		
Ile	Pro	Arg	Lys	Gly	Thr	Lys	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Cys	Ile	Arg	Val
		435					440					445			
Asn	Asn	Arg	Glu	Leu	Phe	Phe	Val	Ala	Ser	Glu	Ser	Ser	Tyr	Asn	Glu
		450				455					460				
Asn	Asp	Ile	Asn	Thr	Pro	Lys	Glu	Ile	Asp	Asp	Thr	Thr	Asn	Leu	Asn
465					470					475					480
Asn	Asn	Tyr	Arg	Asn	Asn	Leu	Asp	Glu	Val	Ile	Leu	Asp	Tyr	Asn	Ser
			485					490					495		
Glu	Thr	Ile	Pro	Gln	Ile	Ser	Asn	Gln	Thr	Leu	Asn	Thr	Leu	Val	Gln
			500					505					510		
Asp	Asp	Ser	Tyr	Val	Pro	Arg	Tyr	Asp	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Glu	Ile
		515					520					525			
Glu	Glu	His	Asn	Val	Val	Asp	Leu	Asn	Val	Phe	Phe	Tyr	Leu	His	Ala
		530				535					540				
Gln	Lys	Val	Pro	Glu	Gly	Glu	Thr	Asn	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Ser	Ile
545					550					555					560
Asp	Thr	Ala	Leu	Ser	Glu	Glu	Ser	Gln	Val	Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser
			565					570					575		
Glu	Phe	Ile	Asn	Thr	Ile	Asn	Lys	Pro	Val	His	Ala	Ala	Leu	Phe	Ile
			580					585					590		
Ser	Trp	Ile	Asn	Gln	Val	Ile	Arg	Asp	Phe	Thr	Thr	Glu	Ala	Thr	Gln
		595					600					605			
Lys	Ser	Thr	Phe	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Ser	Leu	Val	Val	Pro	Tyr

ES 2 813 650 T3

610	615	620
Val Gly Leu Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Val Gln Lys Glu Asn Phe		
625	630	635
Lys Glu Ala Phe Glu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Val		
	645	650
Pro Glu Leu Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe		
	660	665
Ile Gly Ser Ser Glu Asn Lys Asn Lys Ile Ile Lys Ala Ile Asn Asn		
	675	680
Ser Leu Met Glu Arg Glu Thr Lys Trp Lys Glu Ile Tyr Ser Trp Ile		
	690	695
Val Ser Asn Trp Leu Thr Arg Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys		
705	710	715
Glu Gln Met Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asp Ala Ile Lys Thr		
	725	730
Val Ile Glu Tyr Lys Tyr Asn Asn Tyr Thr Ser Asp Glu Arg Asn Arg		
	740	745
Leu Glu Ser Glu Tyr Asn Ile Asn Asn Ile Arg Glu Glu Leu Asn Lys		
	755	760
Lys Val Ser Leu Ala Met Glu Asn Ile Glu Arg Phe Ile Thr Glu Ser		
	770	775
Ser Ile Phe Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Ala Lys Val Ser Lys		
785	790	795
Leu Arg Glu Tyr Asp Glu Gly Val Lys Glu Tyr Leu Leu Asp Tyr Ile		
	805	810
Ser Glu His Arg Ser Ile Leu Gly Asn Ser Val Gln Glu Leu Asn Asp		
	820	825
Leu Val Thr Ser Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Glu Leu Ser Ser		
	835	840
Tyr Thr Asn Asp Lys Ile Leu Ile Leu Tyr Phe Asn Lys Leu Tyr Lys		
	850	855
Lys Ile Lys Asp Asn Ser Ile Leu Asp Met Arg Tyr Glu Asn Asn Lys		
865	870	875
Phe Ile Asp Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Asn Ile Ser Ile Asn Gly Asp		
	885	890
Val Tyr Ile Tyr Ser Thr Asn Arg Asn Gln Phe Gly Ile Tyr Ser Ser		
	900	905
Lys Pro Ser Glu Val Asn Ile Ala Gln Asn Asn Asp Ile Ile Tyr Asn		
	915	920
Gly Arg Tyr Gln Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Val Arg Ile Pro Lys		
	930	935
Tyr Phe Asn Lys Val Asn Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asp Cys		
945	950	955
Ile Arg Asn Asn Asn Ser Gly Trp Lys Ile Ser Leu Asn Tyr Asn Lys		
	965	970
Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Ala Gly Asn Asn Gln Lys Leu Val		
	980	985
Phe Asn Tyr Thr Gln Met Ile Ser Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys Trp		
	995	1000
Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Gly Asn Ser Arg Ile Tyr		
	1010	1015
Ile Asn Gly Asn Leu Ile Asp Glu Lys Ser Ile Ser Asn Leu Gly Asp		
1025	1030	1035
Ile His Val Ser Asp Asn Ile Leu Phe Lys Ile Val Gly Cys Asn Asp		
	1045	1050
Thr Arg Tyr Val Gly Ile Arg Tyr Phe Lys Val Phe Asp Thr Glu Leu		
	1060	1065
Gly Lys Thr Glu Ile Glu Thr Leu Tyr Ser Asp Glu Pro Asp Pro Ser		
	1075	1080
Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asn Lys Arg Tyr		
	1090	1095
Tyr Leu Leu Asn Leu Leu Arg Thr Asp Lys Ser Ile Thr Gln Asn Ser		
1105	1110	1115
Asn Phe Leu Asn Ile Asn Gln Gln Arg Gly Val Tyr Gln Lys Pro Asn		
	1125	1130
		1135

Ile Phe Ser Asn Thr Arg Leu Tyr Thr Gly Val Glu Val Ile Ile Arg
 1140 1145 1150
 Lys Asn Gly Ser Thr Asp Ile Ser Asn Thr Asp Asn Phe Val Arg Lys
 1155 1160 1165
 Asn Asp Leu Ala Tyr Ile Asn Val Val Asp Arg Asp Val Glu Tyr Arg
 1170 1175 1180
 Leu Tyr Ala Asp Ile Ser Ile Ala Lys Pro Glu Lys Ile Ile Lys Leu
 1185 1190 1195 1200
 Ile Arg Thr Ser Asn Ser Asn Ser Leu Gly Gln Ile Ile Val Met
 1205 1210 1215
 Asp Ser Ile Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn Phe Gln Asn Asn Asn Gly
 1220 1225 1230
 Gly Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Leu Val Ala Ser
 1235 1240 1245
 Ser Trp Tyr Tyr Asn Asn Ile Arg Lys Asn Thr Ser Ser Asn Gly Cys
 1250 1255 1260
 Phe Trp Ser Phe Ile Ser Lys Glu His Gly Trp Gln Glu Asn
 1265 1270 1275

<210> 21

<211> 1297

5 <212> PRT

<213> Clostridium botulinum G

<220>

<221> VARIANTE

10 <222> 7

<223> La identidad del aminoácido es desconocida

<400> 21

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

15

ES 2 813 650 T3

Gly	Gly	His	Asp	Pro	Ser	Val	Ile	Ser	Pro	Ser	Thr	Asp	Met	Asn	Ile
		275					280					285			
Tyr	Asn	Lys	Ala	Leu	Gln	Asn	Phe	Gln	Asp	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Asn
	290					295					300				
Ile	Val	Ser	Ser	Ala	Gln	Gly	Ser	Gly	Ile	Asp	Ile	Ser	Leu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Gln	Ile	Tyr	Lys	Asn	Lys	Tyr	Asp	Phe	Val	Glu	Asp	Pro	Asn	Gly	Lys
			325						330					335	
Tyr	Ser	Val	Asp	Lys	Asp	Lys	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Ala	Leu	Met
		340						345					350		
Phe	Gly	Phe	Thr	Glu	Thr	Asn	Leu	Ala	Gly	Glu	Tyr	Gly	Ile	Lys	Thr
		355					360					365			
Arg	Tyr	Ser	Tyr	Phe	Ser	Glu	Tyr	Leu	Pro	Pro	Ile	Lys	Thr	Glu	Lys
	370					375					380				
Leu	Leu	Asp	Asn	Thr	Ile	Tyr	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile	Ala
385					390					395					400
Ser	Lys	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Phe	Asn	Gly	Gln	Asn	Lys	Ala	Val	Asn
				405					410					415	
Lys	Glu	Ala	Tyr	Glu	Glu	Ile	Ser	Leu	Glu	His	Leu	Val	Ile	Tyr	Arg
		420						425					430		
Ile	Ala	Met	Cys	Lys	Pro	Val	Met	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gly	Lys	Ser	Glu
		435					440					445			
Gln	Cys	Ile	Ile	Val	Asn	Asn	Glu	Asp	Leu	Phe	Phe	Ile	Ala	Asn	Lys
	450					455					460				
Asp	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Leu	Ala	Lys	Ala	Glu	Thr	Ile	Ala	Tyr	Asn
465					470					475					480
Thr	Gln	Asn	Asn	Thr	Ile	Glu	Asn	Asn	Phe	Ser	Ile	Asp	Gln	Leu	Ile
				485					490					495	
Leu	Asp	Asn	Asp	Leu	Ser	Ser	Gly	Ile	Asp	Leu	Pro	Asn	Glu	Asn	Thr
		500					505						510		
Glu	Pro	Phe	Thr	Asn	Phe	Asp	Asp	Ile	Asp	Ile	Pro	Val	Tyr	Ile	Lys
	515					520						525			
Gln	Ser	Ala	Leu	Lys	Lys	Ile	Phe	Val	Asp	Gly	Asp	Ser	Leu	Phe	Glu
	530					535					540				
Tyr	Leu	His	Ala	Gln	Thr	Phe	Pro	Ser	Asn	Ile	Glu	Asn	Leu	Gln	Leu
545					550					555					560
Thr	Asn	Ser	Leu	Asn	Asp	Ala	Leu	Arg	Asn	Asn	Asn	Lys	Val	Tyr	Thr
			565						570					575	
Phe	Phe	Ser	Thr	Asn	Leu	Val	Glu	Lys	Ala	Asn	Thr	Val	Val	Gly	Ala
			580					585					590		
Ser	Leu	Phe	Val	Asn	Trp	Val	Lys	Gly	Val	Ile	Asp	Asp	Phe	Thr	Ser
		595					600					605			
Glu	Ser	Thr	Gln	Lys	Ser	Thr	Ile	Asp	Lys	Val	Ser	Asp	Val	Ser	Ile
	610					615						620			
Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Val	Gly	Asn	Glu	Thr	Ala
625					630						635				640
Lys	Glu	Asn	Phe	Lys	Asn	Ala	Phe	Glu	Ile	Gly	Gly	Ala	Ala	Ile	Leu
			645						650					655	
Met	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Leu	Ile	Val	Pro	Ile	Val	Gly	Phe	Phe	Thr
		660						665					670		
Leu	Glu	Ser	Tyr	Val	Gly	Asn	Lys	Gly	His	Ile	Ile	Met	Thr	Ile	Ser
		675				680						685			
Asn	Ala	Leu	Lys	Lys	Arg	Asp	Gln	Lys	Trp	Thr	Asp	Met	Tyr	Gly	Leu
	690					695					700				
Ile	Val	Ser	Gln	Trp	Leu	Ser	Thr	Val	Asn	Thr	Gln	Phe	Tyr	Thr	Ile
705					710						715				720
Lys	Glu	Arg	Met	Tyr	Asn	Ala	Leu	Asn	Asn	Gln	Ser	Gln	Ala	Ile	Glu
			725							730				735	
Lys	Ile	Ile	Glu	Asp	Gln	Tyr	Asn	Arg	Tyr	Ser	Glu	Glu	Asp	Lys	Met
		740						745					750		
Asn	Ile	Asn	Ile	Asp	Phe	Asn	Asp	Ile	Asp	Phe	Lys	Leu	Asn	Gln	Ser
		755					760					765			
Ile	Asn	Leu	Ala	Ile	Asn	Asn	Ile	Asp	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln	Cys	Ser
	770					775						780			
Ile	Ser	Tyr	Leu	Met	Asn	Arg	Met	Ile	Pro	Leu	Ala	Val	Lys	Lys	Leu

ES 2 813 650 T3

```

785          790          795          800
Lys Asp Phe Asp Asp Asn Leu Lys Arg Asp Leu Leu Glu Tyr Ile Asp
      805      810      815
Thr Asn Glu Leu Tyr Leu Leu Asp Glu Val Asn Ile Leu Lys Ser Lys
      820      825      830
Val Asn Arg His Leu Lys Asp Ser Ile Pro Phe Asp Leu Ser Leu Tyr
      835      840      845
Thr Lys Asp Thr Ile Leu Ile Gln Val Phe Asn Asn Tyr Ile Ser Asn
      850      855      860
Ile Ser Ser Asn Ala Ile Leu Ser Leu Ser Tyr Arg Gly Gly Arg Leu
865      870      875      880
Ile Asp Ser Ser Gly Tyr Gly Ala Thr Met Asn Val Gly Ser Asp Val
      885      890      895
Ile Phe Asn Asp Ile Gly Asn Gly Gln Phe Lys Leu Asn Asn Ser Glu
      900      905      910
Asn Ser Asn Ile Thr Ala His Gln Ser Lys Phe Val Val Tyr Asp Ser
      915      920      925
Met Phe Asp Asn Phe Ser Ile Asn Phe Trp Val Arg Thr Pro Lys Tyr
      930      935      940
Asn Asn Asn Asp Ile Gln Thr Tyr Leu Gln Asn Glu Tyr Thr Ile Ile
945      950      955      960
Ser Cys Ile Lys Asn Asp Ser Gly Trp Lys Val Ser Ile Lys Gly Asn
      965      970      975
Arg Ile Ile Trp Thr Leu Ile Asp Val Asn Ala Lys Ser Lys Ser Ile
      980      985      990
Phe Phe Glu Tyr Ser Ile Lys Asp Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Lys
      995      1000      1005
Trp Phe Ser Ile Thr Ile Thr Asn Asp Arg Leu Gly Asn Ala Asn Ile
      1010      1015      1020
Tyr Ile Asn Gly Ser Leu Lys Lys Ser Glu Lys Ile Leu Asn Leu Asp
1025      1030      1035      1040
Arg Ile Asn Ser Ser Asn Asp Ile Asp Phe Lys Leu Ile Asn Cys Thr
      1045      1050      1055
Asp Thr Thr Lys Phe Val Trp Ile Lys Asp Phe Asn Ile Phe Gly Arg
      1060      1065      1070
Glu Leu Asn Ala Thr Glu Val Ser Ser Leu Tyr Trp Ile Gln Ser Ser
      1075      1080      1085
Thr Asn Thr Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Arg Tyr Asp Thr
      1090      1095      1100
Gln Tyr Tyr Leu Phe Asn Gln Gly Met Gln Asn Ile Tyr Ile Lys Tyr
1105      1110      1115      1120
Phe Ser Lys Ala Ser Met Gly Glu Thr Ala Pro Arg Thr Asn Phe Asn
      1125      1130      1135
Asn Ala Ala Ile Asn Tyr Gln Asn Leu Tyr Leu Gly Leu Arg Phe Ile
      1140      1145      1150
Ile Lys Lys Ala Ser Asn Ser Arg Asn Ile Asn Asn Asp Asn Ile Val
      1155      1160      1165
Arg Glu Gly Asp Tyr Ile Tyr Leu Asn Ile Asp Asn Ile Ser Asp Glu
      1170      1175      1180
Ser Tyr Arg Val Tyr Val Leu Val Asn Ser Lys Glu Ile Gln Thr Gln
1185      1190      1195      1200
Leu Phe Leu Ala Pro Ile Asn Asp Asp Pro Thr Phe Tyr Asp Val Leu
      1205      1210      1215
Gln Ile Lys Lys Tyr Tyr Glu Lys Thr Thr Tyr Asn Cys Gln Ile Leu
      1220      1225      1230
Cys Glu Lys Asp Thr Lys Thr Phe Gly Leu Phe Gly Ile Gly Lys Phe
      1235      1240      1245
Val Lys Asp Tyr Gly Tyr Val Trp Asp Thr Tyr Asp Asn Tyr Phe Cys
      1250      1255      1260
Ile Ser Gln Trp Tyr Leu Arg Arg Ile Ser Glu Asn Ile Asn Lys Leu
1265      1270      1275      1280
Arg Leu Gly Cys Asn Trp Gln Phe Ile Pro Val Asp Glu Gly Trp Thr
      1285      1290      1295
Glu

```

<210> 22

<211> 1315

5 <212> PRT

<213> Clostridium tetani

<400> 22

ES 2 813 650 T3

Met	Pro	Ile	Thr	Ile	Asn	Asn	Phe	Arg	Tyr	Ser	Asp	Pro	Val	Asn	Asn
1				5					10					15	
Asp	Thr	Ile	Ile	Met	Met	Glu	Pro	Pro	Tyr	Cys	Lys	Gly	Leu	Asp	Ile
		20						25					30		
Tyr	Tyr	Lys	Ala	Phe	Lys	Ile	Thr	Asp	Arg	Ile	Trp	Ile	Val	Pro	Glu
		35					40					45			
Arg	Tyr	Glu	Phe	Gly	Thr	Lys	Pro	Glu	Asp	Phe	Asn	Pro	Pro	Ser	Ser
	50					55					60				
Leu	Ile	Glu	Gly	Ala	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Asn	Tyr	Leu	Arg	Thr
65					70				75					80	
Asp	Ser	Asp	Lys	Asp	Arg	Phe	Leu	Gln	Thr	Met	Val	Lys	Leu	Phe	Asn
			85						90					95	
Arg	Ile	Lys	Asn	Asn	Val	Ala	Gly	Glu	Ala	Leu	Leu	Asp	Lys	Ile	Ile
		100						105					110		
Asn	Ala	Ile	Pro	Tyr	Leu	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ser	Leu	Leu	Asp	Lys	Phe
	115						120					125			
Asp	Thr	Asn	Ser	Asn	Ser	Val	Ser	Phe	Asn	Leu	Leu	Glu	Gln	Asp	Pro
	130					135						140			
Ser	Gly	Ala	Thr	Thr	Lys	Ser	Ala	Met	Leu	Thr	Asn	Leu	Ile	Ile	Phe
145					150				155						160
Gly	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Asn	Lys	Asn	Glu	Val	Arg	Gly	Ile	Val	Leu
			165						170					175	
Arg	Val	Asp	Asn	Lys	Asn	Tyr	Phe	Pro	Cys	Arg	Asp	Gly	Phe	Gly	Ser
		180						185					190		
Ile	Met	Gln	Met	Ala	Phe	Cys	Pro	Glu	Tyr	Val	Pro	Thr	Phe	Asp	Asn
	195						200					205			
Val	Ile	Glu	Asn	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Ile	Gly	Lys	Ser	Lys	Tyr	Phe
	210					215						220			
Gln	Asp	Pro	Ala	Leu	Leu	Met	His	Glu	Leu	Ile	His	Val	Leu	His	
225				230					235					240	
Gly	Leu	Tyr	Gly	Met	Gln	Val	Ser	Ser	His	Glu	Ile	Ile	Pro	Ser	Lys
			245						250					255	
Gln	Glu	Ile	Tyr	Met	Gln	His	Thr	Tyr	Pro	Ile	Ser	Ala	Glu	Glu	Leu
		260						265					270		
Phe	Thr	Phe	Gly	Gly	Gln	Asp	Ala	Asn	Leu	Ile	Ser	Ile	Asp	Ile	Lys
	275						280					285			
Asn	Asp	Leu	Tyr	Glu	Lys	Thr	Leu	Asn	Asp	Tyr	Lys	Ala	Ile	Ala	Asn
	290					295						300			
Lys	Leu	Ser	Gln	Val	Thr	Ser	Cys	Asn	Asp	Pro	Asn	Ile	Asp	Ile	Asp
305				310						315				320	
Ser	Tyr	Lys	Gln	Ile	Tyr	Gln	Gln	Lys	Tyr	Gln	Phe	Asp	Lys	Asp	Ser
			325						330					335	
Asn	Gly	Gln	Tyr	Ile	Val	Asn	Glu	Asp	Lys	Phe	Gln	Ile	Leu	Tyr	Asn
		340						345					350		
Ser	Ile	Met	Tyr	Gly	Phe	Thr	Glu	Ile	Glu	Leu	Gly	Lys	Lys	Phe	Asn
	355						360					365			
Ile	Lys	Thr	Arg	Leu	Ser	Tyr	Phe	Ser	Met	Asn	His	Asp	Pro	Val	Lys
	370					375						380			
Ile	Pro	Asn	Leu	Leu	Asp	Asp	Thr	Ile	Tyr	Asn	Asp	Thr	Glu	Gly	Phe
385				390						395				400	
Asn	Ile	Glu	Ser	Lys	Asp	Leu	Lys	Ser	Glu	Tyr	Lys	Gly	Gln	Asn	Met
			405						410					415	
Arg	Val	Asn	Thr	Asn	Ala	Phe	Arg	Asn	Val	Asp	Gly	Ser	Gly	Leu	Val
		420						425					430		
Ser	Lys	Leu	Ile	Gly	Leu	Cys	Lys	Lys	Ile	Ile	Pro	Pro	Thr	Asn	Ile
	435						440					445			
Arg	Glu	Asn	Leu	Tyr	Asn	Arg	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gly

ES 2 813 650 T3

450		455		460
Glu Leu Cys Ile Lys	Ile Lys Asn Glu Asp	Leu Thr Phe Ile Ala Glu		
465	470	475		480
Lys Asn Ser Phe Ser	Glu Glu Pro Phe Gln Asp	Glu Ile Val Ser Tyr		
	485	490		495
Asn Thr Lys Asn Lys	Pro Leu Asn Phe Asn Tyr	Ser Leu Asp Lys Ile		
	500	505		510
Ile Val Asp Tyr Asn	Leu Gln Ser Lys Ile Thr	Leu Pro Asn Asp Arg		
	515	520		525
Thr Thr Pro Val Thr	Lys Gly Ile Pro Tyr Ala	Pro Glu Tyr Lys Ser		
	530	535		540
Asn Ala Ala Ser Thr	Ile Glu Ile His Asn Ile	Asp Asp Asn Thr Ile		
545	550	555		560
Tyr Gln Tyr Leu Tyr	Ala Gln Lys Ser Pro Thr	Thr Leu Gln Arg Ile		
	565	570		575
Thr Met Thr Asn Ser	Val Asp Asp Ala Leu Ile	Asn Ser Thr Lys Ile		
	580	585		590
Tyr Ser Tyr Phe Pro	Ser Val Ile Ser Lys Val	Asn Gln Gly Ala Gln		
	595	600		605
Gly Ile Leu Phe Leu	Gln Trp Val Arg Asp Ile	Ile Ile Asp Asp Phe Thr		
	610	615		620
Asn Glu Ser Ser Gln	Lys Thr Thr Ile Asp Lys	Ile Ser Asp Val Ser		
625	630	635		640
Thr Ile Val Pro Tyr	Ile Gly Pro Ala Leu Asn	Ile Val Lys Gln Gly		
	645	650		655
Tyr Glu Gly Asn Phe	Ile Gly Ala Leu Glu Thr	Thr Gly Val Val Leu		
	660	665		670
Leu Leu Glu Tyr Ile	Pro Glu Ile Thr Leu Pro	Val Ile Ala Ala Leu		
	675	680		685
Ser Ile Ala Glu Ser	Ser Thr Gln Lys Glu Lys	Ile Ile Lys Thr Ile		
	690	695		700
Asp Asn Phe Leu Glu	Lys Arg Tyr Glu Lys Trp	Ile Glu Val Tyr Lys		
705	710	715		720
Leu Val Lys Ala Lys	Trp Leu Gly Thr Val Asn	Thr Gln Phe Gln Lys		
	725	730		735
Arg Ser Tyr Gln Met	Tyr Arg Ser Leu Glu Tyr	Gln Val Asp Ala Ile		
	740	745		750
Lys Lys Ile Ile Asp	Tyr Glu Tyr Lys Ile Tyr	Ser Gly Pro Asp Lys		
	755	760		765
Glu Gln Ile Ala Asp	Glu Ile Asn Asn Leu Lys	Asn Lys Leu Glu Glu		
	770	775		780
Lys Ala Asn Lys Ala	Met Ile Asn Ile Asn Ile	Phe Met Arg Glu Ser		
785	790	795		800
Ser Arg Ser Phe Leu	Val Asn Gln Met Ile Asn	Glu Ala Lys Lys Gln		
	805	810		815
Leu Leu Glu Phe Asp	Thr Gln Ser Lys Asn Ile	Leu Met Gln Tyr Ile		
	820	825		830
Lys Ala Asn Ser Lys	Phe Ile Gly Ile Thr Glu	Leu Lys Lys Leu Glu		
	835	840		845
Ser Lys Ile Asn Lys	Val Phe Ser Thr Pro Ile	Pro Phe Ser Tyr Ser		
	850	855		860
Lys Asn Leu Asp Cys	Trp Val Asp Asn Glu Glu	Asp Ile Asp Val Ile		
865	870	875		880
Leu Lys Lys Ser Thr	Ile Leu Asn Leu Asp Ile	Asn Asn Asp Ile Ile		
	885	890		895
Ser Asp Ile Ser Gly	Phe Asn Ser Ser Val Ile	Thr Tyr Pro Asp Ala		
	900	905		910
Gln Leu Val Pro Gly	Ile Asn Gly Lys Ala Ile	His Leu Val Asn Asn		
	915	920		925
Glu Ser Ser Glu Val	Ile Val His Lys Ala Met	Asp Ile Glu Tyr Asn		
	930	935		940
Asp Met Phe Asn Asn	Phe Thr Val Ser Phe Trp	Leu Arg Val Pro Lys		
945	950	955		960
Val Ser Ala Ser His	Leu Glu Gln Tyr Gly Thr	Asn Glu Tyr Ser Ile		
	965	970		975

Ile Ser Ser Met Lys Lys His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Gly Trp Ser
 980 985 990
 Val Ser Leu Lys Gly Asn Asn Leu Ile Trp Thr Leu Lys Asp Ser Ala
 995 1000 1005
 Gly Glu Val Arg Gln Ile Thr Phe Arg Asp Leu Pro Asp Lys Phe Asn
 1010 1015 1020
 Ala Tyr Leu Ala Asn Lys Trp Val Phe Ile Thr Ile Thr Asn Asp Arg
 1025 1030 1035 1040
 Leu Ser Ser Ala Asn Leu Tyr Ile Asn Gly Val Leu Met Gly Ser Ala
 1045 1050 1055
 Glu Ile Thr Gly Leu Gly Ala Ile Arg Glu Asp Asn Asn Ile Thr Leu
 1060 1065 1070
 Lys Leu Asp Arg Cys Asn Asn Asn Asn Gln Tyr Val Ser Ile Asp Lys
 1075 1080 1085
 Phe Arg Ile Phe Cys Lys Ala Leu Asn Pro Lys Glu Ile Glu Lys Leu
 1090 1095 1100
 Tyr Thr Ser Tyr Leu Ser Ile Thr Phe Leu Arg Asp Phe Trp Gly Asn
 1105 1110 1115 1120
 Pro Leu Arg Tyr Asp Thr Glu Tyr Tyr Leu Ile Pro Val Ala Ser Ser
 1125 1130 1135
 Ser Lys Asp Val Gln Leu Lys Asn Ile Thr Asp Tyr Met Tyr Leu Thr
 1140 1145 1150
 Asn Ala Pro Ser Tyr Thr Asn Gly Lys Leu Asn Ile Tyr Tyr Arg Arg
 1155 1160 1165
 Leu Tyr Asn Gly Leu Lys Phe Ile Ile Lys Arg Tyr Thr Pro Asn Asn
 1170 1175 1180
 Glu Ile Asp Ser Phe Val Lys Ser Gly Asp Phe Ile Lys Leu Tyr Val
 1185 1190 1195 1200
 Ser Tyr Asn Asn Asn Glu His Ile Val Gly Tyr Pro Lys Asp Gly Asn
 1205 1210 1215
 Ala Phe Asn Asn Leu Asp Arg Ile Leu Arg Val Gly Tyr Asn Ala Pro
 1220 1225 1230
 Gly Ile Pro Leu Tyr Lys Lys Met Glu Ala Val Lys Leu Arg Asp Leu
 1235 1240 1245
 Lys Thr Tyr Ser Val Gln Leu Lys Leu Tyr Asp Asp Lys Asn Ala Ser
 1250 1255 1260
 Leu Gly Leu Val Gly Thr His Asn Gly Gln Ile Gly Asn Asp Pro Asn
 1265 1270 1275 1280
 Arg Asp Ile Leu Ile Ala Ser Asn Trp Tyr Phe Asn His Leu Lys Asp
 1285 1290 1295
 Lys Ile Leu Gly Cys Asp Trp Tyr Phe Val Pro Thr Asp Glu Gly Trp
 1300 1305 1310
 Thr Asn Asp
 1315

<210> 23
 <211> 1268
 5 <212> PRT
 <213> Clostridium baratii

<400> 23

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

ES 2 813 650 T3

				100					105					110			
Asn	Gly	Lys	Pro	Tyr	Leu	Gly	Asn	Asp	His	Thr	Ala	Val	Asn	Glu	Phe		
		115					120					125					
Cys	Ala	Asn	Asn	Arg	Ser	Thr	Ser	Val	Glu	Ile	Lys	Glu	Ser	Asn	Gly		
	130					135					140						
Thr	Thr	Asp	Ser	Met	Leu	Leu	Asn	Leu	Val	Ile	Leu	Gly	Pro	Gly	Pro		
145				150					155						160		
Asn	Ile	Leu	Glu	Cys	Ser	Thr	Phe	Pro	Val	Arg	Ile	Phe	Pro	Asn	Asn		
				165				170					175				
Ile	Ala	Tyr	Asp	Pro	Ser	Glu	Lys	Gly	Phe	Gly	Ser	Ile	Gln	Leu	Met		
			180					185					190				
Ser	Phe	Ser	Thr	Glu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Phe	Asn	Asp	Asn	Thr	Asp	Leu		
		195					200				205						
Phe	Ile	Ala	Asp	Pro	Ala	Ile	Ser	Leu	Ala	His	Glu	Leu	Ile	His	Val		
	210					215					220						
Leu	His	Gly	Leu	Tyr	Gly	Ala	Lys	Gly	Val	Thr	Asn	Lys	Lys	Val	Ile		
225				230						235					240		
Glu	Val	Asp	Gln	Gly	Ala	Leu	Met	Ala	Ala	Glu	Lys	Asp	Ile	Lys	Ile		
				245				250						255			
Glu	Glu	Phe	Ile	Thr	Phe	Gly	Gly	Gln	Asp	Leu	Asn	Ile	Ile	Thr	Asn		
		260						265					270				
Ser	Thr	Asn	Gln	Lys	Ile	Tyr	Val	Ile	Leu	Leu	Ser	Asn	Tyr	Thr	Ala		
		275					280					285					
Ile	Ala	Ser	Arg	Leu	Ser	Gln	Val	Asn	Arg	Asn	Asn	Ser	Ala	Leu	Asn		
	290					295					300						
Thr	Thr	Tyr	Tyr	Lys	Asn	Phe	Phe	Gln	Trp	Lys	Tyr	Gly	Leu	Asp	Gln		
305				310						315					320		
Asp	Ser	Asn	Gly	Asn	Tyr	Thr	Val	Asn	Ile	Ser	Lys	Phe	Asn	Ala	Ile		
				325				330						335			
Tyr	Lys	Lys	Leu	Phe	Ser	Phe	Thr	Glu	Cys	Asp	Leu	Ala	Gln	Lys	Phe		
			340					345					350				
Gln	Val	Lys	Asn	Arg	Ser	Asn	Tyr	Leu	Phe	His	Phe	Lys	Pro	Phe	Arg		
		355					360					365					
Leu	Leu	Asp	Leu	Leu	Asp	Asp	Asn	Ile	Tyr	Ser	Ile	Ser	Glu	Gly	Phe		
	370					375					380						
Asn	Ile	Gly	Ser	Leu	Arg	Val	Asn	Asn	Asn	Gly	Gln	Asn	Ile	Asn	Leu		
385				390						395					400		
Asn	Ser	Arg	Ile	Val	Gly	Pro	Ile	Pro	Asp	Asn	Gly	Leu	Val	Glu	Arg		
				405				410					415				
Phe	Val	Gly	Leu	Cys	Lys	Ser	Ile	Val	Ser	Lys	Lys	Gly	Thr	Lys	Asn		
			420					425									

ES 2 813 650 T3

Val	Gln	Lys	Gly	Asn	Phe	Lys	Glu	Ala	Ile	Glu	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly
625					630					635					640
Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Val	Pro	Glu	Leu	Leu	Ile	Pro	Thr	Ile	Leu	Val
				645					650						655
Phe	Thr	Ile	Lys	Ser	Phe	Ile	Asn	Ser	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Lys	Ile
			660					665					670		
Ile	Lys	Ala	Ile	Asn	Asn	Ala	Leu	Arg	Glu	Arg	Glu	Leu	Lys	Trp	Lys
		675					680					685			
Glu	Val	Tyr	Ser	Trp	Ile	Val	Ser	Asn	Trp	Leu	Thr	Arg	Ile	Asn	Thr
	690					695					700				
Gln	Phe	Asn	Lys	Arg	Lys	Glu	Gln	Met	Tyr	Gln	Ala	Leu	Gln	Asn	Gln
705					710					715					720
Val	Asp	Gly	Ile	Lys	Lys	Ile	Ile	Glu	Tyr	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Thr
				725					730						735
Leu	Asp	Glu	Lys	Asn	Arg	Leu	Arg	Ala	Glu	Tyr	Asn	Ile	Tyr	Ser	Ile
			740					745					750		
Lys	Glu	Glu	Leu	Asn	Lys	Lys	Val	Ser	Leu	Ala	Met	Gln	Asn	Ile	Asp
		755					760					765			
Arg	Phe	Leu	Thr	Glu	Ser	Ser	Ile	Ser	Tyr	Leu	Met	Lys	Leu	Ile	Asn
	770					775					780				
Glu	Ala	Lys	Ile	Asn	Lys	Leu	Ser	Glu	Tyr	Asp	Lys	Arg	Val	Asn	Gln
785					790					795					800
Tyr	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Leu	Glu	Asn	Ser	Ser	Thr	Leu	Gly	Thr	Ser
			805						810					815	
Ser	Val	Pro	Glu	Leu	Asn	Asn	Leu	Val	Ser	Asn	Thr	Leu	Asn	Asn	Ser
			820					825					830		
Ile	Pro	Phe	Glu	Leu	Ser	Glu	Tyr	Thr	Asn	Asp	Lys	Ile	Leu	Ile	His
		835					840					845			
Ile	Leu	Ile	Arg	Phe	Tyr	Lys	Arg	Ile	Ile	Asp	Ser	Ser	Ile	Leu	Asn
	850					855					860				
Met	Lys	Tyr	Glu	Asn	Asn	Arg	Phe	Ile	Asp	Ser	Ser	Gly	Tyr	Gly	Ser
				870					875						880
Asn	Ile	Ser	Ile	Asn	Gly	Asp	Ile	Tyr	Ile	Tyr	Ser	Thr	Asn	Arg	Asn
				885					890					895	
Gln	Phe	Gly	Ile	Tyr	Ser	Ser	Arg	Leu	Ser	Glu	Val	Asn	Ile	Thr	Gln
		900						905					910		
Asn	Asn	Thr	Ile	Ile	Tyr	Asn	Ser	Arg	Tyr	Gln	Asn	Phe	Ser	Val	Ser
		915					920					925			
Phe	Trp	Val	Arg	Ile	Pro	Lys	Tyr	Asn	Asn	Leu	Lys	Asn	Leu	Asn	Asn
	930					935					940				
Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Cys	Met	Arg	Asn	Asn	Asn	Ser	Gly	Trp	Lys
				950						955					960
Ile	Ser	Leu	Asn	Tyr	Asn	Asn	Ile	Ile	Trp	Thr	Leu	Gln	Asp	Thr	Thr
				965					970					975	
Gly	Asn	Asn	Gln	Lys	Leu	Val	Phe	Asn	Tyr	Thr	Gln	Met	Ile	Asp	Ile
			980					985					990		
Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Lys	Trp	Thr	Phe	Val	Thr	Ile	Thr	Asn	Asn	Arg
		995					1000					1005			
Leu	Gly	His	Ser	Lys	Leu	Tyr	Ile	Asn	Gly	Asn	Leu	Thr	Asp	Gln	Lys
	1010					1015					1020				
Ser	Ile	Leu	Asn	Leu	Gly	Asn	Ile	His	Val	Asp	Asp	Asn	Ile	Leu	Phe
	1025				1030					1035					1040
Lys	Ile	Val	Gly	Cys	Asn	Asp	Thr	Arg	Tyr	Val	Gly	Ile	Arg	Tyr	Phe
			1045						1050					1055	
Lys	Ile	Phe	Asn	Met	Glu	Leu	Asp	Lys	Thr	Glu	Ile	Glu	Thr	Leu	Tyr
			1060					1065					1070		
His	Ser	Glu	Pro	Asp	Ser	Thr	Ile	Leu	Lys	Asp	Phe	Trp	Gly	Asn	Tyr
		1075					1080					1085			
Leu	Leu	Tyr	Asn	Lys	Lys	Tyr	Leu	Leu	Asn	Leu	Leu	Lys	Pro	Asn	
	1090					1095						1100			
Met	Ser	Val	Thr	Lys	Asn	Ser	Asp	Ile	Leu	Asn	Ile	Asn	Arg	Gln	Arg
	1105				1110					1115					1120
Gly	Ile	Tyr	Ser	Lys	Thr	Asn	Ile	Phe	Ser	Asn	Ala	Arg	Leu	Tyr	Thr
			1125						1130					1135	
Gly	Val	Glu	Val	Ile	Ile	Arg	Lys	Val	Gly	Ser	Thr	Asp	Thr	Ser	Asn

```

      1140      1145      1150
Thr Asp Asn Phe Val Arg Lys Asn Asp Thr Val Tyr Ile Asn Val Val
      1155      1160      1165
Asp Gly Asn Ser Glu Tyr Gln Leu Tyr Ala Asp Val Ser Thr Ser Ala
      1170      1175      1180
Val Glu Lys Thr Ile Lys Leu Arg Arg Ile Ser Asn Ser Asn Tyr Asn
1185      1190      1195      1200
Ser Asn Gln Met Ile Ile Met Asp Ser Ile Gly Asp Asn Cys Thr Met
      1205      1210      1215
Asn Phe Lys Thr Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly Leu Leu Gly Phe His
      1220      1225      1230
Leu Asn Asn Leu Val Ala Ser Ser Trp Tyr Tyr Lys Asn Ile Arg Asn
      1235      1240      1245
Asn Thr Arg Asn Asn Gly Cys Phe Trp Ser Phe Ile Ser Lys Glu His
      1250      1255      1260
Gly Trp Gln Glu
1265

```

<210> 24

<211> 1251

<212> PRT

<213> Clostridium butyricum 1

<400> 24

```

Met Pro Thr Ile Asn Ser Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Val Asn Asn Arg
 1      5      10      15
Thr Ile Leu Tyr Ile Lys Pro Gly Gly Cys Gln Gln Phe Tyr Lys Ser
      20      25      30
Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
      35      40      45
Gly Thr Ile Pro Gln Asp Phe Leu Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
      50      55      60
Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Lys
      65      70      75      80
Asp Lys Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asp
      85      90      95
Asn Leu Ser Gly Arg Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
      100      105      110
Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Gly Asp Phe Ile Ile Asn Asp
      115      120      125
Ala Ser Ala Val Pro Ile Gln Phe Ser Asn Gly Ser Gln Ser Ile Leu
      130      135      140
Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
      145      150      155      160
Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
      165      170      175
Gly Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
      180      185      190
Arg Phe Lys Asp Asn Ser Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
      195      200      205
Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
      210      215      220
Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
      225      230      235      240
Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
      245      250      255
Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
      260      265      270
Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
      275      280      285
Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
      290      295      300
Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
      305      310      315      320

```



```

Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu
      325      330      335
Phe Asp Leu Ala Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
      340      345      350
Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
      355      360      365
Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
      370      375      380
Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
385      390      395      400
Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys Lys Asn Ile Val
      405      410      415
Ser Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys Ile Glu Ile Asn Asn Gly
      420      425      430
Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn Asp Asp Asn Ile
      435      440      445
Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser Asn Asn Asn Tyr
      450      455      460
Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn Ser Glu Ser Ala
465      470      475      480
Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile Gln Asn Asp Ala
      485      490      495
Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp Ile Glu Gln His
      500      505      510
Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp Ala Gln Lys Val
      515      520      525
Pro Glu Gly Glu Asn Asn Val Asn Leu Thr Ser Ser Ile Asp Thr Ala
      530      535      540
Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Glu Phe Ile
545      550      555      560
Asn Asn Val Asn Lys Pro Val Gln Ala Ala Leu Phe Val Gly Trp Ile
      565      570      575
Gln Gln Val Leu Val Asp Phe Thr Thr Glu Ala Asn Gln Lys Ser Thr
      580      585      590
Val Asp Lys Ile Ala Asp Ile Ser Ile Val Val Pro Tyr Ile Gly Leu
      595      600      605
Ala Leu Asn Ile Gly Asn Glu Ala Gln Lys Gly Asn Phe Lys Asp Ala
      610      615      620
Leu Glu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Leu Leu Glu Phe Glu Pro Glu Leu
625      630      635      640
Leu Ile Pro Thr Ile Leu Val Phe Thr Ile Lys Ser Phe Leu Gly Ser
      645      650      655
Ser Asp Asn Lys Asn Lys Val Ile Lys Ala Ile Asn Asn Ala Leu Lys
      660      665      670
Glu Arg Asp Glu Lys Trp Lys Glu Val Tyr Ser Phe Ile Val Ser Asn
      675      680      685
Trp Met Thr Lys Ile Asn Thr Gln Phe Asn Lys Arg Lys Glu Gln Met
      690      695      700
Tyr Gln Ala Leu Gln Asn Gln Val Asn Ala Leu Lys Ala Ile Ile Glu
705      710      715      720
Ser Lys Tyr Asn Ser Tyr Thr Leu Glu Glu Lys Asn Glu Leu Thr Asn
      725      730      735
Lys Tyr Asp Ile Glu Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asn Gln Lys Val Ser
      740      745      750
Ile Ala Met Asn Asn Ile Asp Arg Phe Leu Thr Glu Ser Ser Ile Ser
      755      760      765
Tyr Leu Met Lys Leu Ile Asn Glu Val Lys Ile Asn Lys Leu Arg Glu
      770      775      780
Tyr Asp Glu Asn Val Lys Thr Tyr Leu Leu Asp Tyr Ile Ile Lys His
785      790      795      800
Gly Ser Ile Leu Gly Glu Ser Gln Gln Glu Leu Asn Ser Met Val Ile
      805      810      815
Asp Thr Leu Asn Asn Ser Ile Pro Phe Lys Leu Ser Ser Tyr Thr Asp
      820      825      830
Asp Lys Ile Leu Ile Ser Tyr Phe Asn Lys Phe Phe Lys Arg Ile Lys

```

ES 2 813 650 T3

			835				840					845				
Ser	Ser	Ser	Val	Leu	Asn	Met	Arg	Tyr	Lys	Asn	Asp	Lys	Tyr	Val	Asp	
	850					855					860					
Thr	Ser	Gly	Tyr	Asp	Ser	Asn	Ile	Asn	Ile	Asn	Gly	Asp	Val	Tyr	Lys	
865					870					875					880	
Tyr	Pro	Thr	Asn	Lys	Asn	Gln	Phe	Gly	Ile	Tyr	Asn	Asp	Lys	Leu	Ser	
				885					890					895		
Glu	Val	Asn	Ile	Ser	Gln	Asn	Asp	Tyr	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asn	Lys	Tyr	
			900					905					910			
Lys	Asn	Phe	Ser	Ile	Ser	Phe	Trp	Val	Arg	Ile	Pro	Asn	Tyr	Asp	Asn	
	915						920					925				
Lys	Ile	Val	Asn	Val	Asn	Asn	Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Cys	Met	Arg	
	930					935					940					
Asp	Asn	Asn	Ser	Gly	Trp	Lys	Val	Ser	Leu	Asn	His	Asn	Glu	Ile	Ile	
945					950					955					960	
Trp	Thr	Leu	Gln	Asp	Asn	Ser	Gly	Ile	Asn	Gln	Lys	Leu	Ala	Phe	Asn	
				965					970					975		
Tyr	Gly	Asn	Ala	Asn	Gly	Ile	Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Lys	Trp	Ile	Phe	
		980						985					990			
Val	Thr	Ile	Thr	Asn	Asp	Arg	Leu	Gly	Asp	Ser	Lys	Leu	Tyr	Ile	Asn	
	995						1000					1005				
Gly	Asn	Leu	Ile	Asp	Lys	Lys	Ser	Ile	Leu	Asn	Leu	Gly	Asn	Ile	His	
	1010					1015					1020					
Val	Ser	Asp	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Ile	Val	Asn	Cys	Ser	Tyr	Thr	Arg	
1025					1030					1035					1040	
Tyr	Ile	Gly	Ile	Arg	Tyr	Phe	Asn	Ile	Phe	Asp	Lys	Glu	Leu	Asp	Glu	
				1045					1050					1055		
Thr	Glu	Ile	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asn	Asn	Glu	Pro	Asn	Ala	Asn	Ile	Leu	
			1060					1065					1070			
Lys	Asp	Phe	Trp	Gly	Asn	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Asp	Lys	Glu	Tyr	Tyr	Leu	
	1075						1080					1085				
Leu	Asn	Val	Leu	Lys	Pro	Asn	Asn	Phe	Ile	Asn	Arg	Thr	Asp	Ser		
	1090					1095					1100					
Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Asn	Ile	Arg	Ser	Thr	Ile	Leu	Leu	Ala	Asn	Arg	
1105					1110					1115					1120	
Leu	Tyr	Ser	Gly	Ile	Lys	Val	Lys	Ile	Gln	Arg	Val	Asn	Asn	Ser	Ser	
				1125					1130					1135		
Thr	Asn	Asp	Asn	Leu	Val	Arg	Lys	Asn	Asp	Gln	Val	Tyr	Ile	Asn	Phe	
		1140						1145					1150			
Val	Ala	Ser	Lys	Thr	His	Leu	Leu	Pro	Leu	Tyr	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	
	1155						1160					1165				
Thr	Asn	Lys	Glu	Lys	Thr	Ile	Lys	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Asn</			

<210> 25
<211> 1251
<212> PRT
<213> Clostridium butyricum 2

<400> 25

Met	Pro	Lys	Ile	Asn	Ser	Phe	Asn	Tyr	Asn	Asp	Pro	Val	Asn	Asp	Arg
1				5					10					15	
Thr	Ile	Leu	Tyr	Ile	Lys	Pro	Gly	Gly	Cys	Gln	Glu	Phe	Tyr	Lys	Ser
			20					25						30	

Phe Asn Ile Met Lys Asn Ile Trp Ile Ile Pro Glu Arg Asn Val Ile
 35 40 45
 Gly Thr Thr Pro Gln Asp Phe His Pro Pro Thr Ser Leu Lys Asn Gly
 50 55 60
 Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Pro Asn Tyr Leu Gln Ser Asp Glu Glu Lys
 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Leu Lys Ile Val Thr Lys Ile Phe Asn Arg Ile Asn Asn
 85 90 95
 Asn Leu Ser Gly Gly Ile Leu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Ala Asn Pro
 100 105 110
 Tyr Leu Gly Asn Asp Asn Thr Pro Asp Asn Gln Phe His Ile Gly Asp
 115 120 125
 Ala Ser Ala Val Glu Ile Lys Phe Ser Asn Gly Ser Gln Asp Ile Leu
 130 135 140
 Leu Pro Asn Val Ile Ile Met Gly Ala Glu Pro Asp Leu Phe Glu Thr
 145 150 155 160
 Asn Ser Ser Asn Ile Ser Leu Arg Asn Asn Tyr Met Pro Ser Asn His
 165 170 175
 Gly Phe Gly Ser Ile Ala Ile Val Thr Phe Ser Pro Glu Tyr Ser Phe
 180 185 190
 Arg Phe Asn Asp Asn Ser Met Asn Glu Phe Ile Gln Asp Pro Ala Leu
 195 200 205
 Thr Leu Met His Glu Leu Ile His Ser Leu His Gly Leu Tyr Gly Ala
 210 215 220
 Lys Gly Ile Thr Thr Lys Tyr Thr Ile Thr Gln Lys Gln Asn Pro Leu
 225 230 235 240
 Ile Thr Asn Ile Arg Gly Thr Asn Ile Glu Glu Phe Leu Thr Phe Gly
 245 250 255
 Gly Thr Asp Leu Asn Ile Ile Thr Ser Ala Gln Ser Asn Asp Ile Tyr
 260 265 270
 Thr Asn Leu Leu Ala Asp Tyr Lys Lys Ile Ala Ser Lys Leu Ser Lys
 275 280 285
 Val Gln Val Ser Asn Pro Leu Leu Asn Pro Tyr Lys Asp Val Phe Glu
 290 295 300
 Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Lys Asp Ala Ser Gly Ile Tyr Ser Val Asn
 305 310 315 320
 Ile Asn Lys Phe Asn Asp Ile Phe Lys Lys Leu Tyr Ser Phe Thr Glu
 325 330 335
 Phe Asp Leu Ala Thr Lys Phe Gln Val Lys Cys Arg Gln Thr Tyr Ile
 340 345 350
 Gly Gln Tyr Lys Tyr Phe Lys Leu Ser Asn Leu Leu Asn Asp Ser Ile
 355 360 365
 Tyr Asn Ile Ser Glu Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Leu Lys Val Asn Phe
 370 375 380
 Arg Gly Gln Asn Ala Asn Leu Asn Pro Arg Ile Ile Thr Pro Ile Thr
 385 390 395 400
 Gly Arg Gly Leu Val Lys Lys Ile Ile Arg Phe Cys Lys Asn Ile Val
 405 410 415
 Ser Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys Ile Glu Ile Asn Asn Gly
 420 425 430
 Glu Leu Phe Phe Val Ala Ser Glu Asn Ser Tyr Asn Asp Asp Asn Ile
 435 440 445
 Asn Thr Pro Lys Glu Ile Asp Asp Thr Val Thr Ser Asn Asn Asn Tyr
 450 455 460
 Glu Asn Asp Leu Asp Gln Val Ile Leu Asn Phe Asn Ser Glu Ser Ala
 465 470 475 480
 Pro Gly Leu Ser Asp Glu Lys Leu Asn Leu Thr Ile Gln Asn Asp Ala
 485 490 495
 Tyr Ile Pro Lys Tyr Asp Ser Asn Gly Thr Ser Asp Ile Glu Gln His
 500 505 510
 Asp Val Asn Glu Leu Asn Val Phe Phe Tyr Leu Asp Ala Gln Lys Val
 515 520 525
 Pro Glu Gly Glu Asn Asn Val Asn Leu Thr Ser Ser Ile Asp Thr Ala
 530 535 540
 Leu Leu Glu Gln Pro Lys Ile Tyr Thr Phe Phe Ser Ser Glu Phe Ile

545	Asn	Asn	Val	Asn	Lys	Pro	Val	Gln	Ala	Ala	Leu	Phe	Val	Ser	Trp	Ile	560
				565						570						575	
Gln	Gln	Val	Leu	Val	Asp	Phe	Thr	Thr	Glu	Ala	Asn	Gln	Lys	Ser	Thr		
			580					585						590			
Val	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Ser	Ile	Val	Val	Pro	Tyr	Ile	Gly	Leu		
		595					600					605					
Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Glu	Ala	Gln	Lys	Gly	Asn	Phe	Lys	Asp	Ala		
	610					615					620						
Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Val	Pro	Glu	Leu		
625					630					635					640		
Leu	Ile	Pro	Thr	Ile	Leu	Val	Phe	Thr	Ile	Lys	Ser	Phe	Leu	Gly	Ser		
			645						650					655			
Ser	Asp	Asn	Lys	Asn	Lys	Val	Ile	Lys	Ala	Ile	Asn	Asn	Ala	Leu	Lys		
		660						665					670				
Glu	Arg	Asp	Glu	Lys	Trp	Lys	Glu	Val	Tyr	Ser	Phe	Ile	Val	Ser	Asn		
		675					680					685					
Trp	Met	Thr	Lys	Ile	Asn	Thr	Gln	Phe	Asn	Lys	Arg	Lys	Glu	Gln	Met		
	690				695						700						
Tyr	Gln	Ala	Leu	Gln	Asn	Gln	Val	Asn	Ala	Leu	Lys	Thr	Ile	Ile	Glu		
705					710					715					720		
Phe	Lys	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Thr	Leu	Glu	Glu	Lys	Lys	Glu	Leu	Lys	Asn		
			725					730					735				
Asn	Tyr	Asp	Ile	Glu	Gln	Ile	Glu	Asn	Glu	Leu	Asn	Gln	Lys	Val	Ser		
		740					745					750					
Ile	Ala	Met	Asn	Asn	Ile	Asp	Arg	Phe	Leu	Thr	Glu	Ser	Ser	Ile	Ser		
		755				760					765						
Tyr	Leu	Met	Lys	Leu	Ile	Asn	Glu	Val	Lys	Ile	Asn	Lys	Leu	Arg	Glu		
	770				775						780						
Tyr	Asp	Glu	Asn	Val	Lys	Thr	Tyr	Leu	Leu	Asp	Tyr	Ile	Ile	Gln	His		
785					790					795					800		
Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Glu	Ser	Gln	Gln	Glu	Leu	Asn	Ser	Met	Val	Ile		
			805						810					815			
Asp	Thr	Leu	Asn	Asn	Ser	Ile	Pro	Phe	Lys	Leu	Ser	Ser	Tyr	Thr	Asp		
		820					825						830				
Asp	Lys	Ile	Leu	Ile	Ser	Tyr	Phe	Asn	Lys	Phe	Phe	Lys	Arg	Ile	Lys		
		835				840					845						
Ser	Ser	Ser	Val	Leu	Asn	Met	Arg	Tyr	Lys	Asn	Asp	Lys	Tyr	Val	Asp		
	850				855					860							
Thr	Ser	Gly	Tyr	Asp	Ser	Asn	Ile	Asn	Ile	Asn	Gly	Glu	Ile	Phe	Ile		
865					870					875					880		
Tyr	Pro	Thr	Asn	Lys	Asn	Gln	Phe	Thr	Ile	Phe	Asn	Ser	Lys	Pro	Ser		
			885					890					895				
Glu	Val	Asn	Ile	Ser	Gln	Asn	Asp	Tyr	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asn	Lys	Tyr		
		900					905					910					
Lys	Asn	Phe	Ser	Ile	Ser	Phe	Trp	Val	Arg	Ile	Pro	Asn	Tyr	Asp	Asn		
	915					920					925						
Lys	Ile	Val	Asn	Ile	Asn	Asn	Glu	Tyr	Thr	Ile	Ile	Asn	Cys	Met	Arg		
	930				935					940							
Asp	Asn	Asn	Ser	Gly	Trp	Lys	Val	Ser	Leu	Asn	His	Asn	Glu	Ile	Ile		
945				950						955					960		
Trp	Thr	Leu	Gln	Asp	Asn	Ala	Arg	Ile	Asn	Gln	Lys	Leu	Val	Phe	Lys		
			965					970						975			
Tyr	Gly	Asn	Ala	Asn	Gly	Ile	Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Lys	Trp	Ile	Phe		
		980					985						990				
Val	Thr	Ile	Thr	Asn	Asp	Arg	Leu	Gly	Asp	Ser	Lys	Leu	Tyr	Ile	Asn		
		995				1000					1005						
Gly	His	Leu	Ile	Asp	Gln	Lys	Ser	Ile	Leu	Asn	Leu	Gly	Asn	Ile	His		
	1010				1015						1020						
Val	Ser	Asp	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Ile	Val	Asn	Cys	Ser	Tyr	Thr	Arg		
1025				1030					1035						1040		
Tyr	Ile	Gly	Ile	Arg	Tyr	Phe	Asn	Ile	Phe	Asp	Lys	Glu	Leu	Asp	Glu		
			1045					1050						1055			
Thr	Glu	Ile	Gln	Thr	Leu	Tyr	Ser	Asn	Glu	Pro	Asn	Thr	Asn	Ile	Leu		
			1060				1065						1070				

ES 2 813 650 T3

Lys Asp Phe Trp Gly Asn Tyr Leu Leu Tyr Asp Lys Gly Tyr Tyr Leu
 1075 1080 1085
 Leu Asn Val Leu Lys Pro Asn Asn Phe Ile Asp Arg Arg Lys Asp Ser
 1090 1095 1100
 Thr Leu Ser Ile Asn Asn Ile Arg Ser Thr Ile Leu Leu Ala Asn Arg
 1105 1110 1115 1120
 Leu Tyr Ser Gly Ile Lys Val Lys Ile Gln Arg Val Asn Asp Ser Ser
 1125 1130 1135
 Thr Asn Asp Arg Phe Val Arg Lys Asn Asp Gln Val Tyr Ile Asn Tyr
 1140 1145 1150
 Ile Ser Asn Ser Ser Ser Tyr Ser Leu Tyr Ala Asp Thr Asn Thr Thr
 1155 1160 1165
 Asp Lys Glu Lys Thr Ile Lys Ser Ser Ser Ser Gly Asn Arg Phe Asn
 1170 1175 1180
 Gln Val Val Val Met Asn Ser Val Gly Asn Asn Cys Thr Met Asn Phe
 1185 1190 1195 1200
 Lys Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ile Gly Leu Leu Gly Phe Lys Ala Asp
 1205 1210 1215
 Thr Val Val Ala Ser Thr Trp Tyr Tyr Thr His Met Arg Asp His Thr
 1220 1225 1230
 Asn Ser Asn Gly Cys Phe Trp Asn Phe Ile Ser Glu Glu His Gly Trp
 1235 1240 1245
 Gln Glu Lys
 1250

<210> 26

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Tyr Gly Gly Phe Leu
 1 5

10

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 27

Tyr Gly Gly Phe Met
 1 5

20

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 28

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Gly Leu
 1 5

30

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35 <400> 29

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Phe
 1 5

40

<210> 30

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Val Gly Arg Pro Glu Trp Trp Met Asp
1 5 10 15
Tyr Gln Lys Arg Tyr Gly
5 20

<210> 31
<211> 22
<212> PRT
10 <213> Necturus maculosus

<400> 31

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Val Gly Arg Pro Glu Trp Trp Leu Asp
1 5 10 15
Tyr Gln Lys Arg Tyr Gly
15 20

<210> 32
<211> 22
<212> PRT
20 <213> Bombina orientalis

<400> 32

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Val Gly Arg Pro Glu Trp Trp Gln Asp
1 5 10 15
Tyr Gln Lys Arg Tyr Gly
20

25 <210> 33
<211> 22
<212> PRT
<213> Xenopus laevis

30 <400> 33

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Val Gly Arg Pro Glu Trp Trp Glu Asp
1 5 10 15
Tyr Gln Lys Arg Tyr Gly
20

35 <210> 34
<211> 22
<212> PRT
<213> Neoceratodus forsteri

40 <400> 34

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Val Gly Arg Pro Glu Trp Lys Leu Asp
1 5 10 15
Asn Gln Lys Arg Tyr Gly
20

45 <210> 35
<211> 21
<212> PRT
<213> Danio rerio

<400> 35

Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Val Gly Arg Pro Asp Trp Trp Gln Glu
1 5 10 15
Ser Lys Arg Tyr Gly
50 20

<210> 36
 <211> 4
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 36

 Tyr Pro Trp Phe
 1
 10
 <210> 37
 <211> 4
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 37

 Tyr Pro Phe Phe
 1
 20
 <210> 38
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 38

 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr
 1 5 10 15
 30
 <210> 39
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 39
 35
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Lys Tyr Pro Lys
 1 5 10

 <210> 40
 <211> 31
 40 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 40

 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr
 1 5 10 15
 45 Leu Phe Lys Asn Ala Ile Ile Lys Asn Ala Tyr Lys Lys Gly Glu
 20 25 30

 <210> 41
 <211> 31
 <212> PRT
 50 <213> Homo sapiens

 <400> 41

 Tyr Gly Gly Phe Met Ser Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr
 1 5 10 15
 55 Leu Phe Lys Asn Ala Ile Ile Lys Asn Ala His Lys Lys Gly Gln
 20 25 30

 <210> 42
 <211> 9

ES 2 813 650 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 42
 5 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Lys Tyr Pro
 1 5
 <210> 43
 <211> 16
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 43
 15 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr
 1 5 10 15
 <210> 44
 <211> 16
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 44
 25 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Lys Trp Asp Asn
 1 5 10 15
 <210> 45
 <211> 13
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 45
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Lys
 1 5 10
 35 <210> 46
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 46
 Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Lys Trp Asp Asn Gln
 1 5 10 15
 <210> 47
 45 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 47
 50 Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Lys
 1 5 10
 <210> 48
 <211> 17
 55 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis
 <400> 48


```

-----
  Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Arg Trp Asp Asn
   1           5           10           15
  Gln

<210> 49
<211> 17
5  <212> PRT
   <213> Xenopus laevis

<400> 49

  Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Arg Leu Arg Trp Asp Asn
   1           5           10           15
10  Gln

<210> 50
<211> 17
   <212> PRT
15  <213> Protopterus annectens

<400> 50

  Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Ile Arg Pro Lys Ile Arg Trp Asp Asn
   1           5           10           15
20  Gln

<210> 51
<211> 17
   <212> PRT
25  <213> Danio rerio

<400> 51

  Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Arg Trp Asp Asn
   1           5           10           15
30  Gln

<210> 52
<211> 17
   <212> PRT
   <213> Anguilla rostrata

35  <400> 52

  Tyr Gly Gly Phe Met Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Lys Trp Asp Ser
   1           5           10           15
40  Gln

<210> 53
<211> 29
   <212> PRT
   <213> Homo sapiens

45  <400> 53

  Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
   1           5           10           15
  Glu Asp Pro Asn Ala Tyr Ser Gly Glu Leu Phe Asp Ala
        20           25

<210> 54
<211> 28
50  <212> PRT
   <213> Rattus norvegicus

<400> 54

```

ES 2 813 650 T3

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Asn Pro Asn Thr Tyr Ser Glu Asp Leu Asp Val
 20 25

<210> 55
 <211> 28
 5 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 55

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Ser Pro Asn Thr Tyr Ser Glu Asp Leu Asp Val
 10 20 25

<210> 56
 <211> 29
 15 <212> PRT
 <213> Cavia porcellus

<400> 56

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Asn Ala Tyr Ser Glu Glu Phe Phe Asp Val
 20 25

20 <210> 57
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

25 <400> 57

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Asn Ala Tyr Tyr Glu Glu Leu Phe Asp Val
 20 25

30 <210> 58
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Canis familiaris

35 <400> 58

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Asn Ala Tyr Ser Gly Glu Leu Leu Asp Gly
 20 25

40 <210> 59
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

45 <400> 59

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Ser Ala Tyr Tyr Glu Glu Leu Phe Asp Val
 20 25

50 <210> 60
 <211> 29

ES 2 813 650 T3

<212> PRT
 <213> Bufo marinus
 <400> 60
 5 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Thr Thr Arg Ser Glu
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Ser Thr Phe Ser Gly Glu Leu Ser Asn Leu
 20 25
 <210> 61
 <211> 29
 10 <212> PRT
 <213> Bombina orientalis
 <400> 61
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Thr Thr Arg Ser Glu
 1 5 10 15
 Glu Glu Pro Gly Ser Phe Ser Gly Glu Ile Ser Asn Leu
 15 20 25
 <210> 62
 <211> 29
 <212> PRT
 20 <213> Xenopus laevis
 <400> 62
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Asn Ala Arg Ser Glu
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Thr Met Phe Ser Asp Glu Leu Ser Tyr Leu
 20 25
 25 <210> 63
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis
 30 <400> 63
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Asn Ala Arg Ser Glu
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Thr Met Phe Ser Gly Glu Leu Ser Tyr Leu
 20 25
 35 <210> 64
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Polypterus senegalus
 40 <400> 64
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Phe Lys Ile Ser Val Arg Ser Asp
 1 5 10 15
 Glu Glu Pro Ser Ser Tyr Ser Asp Glu Val Leu Glu Leu
 20 25
 <210> 65
 45 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Danio rerio
 <400> 65
 50

ES 2 813 650 T3

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Phe Lys Ile Ser Val Arg Ser Asp
 1 5 10 15
 Glu Glu Pro Ser Ser Tyr Glu Asp Tyr Ala Leu
 20 25
 <210> 66
 <211> 27
 5 <212> PRT
 <213> Anguilla rostrata
 <400> 66
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Phe Lys Ile Ser Val Arg Ser Asp
 1 5 10 15
 Glu Glu Pro Gly Ser Tyr Asp Val Ile Gly Leu
 20 25
 10 <210> 67
 <211> 29
 <212> PRT
 15 <213> Neoceratodus forsteri
 <400> 67
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Phe Lys Ile Thr Val Arg Ser Asp
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Ser Pro Tyr Leu Asp Glu Phe Ser Asp Leu
 20 25
 20 <210> 68
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Oncorhynchus masou
 25 <400> 68
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Tyr Lys Leu Ser Val Arg Ser Asp
 1 5 10 15
 Glu Glu Pro Ser Ser Tyr Asp Asp Phe Gly Leu
 20 25
 30 <210> 69
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 69
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr
 1 5 10
 <210> 70
 40 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bufo marinus
 <400> 70
 45 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Thr Thr
 1 5 10
 <210> 71
 <211> 13
 50 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis
 <400> 71

ES 2 813 650 T3

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Asn Ala
 1 5 10
 <210> 72
 <211> 13
 5 <212> PRT
 <213> Polypterus senegalus
 <400> 72
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Phe Lys Ile Ser Val
 10 1 5 10
 <210> 73
 <211> 13
 <212> PRT
 15 <213> Neoceratodus forsteri
 <400> 73
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Phe Lys Ile Thr Val
 20 1 5 10
 <210> 74
 <211> 13
 <212> PRT
 25 <213> Oncorhynchus masou
 <400> 74
 Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg His Tyr Lys Leu Ser Val
 1 5 10
 30 <210> 75
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 75
 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Ser Ala Arg Lys Arg Lys Asn
 1 5 10 15
 Gln
 40 <210> 76
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 76
 45 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Ser Ala Arg Lys Leu Ala Asn
 1 5 10 15
 Gln
 <210> 77
 <211> 17
 50 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 77
 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Ser Ala Arg Lys Tyr Ala Asn
 1 5 10 15
 55 Gln
 <210> 78

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 78
 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Ser Ala
 1 5 10
 <210> 79
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 79
 15 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Tyr Ala
 1 5 10
 <210> 80
 <211> 11
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 80
 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Ser Tyr
 25 1 5 10
 <210> 81
 <211> 13
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 81
 Phe Gly Gly Phe Thr Gly Ala Arg Lys Ser Ala Arg Lys
 35 1 5 10
 <210> 82
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 82
 Met Pro Arg Val Arg Ser Leu Phe Gln Glu Gln Glu Glu Pro Glu Pro
 1 5 10 15
 Gly Met Glu Glu Ala Gly Glu Met Glu Gln Lys Gln Leu Gln
 20 25 30
 45 <210> 83
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 83
 Phe Ser Glu Phe Met Arg Gln Tyr Leu Val Leu Ser Met Gln Ser Ser
 1 5 10 15
 Gln
 55 <210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 84

Thr Leu His Gln Asn Gly Asn Val
1 5

5 <210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 85

Leu Val Val Tyr Pro Trp Thr Gln Arg Phe
1 5 10

15 <210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 86

Val Val Tyr Pro Trp Thr Gln Arg Phe
1 5

25 <210> 87
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 87

Val Tyr Pro Trp Thr Gln Arg Phe
1 5

30 <210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 88

Tyr Pro Trp Thr Gln Arg Phe
1 5

40 <210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 89

Leu Val Val Tyr Pro Trp Thr Gln Arg
1 5

50 <210> 90
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 90

Leu Val Val Tyr Pro Trp Thr Gln
1 5

60 <210> 91
<211> 7

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 91

5 Val Val Tyr Pro Trp Thr Gln
 1 5

<210> 92
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 92

15 Leu Val Val Tyr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 93
 <211> 6
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 93

25 Leu Val Val Tyr Pro Trp
 1 5

<210> 94
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30 <400> 94

Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Pro His Ala Val
 1 5 10 15
 Gly Asn His Arg Ser Phe Ser Asp Lys Asn Gly Leu Thr Ser
 20 25 30

35 <210> 95
 <211> 59
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 95

Glu Leu Arg Pro Glu Asp Asp Met Lys Pro Gly Ser Phe Asp Arg Ser
 1 5 10 15
 Ile Pro Glu Asn Asn Ile Met Arg Thr Ile Ile Glu Phe Leu Ser Phe
 20 25 30
 Leu His Leu Lys Glu Ala Gly Ala Leu Asp Arg Leu Leu Asp Leu Pro
 35 40 45
 Ala Ala Ala Ser Ser Glu Asp Ile Glu Arg Ser
 50 55

<210> 96
 45 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 96

50 Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met
 1 5 10

<210> 97

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 97
 Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Gly
 1 5 10
 <210> 98
 10 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 98
 15 Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Gly Lys
 1 5 10
 <210> 99
 <211> 14
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 99
 Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Gly Lys Arg
 25 1 5 10
 <210> 100
 <211> 36
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 100
 Asp Ala Asp Ser Ser Ile Glu Lys Gln Val Ala Leu Leu Lys Ala Leu
 1 5 10 15
 Tyr Gly His Gly Gln Ile Ser His Lys Arg His Lys Thr Asp Ser Phe
 20 25 30
 Val Gly Leu Met
 35 35
 <210> 101
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 101
 Gly His Gly Gln Ile Ser His Lys Arg His Lys Thr Asp Ser Phe Val
 1 5 10 15
 Gly Leu Met
 45 <210> 102
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 102
 His Lys Thr Asp Ser Phe Val Gly Leu Met
 1 5 10
 <210> 103
 55 <211> 10
 <212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 103

Asp Met His Asp Phe Phe Val Gly Leu Met
1 5 10

5

<210> 104

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 104

Ser Arg Thr Arg Gln Phe Tyr Gly Leu Met
1 5 10

15

<210> 105

$\langle 211 \rangle$ 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 105

Gly Lys Ala Ser Gln Phe Phe Gly Leu Met
1 5 10

25

<210> 106

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 106

Lys Lys Ala Tyr Gln Leu Glu His Thr Phe Gln Gly Leu Leu
1 5 10

<210> 107

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Val Gly Ala Tyr Gln Leu Glu His Thr Phe Gln Gly Leu Leu
1 5 10

<210> 108

<211> 36

<212> PRT

45 <213> Homo sapiens

<400> 108

[illegible]

50

<210> 109

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

55

<400> 109

Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu
 1 5 10 15
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr
 20 25 30
 Arg Gln Arg Tyr
 35

<210> 110
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 110

Glu Pro Val Tyr Pro Gly Asp Asn Ala Thr Pro Glu Gln Met Ala Gln
 1 5 10 15
 Tyr Ala Ala Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Met Leu Thr Arg Pro Arg
 20 25 30
 Tyr

<210> 111
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 111

Ala Pro Leu Glu Pro Val Tyr Pro Gly Asp Asn Ala Thr Pro Glu Gln
 1 5 10 15
 Met Ala Gln Tyr Ala Ala Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Met Leu Thr
 20 25 30
 Arg Pro Arg Tyr
 35

<210> 112
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 112

His Lys Glu Asp Thr Leu Ala Phe Ser Glu Trp Gly Ser Pro His Ala
 1 5 10 15
 Ala Val Pro Arg
 20

<210> 113
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de la Trombina

<221> VARIANTE

<222> 1
 <223> La posición 1 es S, T, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido hidrofóbico aromático como F, W, e Y, un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE

<222> 2, 6, 7, 8
 <223> Las posiciones 1, 6, 7, y 8, son independientemente cualquier aminoácido

<221> VARIANTE

<222> 3
 <223> La posición 3 es F, S, T, un aminoácido amídico como N o Q, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es K o R
 5
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 es S, T, un aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 10
 <400> 113

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 15
 <210> 114
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 114

Leu Val Pro Arg Gly Ser
 1 5
 25
 <210> 115
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 115

Leu Val Pro Lys Gly Ser
 1 5
 35
 <210> 116
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 116

Phe Ile Pro Arg Thr Phe
 1 5
 50
 <210> 117
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 117
 60
Val Leu Pro Arg Ser Phe
 1 5

<210> 118
 <211> 6
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 10 <400> 118

Ile Val Pro Arg Ser Phe
1 5

 <210> 119
 15 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 119

Ile Val Pro Arg Gly Tyr
1 5
 25
 <210> 120
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 120
 35
Val Val Pro Arg Gly Val
1 5

 <210> 121
 <211> 6
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina
 45
 <400> 121

Val Leu Pro Arg Leu Ile
1 5

 50 <210> 122
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina

 <400> 122

Val Met Pro Arg Ser Leu
 60 **1 5**

<210> 123
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la trombina
 <400> 123
 10
Met Phe Pro Arg Ser Leu
 1 5
 <210> 124
 <211> 8
 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación
 20
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> La posición 1 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 25
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> La posición 2 es Q, S, T, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 30
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> La posición 3 es Q, S, T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 35
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es K o R
 <221> VARIANTE
 40
 <222> 5, 6, 7 8
 <223> Las posiciones 5, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido
 <400> 124
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 45
 1 5
 <210> 125
 <211> 8
 <212> PRT
 50
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación
 55
 <400> 125
Lys Leu Thr Arg Ala Glu Thr Val
 1 5
 <210> 126
 <211> 8
 60
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación

 <400> 126
 5 **Asp Phe Thr Arg Val Val Gly Gly**
 1 5

 <210> 127
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación
 15 <400> 127

 Leu Ser Pro Arg Thr Phe His Pro
 1 5
 20 <210> 128
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación

 <400> 128

 Leu Ile Gln Arg Asn Leu Ser Pro
 30 1 5

 <210> 129
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación
 40 <400> 129

 Met Ala Thr Arg Lys Met His Asp
 1 5

 <210> 130
 45 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación

 <400> 130

 Leu Gly Ile Arg Ser Phe Arg Asn
 1 5
 55 <210> 131
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación

<400> 131

Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly
1 5

5 <210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación

15 <400> 132

Asn Leu Thr Arg Ile Val Gly Gly
1 5

20 <210> 133
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor VIIa de Coagulación

<400> 133

Gln Val Val Arg Ile Val Gly Gly
1 5

30 <210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión del Factor IXa de Coagulación

<221> VARIANTE
<222> 1

40 <223> La posición 1 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
<222> 2

45 <223> La posición 2 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
<222> 3

50 <223> La posición 3 es, S, T, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
<222> 4

55 <223> La posición 4 es K o R

<221> VARIANTE
<222> 5, 6, 7, 8
<223> Las posiciones 5, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido

60 <400> 134

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 135
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión del Factor IXa de Coagulación
 10 <400> 135

Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly
1 5

15 <210> 136
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor IXa de Coagulación
 <400> 136

Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn
 25 **1 5**

<210> 137
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión del Factor IXa de Coagulación

35 <400> 137

Asn Leu Thr Arg Ile Val Gly Gly
1 5

40 <210> 138
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 45 <223> Sitio de escisión del Factor IXa de Coagulación
 <400> 138

Gln Val Val Arg Ile Val Gly Gly
1 5

50 <210> 139
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

<221> VARIANTE
 60 <222> 1, 6, 7, 8
 <223> Las posiciones 1, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido

<221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> La posición 2 es G, A, S, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, o un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y
 5
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> La posición 3 es un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 10
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es K o R
 15
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 20
 <400> 139
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 25 <210> 140
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación
 <400> 140
 Ile Asp Gly Arg
 35 1
 <210> 141
 <211> 4
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación
 45 <400> 141
 Ile Glu Gly Arg
 1
 <210> 142
 50 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación
 <400> 142
 Ile Asp Gly Arg Ser Val Gly Gly
 1 5
 60 <210> 143
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

 <400> 143

 Ile Asp Gly Arg Thr Val Gly Gly
 1 5
 10
 <210> 144
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

 <400> 144
 20
 Ile Asp Gly Arg Ile Val Gly Gly
 1 5

 <210> 145
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación
 30
 <400> 145

 Ile Glu Gly Arg Ser Val Gly Gly
 1 5
 35
 <210> 146
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

 <400> 146

 Ile Glu Gly Arg Thr Val Gly Gly
 45 1 5

 <210> 147
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

 <400> 147
 55

 Ile Glu Gly Arg Ile Val Gly Gly
 1 5

 <210> 148
 60 <211> 8
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

5 <400> 148

Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly
1 5

10 <210> 149
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

<400> 149

Ile Glu Gly Arg Thr Ser Glu Asp
20 1 5

<210> 150
<211> 8
<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

30 <400> 150

Ile Glu Gly Arg Ile Val Glu Gly
1 5

<210> 151
<211> 8
<212> PRT

35 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

40 <400> 151

Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly
1 5

45 <210> 152
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

<400> 152

55 **Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser**
1 5

<210> 153
<211> 8
<212> PRT

60 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

5 <400> 153

Phe Asp Glu Arg Thr Phe Gly Leu
1 5

<210> 154
10 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
15 <223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

<400> 154

Ile Asp Glu Arg Ile Val Gly Gly
1 5

20 <210> 155
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor Xa de Coagulación

<400> 155

30 **Phe Asn Glu Lys Thr Phe Gly Leu**
1 5

<210> 156
35 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
40 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión del Factor Xla de Coagulación

<221> VARIANTE
<222> 1
<223> La posición 1 es un aminoácido ácido como D o E, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

45 <221> VARIANTE
<222> 2
<223> La posición 2 es un aminoácido ácido como D o E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

50 <221> VARIANTE
<222> 3
<223> La posición 3 es H, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

55 <221> VARIANTE
<222> 4
<223> La posición 4 es K o R

60 <221> VARIANTE
<222> 5, 8

- <223> Las posiciones 5 y 6 son independientemente H, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- 5 <221> VARIANTE
<222> (6)...(6)
<223> La posición 6 es un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- 10 <221> VARIANTE
<222> (7)...(7)
<223> La posición 7 es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- 15 <400> 156
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
- 20 <210> 157
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- 25 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
- 30 <400> 157
Ala Phe Trp Lys Thr Asp Ala Ser
1 5
- 35 <210> 158
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- 40 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
- 45 <400> 158
Lys Leu Thr Arg Ala Glu Thr Val
1 5
- 50 <210> 159
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- 55 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
- 60 <400> 159
Lys Leu Thr Arg Ala Glu Thr Ile
1 5
- 65 <210> 160
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- 70 <220>
<223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
- 75 <400> 160

Asp Phe Thr Arg Val Val Gly Gly
 1 5

5 <210> 161
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
 <400> 161

Glu Phe Ser Arg Val Val Gly Gly
 1 5

15 <210> 162
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
 <400> 162

25 **Lys Leu Thr Arg Ala Glu Thr Val**
 1 5

30 <210> 163
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
 <400> 163

Asp Phe Thr Arg Val Val Gly Gly
 1 5

40 <210> 164
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación
 <400> 164

Ile Lys Pro Arg Ile Val Gly Gly
 1 5

50 <210> 165
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIa de Coagulación

60 <400> 165

Asp Leu His Arg His Ile Phe Trp
 1 5
 <210> 166
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xla de Coagulación
 10 <400> 166
Lys Gln Leu Arg Val Val Asn Gly
 1 5
 15 <210> 167
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión del Factor Xlla de Coagulación
 <221> VARIANTE
 <222> 1, 6
 25 <223> Las posiciones 1 y 6 son independientemente un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 30 <223> La posición 2 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 35 <223> La posición 3 es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 40 <223> La posición 4 es K o R
 <221> VARIANTE
 <222> 5, 7, 8
 <223> La posición 5, 7 y 8 son independientemente un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 45 <400> 167
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 50 <210> 168
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor Xlla de Coagulación
 <400> 168
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly
 1 5
 60

<210> 169
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIIa de Coagulación
 <400> 169
 10
 Ile Lys Pro Arg Ile Val Gly Gly
 1 5
 <210> 170
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIIa de Coagulación
 20 <400> 170
 Ser Met Thr Arg Val Val Gly Gly
 1 5
 25 <210> 171
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIIa de Coagulación
 <400> 171
 Thr Ser Thr Arg Ile Val Gly Gly
 1 5
 35 <210> 172
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión del Factor XIIa de Coagulación
 45 <400> 172
 Pro Met Lys Arg Leu Thr Leu Gly
 1 5
 50 <210> 173
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de Calicreína 1
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 60 <223> La posición 1 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido sin
 cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 2, 3, 6, 7, 8
 <223> La posición 2, 3, 6, 7 y 8 son independientemente cualquier aminoácido

5

<221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido grande no polar como F, I, L, M y V, o un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y

10

<221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 es S, K, o R

15

<400> 173

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 174
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20

<220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

25

<400> 174

Ser Met Thr Arg Val Val Gly Gly
1 5

30

<210> 175
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

40

<400> 175

Ser Pro Phe Arg Ser Ser Asp Ile
1 5

<210> 176
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45

<220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

50

<400> 176

Ser Leu Met Lys Arg Pro Pro Gly
1 5

55

<210> 177
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

<220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 177

Tyr Asp Trp Arg Thr Pro Tyr Leu
1 5

5 <210> 178
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 178

Ser Pro Phe Arg Ser Val Gln Val
15 1 5

<210> 179
<211> 8
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Calicreína 1

25 <400> 179

Ser Pro Phe Arg Thr Pro Tyr Leu
1 5

<210> 180
30 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 180

Thr Phe His Lys Ala Glu Tyr Arg
40 1 5

<210> 181
<211> 8
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 181

50 **Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly**
1 5

<210> 182
<211> 8
55 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Calicreína 1

60 <400> 182

Ile Ser Leu Met Lys Arg Pro Pro
1 5

5 <210> 183
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 10 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 183

Leu Glu Ala Arg Ser Ala Tyr His
1 5

15 <210> 184
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 184

25 **Glu Ala Lys Arg Ser Tyr His Ser**
1 5

<210> 185
 <211> 8
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

35 <400> 185

Pro Asn Arg Trp Ser Thr Gly Ala
1 5

40 <210> 186
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

<400> 186

Glu Ala Phe Tyr Ser Gln Phe Gly
1 5

50 <210> 187
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1

60 <400> 187

Asn Ala Ala Arg Ser Thr Gly Ala
 1 5
 <210> 188
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 10 <400> 188
Ser Ser Glu Trp Ser Met Pro Tyr
 1 5
 15 <210> 189
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 <400> 189
Gly Thr Leu Phe Arg Ser Gly Asn
 1 5
 25 <210> 190
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 35 <400> 190
Ala Arg Leu Tyr Ser Arg Gly Ala
 1 5
 40 <210> 191
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 <400> 191
Glu Ala Ser Arg Ser Ala Thr Leu
 1 5
 50 <210> 192
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 <400> 192
 60

Glu Ala Ser Tyr Arg Arg Lys Gln
 1 5
 <210> 193
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 10 <400> 193
Thr Thr Phe Tyr Arg Arg Gly Ala
 1 5
 15 <210> 194
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 <400> 194
Ala Ala Trp Tyr Arg Thr Ser Arg
 1 5
 25 <210> 195
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 35 <400> 195
Ser Phe His Tyr Arg Met Val Gly
 1 5
 40 <210> 196
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 <400> 196
Ala Ser Ser Tyr Arg Thr Ser Arg
 1 5
 50 <210> 197
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 <400> 197
 60

Thr Arg Phe Tyr Ser Arg Gly Arg
1 5
 5 <210> 198
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Calicreína 1
 10 <400> 198
Ile Lys Phe Phe Ser Ala Gln Thr
1 5
 15 <210> 199
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de la Proteína C
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 25 <223> La posición 1 es un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 30 <223> La posición 2 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 3, 5
 35 <223> Las posiciones 3 y 5 es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 40 <223> La posición 4 es K o R
 <221> VARIANTE
 <222> 6
 45 <223> La posición 6 es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> (7)...(7)
 50 <223> La posición 7 es un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W e Y
 <221> VARIANTE
 <222> (8)...(8)
 55 <223> La posición 8 es un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como Q y N, un aminoácido básico como K y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <400> 199
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
 60 <210> 200
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 5 <400> 200
 Lys Lys Thr Arg Asn Leu Lys Lys
 1 5
 10 <210> 201
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 201
 Leu Asp Arg Arg Gly Leu Gln Arg
 20 1 5
 <210> 202
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 30 <400> 202
 Met Ala Thr Arg Lys Met His Asp
 1 5
 35 <210> 203
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 203
 Arg Leu Lys Lys Ser Gln Phe Leu
 45 1 5
 <210> 204
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 204
 55 Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn
 1 5
 <210> 205
 <211> 8
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C

5 <400> 205
 Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile
 1 5

10 <210> 206
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 206
 Ile Glu Pro Arg Ser Pro Ser Gln
 1 5

20 <210> 207
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 207
 Lys Lys Thr Arg Ser Pro Lys Thr
 1 5

30 <210> 208
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 208
 Leu Asp Gln Arg Gly Val Gln Arg
 1 5

40 <210> 209
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de la Proteína C
 <400> 209
 Pro Asp Pro Arg Ser Lys Asn Asn
 1 5

50 <210> 210
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <210> 210
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

- <220>
<223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión del Plasminógeno
- 5 <221> VARIANTE
<222> 1, 5, 6
<223> Las posiciones 1, 5, y 6 son independientemente un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- 10 <221> VARIANTE
<222> 2
<223> La posición 3 es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- 15 <221> VARIANTE
<222> 3
<223> La posición 3 es un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, un aminoácido aromático como F, W e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- 20 <221> VARIANTE
<222> 4
<223> La posición 4 es K o R
- 25 <221> VARIANTE
<222> 7
<223> La posición 7 es cualquier aminoácido
- 30 <221> VARIANTE
<222> (8)...(8)
<223> La posición 8 es H, F, Y, R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
- <400> 210
- 35 **Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
1 5
- <210> 211
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- 40 <220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno
- 45 <400> 211
- Gly Glu Ala Arg Gly Ser Val Ile**
1 5
- <210> 212
<211> 8
<212> PRT
- 50 <213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno
- 55 <400> 212
- Gly His Ala Arg Leu Val His Val**
1 5
- 60 <210> 213
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 213
 5 **Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly**
 1 5
 <210> 214
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 15 <400> 214
 His His Gln Lys Leu Val Phe Phe
 1 5
 20 <210> 215
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 215
 Gly Ser Asn Lys Gly Ala Leu Leu
 30 1 5
 <210> 216
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 40 <400> 216
 Arg Ala Gln Arg Ser Ala Gly Ala
 1 5
 <210> 217
 45 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 50 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 217
 Ala Phe Trp Lys Thr Asp Ala Ser
 55 1 5
 <210> 218
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>

<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 218

Met Ser Met Arg Val Arg Arg His

5 1 5

<210> 219

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

15 <400> 219

Arg Gly Val Arg Arg Thr Ala Ser

 1 5

<210> 220

20 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 220

Arg Ala Ala Arg Ser Gln Cys Thr

 1 5

30 <210> 221

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35 <220>

<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 221

40 <210> 222

Pro Gln Ser Arg Ser Val Pro Pro

 1 5

<211> 8

45 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

50 <400> 222

Pro Tyr Leu Lys Val Phe Asn Pro

 1 5

55 <210> 223

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

60 <220>

<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 223

Leu Ser Phe Arg Ala Arg Ala Tyr
1 5

5 <210> 224
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 224

15 **Pro Gln Leu Arg Arg Gly Trp Arg**
1 5

<210> 225
<211> 8
20 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

25 <400> 225

Glu Asp Asn Arg Asp Ser Ser Met
1 5

30 <210> 226
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 226

Leu Ser Phe Arg Ala Arg Ala Tyr
40 1 5

<210> 227
<211> 8
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

50 <400> 227

Phe Arg Ala Arg Ala Tyr Gly Phe
1 5

<210> 228
55 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 228

Tyr Gly Phe Arg Gly Pro Gly Pro
1 5

5 <210> 229
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 229

Ile Thr Phe Arg Met Asn Val Ala
15 1 5

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

25 <400> 230

Thr His Glu Lys Gly Arg Gln Ser
1 5

<210> 231
30 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 231

Pro Arg Leu Lys Ala Arg Ala Gly
40 1 5

<210> 232
<211> 8
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 232

50 **Pro Lys Ala Lys Ser His Ala Pro**
1 5

<210> 233
55 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno

<400> 233

Pro Ser His Lys Glu Gly Pro Gln
1 5

5 <210> 234
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 234

Leu Phe Glu Lys Lys Val Tyr Leu
1 5

15 <210> 235
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 235

25 **Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser**
1 5

30 <210> 236
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 236

Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly
1 5

40 <210> 237
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 237

Pro Gln Phe Arg Ile Lys Gly Gly
1 5

50 <210> 238
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno

60 <400> 238

Pro Arg Cys Arg His Arg Pro His
1 5
 5 <210> 239
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 10 <400> 239
Lys Gly Tyr Arg Ser Gln Arg Gly
1 5
 15 <210> 240
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Plasminógeno
 <400> 240
Asp Val Ala Gln Phe Val Leu Thr
1 5
 25 <210> 241
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de MMP-2
 35 <221> VARIANTE
 <222> 1, 3, 4, 6, 7, 8
 <223> Las posiciones 1, 3, 4, 6, 7, 8 son independientemente cualquier aminoácido
 <221> VARIANTE
 40 <222> 2
 <223> La posición 2 es P, A, V, L, o I
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 45 <223> La posición 5 es V, L, I, F, o Q
 <400> 241
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
 50 <210> 242
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 242
 60 **Gln Pro Val Ser Val Lys Val Gly**
1 5

	<210> 243
	<211> 8
	<212> PRT
5	<213> Secuencia Artificial
	<220>
	<223> Sitio de escisión de MMP-2
10	<400> 243
	Arg Gly Val Gly Ile Lys Ser Thr
	1 5
	<210> 244
15	<211> 8
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
	<220>
20	<223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 244
	Phe Val Asp Cys Leu Ile Glu Gln
	1 5
25	<210> 245
	<211> 8
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
30	<220>
	<223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 245
35	Val Pro Ala Gly Asn Trp Val Leu
	1 5
	<210> 246
40	<211> 8
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
	<220>
45	<223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 246
	Tyr His Ala Asp Ile Tyr Asp Lys
	1 5
50	<210> 247
	<211> 8
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
55	<220>
	<223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 247
60	Arg Ala Cys Arg Leu Ala Lys Ala
	1 5

<210> 248
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 248
 10 **Gln Gly Ala Tyr Gln Glu Ala Phe**
 1 5
 <210> 249
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 20 <400> 249
 Asp Val Leu Ser Leu Leu Glu Lys
 1 5
 25 <210> 250
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 250
 Thr Leu Asp Asp Leu Ile Met Ala
 35 1 5
 <210> 251
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 45 <400> 251
 His Ile Ser Ser Leu Ile Lys Leu
 1 5
 <210> 252
 50 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 252
 Asp Pro Asn Asn Leu Leu Asn Asp
 1 5
 60 <210> 253

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 253
 Pro Val Gln Pro Gln Gln Ser Pro
 10 1 5
 <210> 254
 <211> 8
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 20 <400> 254
 Lys Pro Lys Thr Ile Thr Gly Pro
 1 5
 <210> 255
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 255
 Val Val His Pro Leu Val Leu Leu
 1 5
 35 <210> 256
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 <400> 256
 45 His Pro Leu Val Leu Leu Ser Val
 1 5
 <210> 257
 <211> 8
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 55 <400> 257
 Ala Val Ala Leu Leu Ile Gly Pro
 1 5
 60 <210> 258
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Sitio de escisión de MMP-2

 <400> 258

Gln Pro Leu Gln Leu Leu Asp Ala
 1 5
 10
 <210> 259
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2

 <400> 259
 20
Tyr Ile Gln Gly Ile Asn Leu Val
 1 5

 <210> 260
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 30
 <400> 260

Leu Pro Gln Glu Ile Lys Ala Asn
 1 5
 35
 <210> 261
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2

 <400> 261

Asn Ile Ser Asp Leu Thr Ala Ala
 45 1 5

 <210> 262
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2
 55
 <400> 262

Lys Pro Arg Ala Leu Thr Ala Leu
 1 5
 60
 <210> 263
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sitio de escisión de MMP-2

5 <400> 263

Ala Pro Ser Trp Leu Leu Thr Ala
1 5

10 <210> 264
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Sitio de escisión de MMP-2

<400> 264

Ala Val Arg Trp Leu Leu Thr Ala
1 5

20 <210> 265
<211> 8
<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de MMP-2

30 <400> 265

Ala Val Ser Trp Leu Leu Thr Ala
1 5

35 <210> 266
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de MMP-2

40 <400> 266

Ser Leu Arg Arg Leu Thr Ala Ala
1 5

45 <210> 267
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Sitio de escisión de MMP-2

<400> 267

55 **Ser Leu Ser Arg Leu Thr Ala Leu**
1 5

60 <210> 268
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

	<220> <223> Sitio de escisión de MMP-2
5	<400> 268
	Arg Tyr Ser Ser Leu Thr Ala Ala 1 5
10	<210> 269 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
15	<220> <223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 269
20	Ser Leu Ala Tyr Tyr Thr Ala Leu 1 5
25	<210> 270 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
30	<220> <223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 270
35	Ser Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ala 1 5
40	<210> 271 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
45	<220> <223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 271
50	Ser Pro Ala Tyr Tyr Thr Ala Leu 1 5
55	<210> 272 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
60	<220> <223> Sitio de escisión de MMP-2
	<400> 272
65	Met His Lys Ala Leu Thr Ala Ala 1 5
70	<210> 273 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-2

<400> 273

5 **Leu Arg Leu Ala Ile Thr Ala Leu**
 1 5

<210> 274
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de MMP-9

15 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> La posición 1 es F, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido
 20 positivo como H, K, y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A,
 V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> La posición 2 es F, Y, S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un
 25 aminoácido positivo como H, K, y R, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 3, 8
 <223> Las posiciones 3 y 8 son independientemente F, Y, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico
 30 como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido
 hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 4, 6, 7
 35 <223> Las posiciones 4, 6 y 7 son independientemente cualquier aminoácido

<221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 es S, T, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido
 40 positivo como H, K, y R, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W, e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático
 como G, P, A, V, L, I, y M

<400> 274

45 **Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
 1 5

<210> 275
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9

55 <400> 275

Ile Pro Glu Asn Phe Phe Gly Val
 1 5

<210> 276
 <211> 8
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 276
 5 **Met Asp Ile Ala Ile His His Pro**
 1 5
 <210> 277
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 15 <400> 277
 Ser Pro Ser Arg Leu Phe Asp Gln
 1 5
 20 <210> 278
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 278
 Ser Glu Met Arg Leu Glu Lys Asp
 30 1 5
 <210> 279
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 40 <400> 279
 Phe Ser Val Asn Leu Asp Val Lys
 1 5
 <210> 280
 45 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 50 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 280
 Arg Leu Phe Asp Gln Phe Phe Gly
 1 5
 55 <210> 281
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>

<223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 281

Phe Phe Gly Glu His Leu Leu Glu
 5 1 5

<210> 282
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9

15 <400> 282

Gly Leu Ser Glu Met Arg Leu Glu
 1 5

<210> 283
 20 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 25 <223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 283

Ser Pro Glu Glu Leu Lys Val Lys
 1 5

30 <210> 284
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 284

40 **Asp Val Ile Glu Val His Gly Lys**
 1 5

<210> 285
 <211> 8
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9

50 <400> 285

Glu Val His Gly Lys His Glu Glu
 1 5

55 <210> 286
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 286

Asp Glu His Gly Phe Ile Ser Arg
1 5

5 <210> 287
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 287

15 **Gly Glu His Leu Leu Glu Ser Asp**
1 5

<210> 288
<211> 8
20 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

25 <400> 288

Phe His Arg Lys Tyr Arg Ile Pro
1 5

30 <210> 289
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 289

Gly Pro Arg Lys Gln Val Ser Gly
40 1 5

<210> 290
<211> 8
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

50 <400> 290

Leu Ser Pro Phe Tyr Leu Arg Pro
1 5

<210> 291
55 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 291

Pro Pro Ser Phe Leu Arg Ala Pro
1 5

5 <210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 292

Asn Pro Leu Glu Asn Ser Gly Phe
15 1 5

<210> 293
<211> 8
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

25 <400> 293

Val Pro Tyr Gly Leu Gly Ser Pro
1 5

<210> 294
30 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 294

Pro Pro Leu Lys Leu Met His Ser
40 1 5

<210> 295
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

<400> 295

50 Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly
1 5

<210> 296
<211> 8
55 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de MMP-9

60 <400> 296

Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala
 1 5

5 <210> 297
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 10 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 297

Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val
 1 5

15 <210> 298
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 298

25 **Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly**
 1 5

30 <210> 299
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 35 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 299

Ser Asp Leu Gly Leu Thr Gly Ile
 1 5

40 <210> 300
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 300

Val Pro Tyr Gly Leu Gly Ser Pro
 1 5

50 <210> 301
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 60 <400> 301

Gly Ala Ala Gly Val Lys Gly Asp
 1 5
 <210> 302
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 10 <400> 302
 Gly Pro Thr Gly Lys Gln Gly Asp
 1 5
 15 <210> 303
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 303
 Gly Pro Ser Gly Asp Gln Gly Ala
 25 1 5
 <210> 304
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 35 <400> 304
 Gly Pro Ser Gly Phe Pro Phe Pro
 1 5
 40 <210> 305
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 305
 Gly Ala Pro Gly Phe Pro Gly Pro
 1 5
 50 <210> 306
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 306
 60

Gly Ala Pro Gly Asn Arg Gly Phe
 1 5
 <210> 307
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 10 <400> 307
 Gly Leu Arg Gly Glu Arg Gly Glu
 1 5
 15 <210> 308
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 308
 Gly Pro Pro Gly Ser Gln Gly Asn
 25 1 5
 <210> 309
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 35 <400> 309
 Gly Pro Ala Gly Gln Gln Gly Ala
 1 5
 40 <210> 310
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 310
 Gly Pro Pro Gly Lys Asp Gly Thr
 1 5
 50 <210> 311
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 311
 60

Gly Gln Pro Gly Ser Pro Gly Ser
 1 5
 <210> 312
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 10 <400> 312
 Gly Ser Pro Gly Tyr Gln Gly Pro
 1 5
 15 <210> 313
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 313
 Gly Pro Val Ser Ala Val Leu Thr
 25 1 5
 <210> 314
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 35 <400> 314
 Gly Pro Leu Gly Met Leu Ser Gln
 1 5
 40 <210> 315
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 315
 Gly Pro Leu Gly Met Trp Ala Gln
 1 5
 50 <210> 316
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 316
 60

Gly Pro Gln Gly Ile Phe Gly Gln
 1 5
 <210> 317
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 10 <400> 317
 Leu Pro Arg Ser Ala Lys Glu Leu
 1 5
 15 <210> 318
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 <400> 318

 Asn Ser Phe Gly Leu Arg Phe Gly
 1 5
 25 <210> 319
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de MMP-9
 35 <400> 319
 Arg Ala Ile His Ile Asn Ala Glu
 1 5
 40 <210> 320
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de Furina
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> La posición 1 es R, I, o A
 50 <221> VARIANTE
 <222> 2, 5, 6, 7, 8
 <223> Las posiciones 2, 5, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido
 55 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> La posición 3 es R, K, A, o P
 60 <221> VARIANTE
 <222> (0)...(0)
 <400> 320

Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

5 <210> 321
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 10 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 321

Arg Pro Arg Arg Ala Lys Arg Phe
 1 5

15 <210> 322
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 322

25 Arg Lys Lys Arg Gly Leu Tyr Ala
 1 5

30 <210> 323
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 35 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 323

Arg Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg
 1 5

40 <210> 324
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 324

Arg Lys Lys Arg Gly Leu Tyr Ala
 1 5

50 <210> 325
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Furina

60 <400> 325

Arg Lys Lys Arg Thr Thr Ser Ala
 1 5
 <210> 326
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 10 <400> 326
 Arg His Lys Arg Glu Thr Leu Lys
 1 5
 15 <210> 327
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 327
 Arg Leu Lys Arg Asp Val Val Thr
 25 1 5
 <210> 328
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 35 <400> 328
 Arg Met Lys Arg Glu Asp Leu Asn
 1 5
 40 <210> 329
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 329
 Arg Ala Lys Arg Phe Ala Ser Leu
 1 5
 50 <210> 330
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 330
 60

Arg Lys Lys Arg Phe Val Ser Ser
 1 5

5 <210> 331
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 331

Arg Thr Lys Arg Phe Leu Ser Tyr
 1 5

15 <210> 332
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 332

Arg Arg Ala Arg Ser Val Asp Gly
 25 1 5

30 <210> 333
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 333

Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys
 1 5

40 <210> 334
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 334

Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys
 50 1 5

55 <210> 335
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 335

Arg Val Ala Arg Asp Ile Thr Met
 1 5
 <210> 336
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 10 <400> 336
 Arg Ile Ser Arg Ser Leu Pro Gln
 1 5
 15 <210> 337
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 337
 Arg Ser Arg Arg Ala Ala Thr Ser
 25 1 5
 <210> 338
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 35 <400> 338
 Arg Ala Lys Arg Ser Pro Lys His
 1 5
 40 <210> 339
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 339
 Phe Trp His Arg Gly Val Thr Lys
 1 5
 50 <210> 340
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 340
 60

Ala Lys Arg Arg Thr Lys Arg Asp
 1 5
 <210> 341
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 10 <400> 341
Ala Lys Arg Arg Ala Lys Arg Asp
 1 5
 15 <210> 342
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 342
Ala Lys Gln Arg Ala Lys Arg Asp
 25 1 5
 <210> 343
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 35 <400> 343
Arg Asp Val Arg Gly Phe Ala Ser
 1 5
 <210> 344
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 344
Arg Lys Arg Arg Ser Val Asn Pro
 1 5
 50 <210> 345
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 <400> 345
 60

Arg Gln Lys Arg Phe Val Leu Ser
1 5
 5 <210> 346
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Furina
 10 <400> 346
Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys
1 5
 15 <210> 347
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de u-PA
 <221> VARIANTE
 <222> 1, 5, 8
 25 <223> Las posiciones 1, 5, y 8 son independientemente cualquier aminoácido
 <221> VARIANTE
 <222> 2, 7
 <223> Las posiciones 2 y 7 son independientemente un aminoácido sin cargar como C, S, y T, un aminoácido
 30 aromático como F, W, e Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> La posición 3 es un aminoácido amfídico como N y Q, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido
 35 hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es K o R
 40 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> La posición 6 es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido aromático como F, W, e Y, o un aminoácido
 hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 45 <400> 347
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
 50 <210> 348
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 348
Gly Ser Gly Lys Ser Ala Thr Leu
1 5
 60 <210> 349

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA

 <400> 349

10 **Gln Arg Gly Arg Ser Ala Thr Leu**
 1 5

<210> 350
 <211> 8
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA

20 <400> 350

Arg Gly Ser Val Ile Leu Thr Val
 1 5

25 <210> 351
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Sitio de escisión de u-PA

<400> 351

Pro Ser Ser Arg Arg Arg Val Asn
 1 5

35 <210> 352
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA

<400> 352

45 **Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly**
 1 5

<210> 353
 <211> 8
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA

55 <400> 353

Pro Gly Ala Arg Gly Arg Ala Phe
 1 5

60 <210> 354
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Sitio de escisión de u-PA

 <400> 354

Ser Ser Ser Arg Gly Pro Thr His
1 5
 10
 <210> 355
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA

 <400> 355
 20
Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn
1 5

 <210> 356
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 30
 <400> 356

Asn Ser Gly Arg Ala Val Thr Tyr
1 5
 35
 <210> 357
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA

 <400> 357

Thr Tyr Ser Arg Ser Arg Tyr Leu
1 5
 45
 <210> 358
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 55
 <400> 358

Asn Ser Gly Arg Ala Val Thr Tyr
1 5
 60
 <210> 359
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 5 <400> 359
 Pro Ser Gly Arg Gly Arg Thr Leu
 1 5
 10 <210> 360
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 360
 Ala Gly Ser Arg Ala Val Tyr Tyr
 20 1 5
 <210> 361
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 30 <400> 361
 Thr Tyr Gly Arg Ser Arg Thr Asn
 1 5
 35 <210> 362
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 362
 Asn Ser Ser Arg Gly Val Tyr Leu
 1 5
 45 <210> 363
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 363
 55 Pro Ser Ser Arg Ser Val Tyr Asn
 1 5
 <210> 364
 <211> 8
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 5 <400> 364
 Ala Ser Gly Arg Gly Arg Thr Tyr
 1 5
 <210> 365
 10 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 365
 Thr Ser Ser Arg Ala Val Tyr Leu
 1 5
 20 <210> 366
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 366
 30 Asn Ser Gly Arg Ser Arg Thr Leu
 1 5
 <210> 367
 <211> 8
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 40 <400> 367
 Val Ser Gly Arg Ile Arg Thr Gly
 1 5
 45 <210> 368
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Sitio de escisión de u-PA
 <400> 368
 Ser Ser Gly Arg Ile Arg Thr Val
 55 1 5
 <210> 369
 <211> 8
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de t-PA

<221> VARIANTE
 5 <222> 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8
 <223> Las posiciones 1, 2, 3, 5, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido

<221> VARIANTE
 10 <222> 4
 <223> La posición 4 es K o R

<400> 369

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

15 <210> 370
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de t-PA

<400> 370

25 **Asn Ala Leu Arg Tyr Ala Pro Asp**
 1 5

30 <210> 371
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de t-PA

<400> 371

Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly
 1 5

40 <210> 372
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de t-PA

<400> 372

Pro Gln Phe Arg Ile Lys Gly Gly
 50 1 5

55 <210> 373
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de t-PA

60 <400> 373

Ala Leu Ser Arg Met Ala Val Leu
1 5

<210> 374
<211> 6
5 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de Triptasa-épsilon

10 <221> VARIANTE
<222> 1
<223> La posición 1 es K o R

15 <221> VARIANTE
<222> 2, 3, 4, 5
<223> Las posiciones 2, 3, 4, y 5 son independientemente un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

20 <221> VARIANTE
<222> 6
<223> La posición 6 es D o E

<400> 374

25 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 375
<211> 6
30 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon

35 <400> 375

Arg Val Val Gly Gly Glu
1 5

40 <210> 376
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon

<400> 376

Arg Ile Val Gly Gly Glu
1 5

50 <210> 377
<211> 6
<212> PRT
55 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon

60 <400> 377

Arg Ile Ile Gly Gly Glu
 1 5
 <210> 378
 <211> 6
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 10 <400> 378
Arg Val Val Gly Gly Asp
 1 5
 15 <210> 379
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 <400> 379
Arg Ile Val Gly Gly Asp
 25 1 5
 <210> 380
 <211> 6
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 35 <400> 380
Arg Ile Ile Gly Gly Asp
 1 5
 <210> 381
 40 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 <400> 381
Lys Val Val Gly Gly Glu
 1 5
 50 <210> 382
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 <400> 382
 60

Lys Ile Val Gly Gly Glu
 1 5
 <210> 383
 <211> 6
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 10 <400> 383
Lys Ile Ile Gly Gly Glu
 1 5
 15 <210> 384
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 <400> 384
Lys Val Val Gly Gly Asp
 25 1 5
 <210> 385
 <211> 6
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 35 <400> 385
Lys Ile Val Gly Gly Asp
 1 5
 40 <210> 386
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Sitio de escisión de Triptasa-épsilon
 <400> 386
Lys Ile Ile Gly Gly Asp
 1 5
 50 <210> 387
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de mMCP-7
 <221> VARIANTE
 60 <222> 1, 5, 6, 7, 8
 <223> Las posiciones 1, 5, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido

<221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> La posición 2 es un aminoácido amídico como N o Q, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> La posición 3 es un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es K o R

<400> 387

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 388
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de mMCP-7

<400> 388

Leu Ser Ser Arg Gln Ser Pro Gly
1 5

<210> 389
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de mMCP-7

<400> 389

Leu Gln Ala Arg Gly Ala Ser Leu
1 5

<210> 390
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de mMCP-7

<400> 390

Leu Gly Pro Lys Ala Ile Thr Met
1 5

<210> 391
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de mMCP-7

<400> 391

Leu Gly Pro Arg Ser Ala Val Tyr
1 5

5 <210> 392
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de ECE-1

15 <221> VARIANTE
<222> 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8
<223> Las posiciones 1, 2, 3, 4, 6, 7, y 8 son independientemente cualquier aminoácido

20 <221> VARIANTE
<222> 5
<223> La posición 5 es F, L, I, V, o Y

<400> 392

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

25 <210> 393
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Sitio de escisión de ECE-1

<400> 393

35 His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala
1 5

40 <210> 394
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Sitio de escisión de ECE-1

<400> 394

His His Gln Lys Leu Val Phe Phe
1 5

50 <210> 395
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> Sitio de escisión de ECE-1

<400> 395

Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp
1 5

60

<210> 396
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 <400> 396
 10 **Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe**
 1 5
 <210> 397
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 20 <400> 397
 Tyr Ile His Pro Phe His Leu Val
 1 5
 25 <210> 398
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 <400> 398
 Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Arg Ser
 35 1 5
 <210> 399
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 45 <400> 399
 Thr Pro Glu His Val Val Pro Tyr
 1 5
 <210> 400
 <211> 8
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 <400> 400
 Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro
 1 5
 60 <210> 401

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 <400> 401
 Asp Ile Ile Trp Ile Asn Thr Pro
 10 1 5
 <210> 402
 <211> 8
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 20 <400> 402
 Cys His Leu Asp Ile Ile Trp Val
 1 5
 <210> 403
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 <400> 403
 His Leu Asp Ile Ile Trp Val Asn
 1 5
 35 <210> 404
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 <400> 404
 45 Cys Val Tyr Phe Cys His Leu Asp
 1 5
 <210> 405
 <211> 8
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 55 <400> 405
 Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys
 1 5
 60 <210> 406
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Sitio de escisión de ECE-1

 <400> 406

Glu Cys Val Tyr Phe Cys His Leu
 1 5
 10
 <210> 407
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1

 <400> 407
 20
Arg Ser Lys Arg Cys Ser Cys Ser
 1 5

 <210> 408
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 30
 <400> 408

Arg Ser Lys Arg Ala Leu Glu Asn
 1 5
 35
 <210> 409
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1

 <400> 409

Gly Phe Ser Pro Phe Arg Ser Ser
 45 1 5

 <210> 410
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de ECE-1
 55
 <400> 410

Pro Arg Arg Pro Tyr Ile Leu Pro
 1 5
 60
 <210> 411
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sitio de escisión de ECE-1

5 <400> 411

Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu

1 5

10 <210> 412

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> Sitio de escisión de ECE-1

<400> 412

Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met

1 5

20 <210> 413

<211> 8

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de KBGP

30 <221> VARIANTE

<222> 1

<223> La posición 1 es un aminoácido ácido como D y E

<221> VARIANTE

35 <222> 2, 5

<223> Las posiciones 2 y 5 son independientemente T o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE

<222> 3, 8

40 <223> Las posiciones 3 y 8 son independientemente un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE

<222> 4

<223> La posición 4 es un aminoácido aromático como F, W

45 <221> VARIANTE

<222> 6

<223> La posición 6 es un aminoácido amídico como N y Q

50 <221> VARIANTE

<222> (7)...(7)

<223> La posición 7 es un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido C-beta ramificado como I, V, o T

<400> 413

55 **Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**

1 5

<210> 414

<211> 8

60 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sitio de escisión de KBGP

<400> 414

Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro

5 1 5

<210> 415

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sitio de escisión de KBGP

15 <400> 415

Asp Ile Ile Trp Ile Asn Thr Pro

1 5

<210> 416

20 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de Catepsina L

<221> VARIANTE

<222> 1

30 <223> La posición 1 es W, un aminoácido ácido como D y E, un aminoácido amídico como N y Q, un aminoácido positivo como H, K, y R, un aminoácido sin cargar como C, S, y T, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE

35 <222> 2, 4, 5, 6, 7, 8

<223> Las posiciones 2, 4, 5, 6, 7, 8 son independientemente cualquier aminoácido

<221> VARIANTE

<222> 3

40 <223> La posición 3 es L, V, F o Y

<400> 416

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

45 1 5

<210> 417

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

50 <220>

<223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 417

55 <400> 417

Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met

1 5

<210> 418

<211> 8

60 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 418

5 **Lys Val Phe Gln Glu Pro Leu Phe**
 1 5

<210> 419
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

15 <400> 419

Ala Thr Leu Thr Phe Asp His Ser
 1 5

20 <210> 420
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

 <400> 420

Pro Leu Phe Tyr Glu Ala Pro Arg
 30 1 5

<210> 421
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

40 <400> 421

Thr Gly Leu Arg Asp Pro Phe Asn
 1 5

<210> 422
 45 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 50 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

 <400> 422

Lys Ile Leu His Leu Pro Thr Ser
 1 5

55 <210> 423
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>

<223> Sitio de escisión de Catepsina L
 <400> 423

Ala His Leu Lys Asn Ser Gln Glu
 1 5

<210> 424
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 424

Ala Pro Leu Thr Ala Glu Ile Gln
 1 5

<210> 425
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 425

Glu Ala Leu Phe Ala Glu Arg Lys
 1 5

<210> 426
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 426

Glu Pro Leu Ala Ala Glu Arg Lys
 1 5

<210> 427
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 427

Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser
 1 5

<210> 428
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 428

Lys Tyr Leu Asp Ser Arg Arg Ala
1 5

5 <210> 429
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 429

15 **Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met**
1 5

<210> 430
<211> 8
20 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

25 <400> 430

Lys Gln Leu Ala Thr Lys Ala Ala
1 5

30 <210> 431
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 431

Ser Thr Phe Glu Glu Arg Ser Tyr
40 1 5

<210> 432
<211> 8
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

50 <400> 432

Leu Arg Leu Glu Trp Pro Tyr Gln
1 5

<210> 433
55 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 433

Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys
1 5

5 <210> 434
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 434

Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala
15 1 5

<210> 435
<211> 8
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

25 <400> 435

His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr
1 5

<210> 436
30 <211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 436

Arg Gly Leu Ser Leu Ser Arg Phe
40 1 5

<210> 437
<211> 8
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

<400> 437

50 **Gln Trp Leu Gly Ala Pro Val Pro**
1 5

<210> 438
<211> 8
55 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de Catepsina L

60 <400> 438

Asn Met Leu Lys Arg Gly Leu Pro
 1 5

5 <210> 439
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L
 <400> 439

Leu Ser Leu Ala His Thr His Gln
 1 5

15 <210> 440
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L
 <400> 440

25 **Thr Pro Phe Ala Ala Thr Ser Ser**
 1 5

30 <210> 441
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L
 <400> 441

Lys Leu Leu Ala Val Ser Gly Pro
 1 5

40 <210> 442
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L
 <400> 442

Gln Leu Phe Arg Arg Ala Val Leu
 1 5

50 <210> 443
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de Catepsina L

60 <400> 443

Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly
1 5

5 <210> 444
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de PAR1

15 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> La posición 1 es un aminoácido pequeño no polar como A, C, G, S, y T

20 <221> VARIANTE
 <222> 2, 3
 <223> Las posiciones 2 y 3 son independientemente un aminoácido grande no polar como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W, o Y

25 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> La posición 4 es un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

30 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 es K o R

35 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> La posición 6 es un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W, o Y

<400> 444

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

40 <210> 445
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR1

<400> 445

Ser Phe Leu Leu Arg Asn
1 5

50 <210> 446
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR1

<400> 446

Ser Phe Phe Leu Arg Asn
1 5

60 <210> 447
 <211> 6
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR1
 5 <400> 447
 Ser Phe Phe Leu Lys Asn
 1 5
 10 <210> 448
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR1
 <400> 448
 Thr Phe Leu Leu Arg Asn
 20 1 5
 <210> 449
 <211> 6
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR1
 30 <400> 449
 Gly Phe Pro Gly Lys Phe
 1 5
 35 <210> 450
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Sitio de escisión de PAR1
 <400> 450
 Gly Tyr Pro Ala Lys Phe
 1 5
 45 <210> 451
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR1
 <400> 451
 55 Gly Tyr Pro Leu Lys Phe
 1 5
 <210> 452
 <211> 6
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de PAR1

5 <400> 452

Gly Tyr Pro Ile Lys Phe
1 5

<210> 453
10 <211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
15 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de PAR2

<221> VARIANTE
<222> 1
<223> La posición 1 es un aminoácido pequeño no polar como A, C, G, S, y T

20 <221> VARIANTE
<222> 2, 3, 6
<223> Las posiciones 2, 3, y 6 son independientemente un aminoácido grande no polar como F, I, L, M, V

25 <221> VARIANTE
<222> 4
<223> La posición 4 es un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
30 <222> 5
<223> La posición 5 es K o R

<400> 453

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 1 5

<210> 454
<211> 6
<212> PRT
40 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de PAR2

45 <400> 454

Ser Leu Ile Gly Lys Val
1 5

<210> 455
50 <211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
55 <223> Sitio de escisión de PAR2

<400> 455

Ser Leu Ile Gly Arg Leu
1 5

60 <210> 456
<211> 6

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de PAR3

 <221> VARIANTE
 <222> 1, 4
 <223> Las posiciones 1 y 4 son independientemente un aminoácido pequeño no polar como A, C, G, S, y T
 10
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> La posición 2 es un aminoácido grande no polar como F, I, L, M, V

 15 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> La posición 3 es un aminoácido amídico como N y Q, o un aminoácido básico como K y R

 20 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 es un aminoácido pequeño no polar como A, C, G, S, y T, o un aminoácido pequeño polar como D, N, o P

 25 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> La posición 6 es un aminoácido ácido como D y E, o un aminoácido pequeño polar como D, N, o P

 <400> 456

 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 30 1 5

 <210> 457
 <211> 6
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR3

 40 <400> 457

 Thr Phe Arg Gly Ala Pro
 1 5

 <210> 458
 45 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Sitio de escisión de PAR3

 <400> 458

 Ser Phe Asn Gly Gly Pro
 1 5
 55
 <210> 459
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR3

<400> 459

Ser Phe Asn Gly Asn Glu
1 5

5 <210> 460
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de PAR4

<221> VARIANTE
 <222> 1

15 <223> La posición 1 es un aminoácido pequeño no polar como A, C, G, S, y T

<221> VARIANTE
 <222> 2

20 <223> La posición 2 es un aminoácido grande no polar como F, I, L, M, V, o un aminoácido aromático como F, H, W, o Y

<221> VARIANTE
 <222> 3, 4

25 <223> Las posiciones 3 y 4 son independientemente un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

<221> VARIANTE
 <222> 5

<223> La posición 5 es K o R

30 <221> VARIANTE
 <222> 6

<223> La posición 6 es un aminoácido básico como K y R, un aminoácido hidrofóbico alifático como F, W, o Y, o un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M

35 <400> 460

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 461
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4

<400> 461

Gly Tyr Pro Gly Gln Val
1 5

50 <210> 462
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4

<400> 462

60 **Ala Tyr Pro Gly Lys Phe**
1 5

5 <210> 463
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 <400> 463
 10 **Thr Tyr Pro Gly Lys Phe**
 1 5
 <210> 464
 <211> 6
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 20 <400> 464
Gly Tyr Pro Gly Lys Tyr
 1 5
 25 <210> 465
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 <400> 465
Gly Tyr Pro Gly Lys Trp
 35 1 5
 <210> 466
 <211> 6
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 45 <400> 466
Gly Tyr Pro Gly Lys Lys
 1 5
 50 <210> 467
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> Sitio de escisión de PAR4
 <400> 467
Gly Tyr Pro Gly Lys Phe
 1 5
 60

5 <210> 468
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 <400> 468
 10 Gly Tyr Pro Gly Arg Phe
 1 5
 <210> 469
 <211> 6
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 20 <400> 469
 Gly Tyr Pro Gly Phe Lys
 1 5
 25 <210> 470
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 <400> 470
 Gly Tyr Pro Ala Lys Phe
 35 1 5
 <210> 471
 <211> 6
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 45 <400> 471
 Gly Phe Pro Gly Lys Phe
 1 5
 <210> 472
 <211> 6
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4
 55 <400> 472
 Gly Phe Pro Gly Lys Pro
 1 5
 60 <210> 473

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4

 <400> 473

10 **Ser Tyr Pro Gly Lys Phe**
 1 5

<210> 474
 <211> 6
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4

20 <400> 474

Ser Tyr Pro Ala Lys Phe
 1 5

<210> 475
 25 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Sitio de escisión de PAR4

<400> 475

Ser Tyr Pro Gly Arg Phe
 1 5

35 <210> 476
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4

<400> 476

45 **Ser Tyr Ala Gly Lys Phe**
 1 5

<210> 477
 <211> 6
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de PAR4

55 <400> 477

Ser Phe Pro Gly Gln Pro
 1 5

60 <210> 478
 <211> 6

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Sitio de escisión de PAR4

 <400> 478

Ser Phe Pro Gly Gln Ala
1 5
 10
 <210> 479
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Sitio de escisión de ADAMTS13

 <400> 479
 20
Asn Leu Val Tyr Met Val Thr Gly
1 5

 <210> 480
 <211> 5
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de enteroquinasa proteasa bovina
 30
 <400> 480

Asp Asp Asp Asp Lys
1 5
 35
 <210> 481
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia de consenso del sitio de escisión de proteasa TEV

 <221> VARIANTE
 <222> 2, 3, 5
 45 <223> Las posiciones 2, 3, y 5 son independientemente cualquier aminoácido

 <400> 481

Glu Xaa Xaa Tyr Xaa Gln Gly
1 5
 50
 <210> 482
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Secuencia de consenso del sitio de escisión de proteasa TEV

 <221> VARIANTE
 60 <222> 2, 3, 5
 <223> Las posiciones 2, 3, y 5 son independientemente cualquier aminoácido

<400> 482

Glu Xaa Xaa Tyr Xaa Gln Ser
1 5

5 <210> 483
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Sitio de escisión de proteasa TEV

<400> 483

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly
15 1 5

<210> 484
<211> 7
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de proteasa TEV

25 <400> 484

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser
1 5

<210> 485
30 <211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV

<400> 485

Glu Asn Ile Tyr Thr Gln Gly
40 1 5

<210> 486
<211> 7
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Sitio de escisión de proteasa TEV

<400> 486

50 **Glu Asn Ile Tyr Thr Gln Ser**
1 5

<210> 487
<211> 7
55 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV

<400> 487

Glu Asn Ile Tyr Leu Gln Gly
 1 5

5 <210> 488
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV
 <400> 488

Glu Asn Ile Tyr Leu Gln Ser
 1 5

15 <210> 489
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV
 <400> 489

25 **Glu Asn Val Tyr Phe Gln Gly**
 1 5

30 <210> 490
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV
 <400> 490

Glu Asn Val Tyr Ser Gln Ser
 1 5

40 <210> 491
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV
 <400> 491

Glu Asn Val Tyr Ser Gln Gly
 50 1 5

55 <210> 492
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TEV
 <400> 492

Glu Asn Val Tyr Ser Gln Ser
1 5
 5 <210> 493
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de consenso del sitio de escisión de proteasa TVMV
 10 <221> VARIANTE
 <222> 1, 2
 <223> Las posiciones 1 y 2 son independientemente cualquier aminoácido
 15 <400> 493
Xaa Xaa Val Arg Phe Gln Gly
1 5
 20 <210> 494
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 25 <223> Secuencia de consenso del sitio de escisión de proteasa TVMV
 <221> VARIANTE
 <222> 1, 2
 <223> Las posiciones 1 y 2 son independientemente cualquier aminoácido
 30 <400> 494
Xaa Xaa Val Arg Phe Gln Ser
1 5
 35 <210> 495
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TVMV
 <400> 495
Glu Thr Val Arg Phe Gln Gly
1 5
 45 <210> 496
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TVMV
 55 <400> 496
Glu Thr Val Arg Phe Gln Ser
1 5
 60 <210> 497
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TVMV
 5 <400> 497
 Asn Asn Val Arg Phe Gln Gly
 1 5
 10 <210> 498
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa TVMV
 <400> 498
 Asn Asn Val Arg Phe Gln Ser
 20 1 5
 <210> 499
 <211> 7
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de proteasa HR3C
 30 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> La posición 1 puede ser aminoácido, con D o E preferidos
 <221> VARIANTE
 35 <222> 2
 <223> La posición 2 es S, T, y un aminoácido hidrofóbico alifático como G, P, A, V, L, I, y M
 <400> 499
 Xaa Xaa Leu Phe Gln Gly Pro
 40 1 5
 <210> 500
 <211> 7
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa HR3C
 50 <400> 500
 Glu Ala Leu Phe Gln Gly Pro
 1 5
 55 <210> 501
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 60 <223> Sitio de escisión de proteasa HR3C
 <400> 501

Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
 1 5

5 <210> 502
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa HR3C
 <400> 502

Glu Leu Leu Phe Gln Gly Pro
 1 5

15 <210> 503
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa HR3C
 <400> 503

25 **Asp Ala Leu Phe Gln Gly Pro**
 1 5

30 <210> 504
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa HR3C
 <400> 504

Asp Val Leu Phe Gln Gly Pro
 1 5

40 <210> 505
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa HR3C
 <400> 505

Asp Leu Leu Phe Gln Gly Pro
 1 5

50 <210> 506
 <211> 6
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de proteasa Subtilisina

60 <221> VARIANTE
 <222> 1, 2, 3, 4

<223> Las posiciones 1, 2, 3, y 4 son independientemente cualquier aminoácido

<400> 506

5 **Xaa Xaa Xaa Xaa His Tyr**
 1 5

<210> 507
 <211> 6
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de proteasa Subtilisina

15 <221> VARIANTE
 <222> 1, 2, 3, 4
 <223> Las posiciones 1, 2, 3, y 4 son independientemente cualquier aminoácido

<400> 507

20 **Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr His**
 1 5

<210> 508
 <211> 2
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Subtilisina

30 <400> 508

His Tyr
 1

35 <210> 509
 <211> 2
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Subtilisina

<400> 509

Tyr His
 1

45 <210> 510
 <211> 6
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Subtilisina

55 <400> 510

Pro Gly Ala Ala His Tyr
 1 5

<210> 511

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Sitio de escisión de hidroxilamina
 <400> 511
 Asn Gly Asn Gly Asn Gly
 1 5
 10 <210> 512
 <211> 2
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de hidroxilamina
 20 <400> 512
 Asn Gly
 1
 <210> 513
 25 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de proteasa SUMO/ULP-1
 <221> VARIANTE
 <222> 3, 4, 5
 <223> Las posiciones 3, 4, y 5 son independientemente cualquier aminoácido
 35 <400> 513
 Gly Gly Xaa Xaa Xaa
 1 5
 40 <210> 514
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa SUMO/ULP-1
 <400> 514
 Met Ala Asp Ser Glu Val Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro
 1 5 10 15
 Glu Val Lys Pro Glu Thr His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser
 20 25 30
 Ser Glu Ile Phe Phe Lys Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu
 35 40 45
 Met Glu Ala Phe Ala Lys Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg
 50 55 60
 Phe Leu Tyr Asp Gly Ile Arg Ile Gln Ala Asp Gln Thr Pro Glu Asp
 65 70 75 80
 Leu Asp Met Glu Asp Asn Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile
 85 90 95
 50 Gly Gly

<210> 515
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de consenso para el sitio de escisión de proteasa Caspasa 3
 <221> VARIANTE
 10 <222> 2
 <223> La posición 2 puede ser cualquier aminoácido con E preferido
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 15 <223> La posición 3 es cualquier aminoácido
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> La posición 5 puede ser cualquier aminoácido con G o S preferido
 20
 <400> 515
 Asp Xaa Xaa Asp Xaa
 1 5
 25 <210> 516
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Caspasa 3
 <400> 516
 Asp Glu Val Asp Gly
 35 1 5
 <210> 517
 <211> 5
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Caspasa 3
 45 <400> 517
 Asp Glu Val Asp Ser
 1 5
 <210> 518
 50 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> Sitio de escisión de proteasa Caspasa 3
 <400> 518
 Asp Glu Pro Asp Gly
 1 5
 60 <210> 519
 <211> 5

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Sitio de escisión de proteasa Caspasa 3

 <400> 519

Asp Glu Pro Asp Ser
1 5
 10
 <210> 520
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Caspasa 3

 <400> 520
 20
Asp Glu Leu Asp Gly
1 5

 <210> 521
 <211> 5
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Sitio de escisión de proteasa Caspasa 3
 30
 <400> 521

Asp Glu Leu Asp Ser
1 5
 35
 <210> 522
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Espaciador G flexible

 <400> 522

Gly Gly Gly Gly
 45 **1**

 <210> 523
 <211> 5
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Espaciador G flexible
 55
 <400> 523

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
 60
 <210> 524
 <211> 4
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Espaciador A flexible
 5 <400> 524
 Ala Ala Ala Ala
 1
 10 <210> 525
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Espaciador A flexible
 <400> 525
 Ala Ala Ala Ala Val
 1 5
 20 <210> 526
 <211> 3939
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> ADN que codifica un BoNT/A con una etiqueta HIS
 30 <400> 526

atgcccgttcg	taaacaaca	gttcaactat	aaagaccag	tcaacggcgt	ggacattgcc	60
tatatcaaaa	tccgaatgc	gggtcaaatg	caagcccgta	aagcatttaa	aatccataac	120
aaaatttggg	tgatcccga	gcgcgatacg	ttcacgaacc	cggaagaagg	agatttaaac	180
ccaccgcctg	aggctaaca	gggtcccggg	tcttactatg	atagcacata	cctgagtagc	240
gacaatgaaa	aggacaacta	cctgaaagggt	gttaccaaaac	tggttcgagcg	catttattcg	300
acagatctcg	gtcgcatgtt	gctgacttct	attgtgcgcg	gcattccggt	ttgggggtgg	360
agcaccatcg	atacagaact	caaagtgtat	gacaccaact	gcacaaatgt	gattcagcct	420
gatgggagct	accgggtccg	agagcttaac	ctcgtaatac	ttggcccggg	cgcggtatatt	480
atccaattcg	aatgtaaatc	ttttgggcat	gaagtcctga	atctgacgcg	gaatggctat	540
ggatcgagcg	agtatatctg	tttttctcca	gatttcacat	ttggatttga	agaaagcctc	600
gaagttgata	cgaaccctct	tttaggcgcg	ggaaaattcg	cgacggaccc	agcggtgacc	660
ttggcaccatg	aacttattca	tgccgggcat	cgcttgtatg	gaatcgccat	taaccggaac	720
cgtgttttca	agggtgaatac	gaacgcgtat	tacgagatgt	cgggcttaga	agtgtccttt	780
gaagaactgc	gcacgttttg	cggtcatgat	gcaaaattta	ttgatagtct	gcaagaaaaac	840
gaatttcggc	tgtactatta	caataaattc	aaagacattg	catcaacctt	aaacaaggcg	900
aaaagcattg	tgggtaccac	ggctagctta	caatatatga	aaaacgtttt	caaagaaaaa	960
tacctcctta	gcgaagacac	ttccggcaaa	ttctctgtcg	ataaactgaa	atttgataaa	1020
ctgtataaaa	tgctcaccga	gatctacaca	gaggataact	ttgtcaaatt	cttcaagggtc	1080
ttgaatcgga	aaacctatct	gaacttcgat	aaagccgtct	ttaagatcaa	catcgtaccg	1140
aaagttaact	acaccatcta	tgatggcttt	aatctgcgca	atacgaatct	ggcggcggaac	1200
tttaacggcc	agaacacoga	aatcaacaac	atgaacttta	ctaaactgaa	aaatttttacc	1260
ggcttgtttg	aattttataa	gctcctgtgt	gtccgcggta	ttatcaccag	caaaacccaaa	1320
tccttggtata	agggctataa	caaggcgctc	aatgattttat	gcacaaaggt	gaacaactgg	1380
gacttgtttt	tctctccatc	tgaagataat	ttactaacg	acttgaacaa	aggagaggaa	1440
attacttccg	ataccaacat	cgaagcagcg	gaagagaata	ttagcctgga	tcttattcaa	1500
caatattacc	tgacctttaa	ttttgataac	gagcctgaga	acatttccat	tgagaatctc	1560
agctctgaca	tcacgggcca	gctggaactg	atgccgaata	tcgaacgctt	tcctaattgga	1620
aagaatatatg	aattggacaa	atacaccatg	ttccactatc	tcgcgcgcga	ggagtgttgag	1680
cacggcaagt	ctcgtattgc	tctgaccaat	tcggtaaacg	aagccctttt	aaatccttcg	1740
cgtgtgtaca	cctttttctc	aagcgattat	gttaaaaaag	tgaacaaggc	gaccgaagcg	1800
gcgatgtttt	tgggtgggtg	ggaacaactg	gtatatgact	ttacggatga	aactctcgaa	1860
gtctcgacca	ccgacaaaat	tgccgatatt	accattatca	ttccctatat	tgcccttgca	1920
ctgaacattg	gtaacatgct	gtataaagat	gattttgtgg	gcgcctgat	cttttcaggc	1980
gctgttatcc	tgctggaatt	tatcccgga	atcgccattc	cagtactcgg	taccttttgcg	2040
ctggtgtcct	atatcgcaaa	caaagttttg	actgtccaga	cgatcgacaa	cgcgctcagt	2100
aaacgttaacg	aaaaatggga	tgaggtgtat	aagtatatgt	ttaccaactg	gctcgctaaa	2160
gtaaacaccc	agattgacct	gattcgcaag	aagatgaaag	aagcgtgga	aaaccaagca	2220
gaagcgacca	aagctattat	caactatcaa	tataaccagt	acacagagga	agaaaagaat	2280
aacatcaact	tcaacatcga	cgacttatct	tcaaagctga	atgaatctat	taacaaagcg	2340
atgattaata	ttaacaagtt	cttgaaccaa	tgtagtgtca	gctatctgat	gaactcgatg	2400
atcccttacg	gtgtgaaacg	tctggaagac	ttcgatgcaa	gccttaagaa	tgcccttctg	2460
aagtataatt	acgataatcg	cggaaactct	attggccaag	tggtatcgct	aaaagataaa	2520
gtcaacaaca	cgctgagtag	agacatccct	tttcagctgt	ctaaatatgt	ggacaatcag	2580
cgccctgctg	ccacgtttac	ggaatacatc	aaaaacatca	tcaacactag	tattctgaac	2640
ttgcgttacg	agagtaacca	tctgattgat	ctgagccgtt	acgcactctaa	aatcaacatc	2700
ggctcgaaag	tgaacttcga	tcctatcgac	aaaaaccaga	ttcaattggt	caacttagaa	2760
tcgtcaaaag	ttgaagttat	cttaaaaaat	gcgattgtat	ataattcaat	gtacgaaaat	2820
ttctctacga	gctttttggat	tcgtattccg	aaatatttca	acagtatctc	tttaacaac	2880
gagtatacta	tcacaaattg	tatggagaat	aacagcgggt	ggaaagttag	ccttaactat	2940
ggtgaaatca	tctggactct	cgaggacact	caagaaatta	aacaacgcgt	ggtgttttaa	3000
tactcacaga	tgattaacat	ctcggattat	attaatcgct	ggatttttgt	gacaattact	3060
aacaaccggc	tgaacaacag	caaaattttac	atcaacggtc	gcctgatcga	tcagaaacca	3120
atcagtaatc	tcggtaacat	tcacgcacgc	aataatatca	tggtcaaaact	ggatggttgt	3180
cgcgacacgc	accgttacat	ttggatcaaa	tacttcaatt	tattcgacaa	agaactcaac	3240
gaaaaggaga	ttaaaggatct	ttatgacaat	cagtctaatt	cggttattct	gaaagacttt	3300
tgggggtgatt	accttcagta	cgataaacgc	tattatatgt	taaaacttata	tgatccgaat	3360
aaatacgttg	acgtcaacaa	cgttggcatt	cgtggctata	tgatctgaa	aggccgcgct	3420
ggcagcgtga	tgaccactaa	catttactta	aactcctccc	tctatcgcg	tactaaattt	3480
attatcaaga	aatatgcctc	tggaacaag	gacaatatcg	tacgcaataa	cgatcgcgctc	3540
tacattaacg	tggtgggtgaa	gaataaagaa	tatcgtctgg	cgaccaatgc	tagtcaggcg	3600
ggcgtggaga	aaattctgtc	tgcaacttga	atcccggtatg	tggttaattt	atcccagggtg	3660
gttggtgatga	aaagttaaaaa	tgaccaagg	atcaccaata	aatgcaaaat	gaatctgcaa	3720
gataacaacg	gcaacgcacat	tggtttttatc	ggcttccacc	aattcaataa	tatcgcgaaa	3780
ctggtggcct	caaattggta	caaccgctcag	attgagcgca	gctcccgcac	tttaggctgt	3840
agctgggag	tcattccggt	agatgacggt	tggggagaaac	gcccattgaa	agtcgacaaag	3900
cttgccggccg	cactcgagca	ccaccaccac	caccactga			3939

<210> 527
<211> 1312
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> BoNT/A con una etiqueta HIS

5

<400> 527

```

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

```

ES 2 813 650 T3

[illegible]

Val Asn Thr Gln Ile Asp Leu Ile Arg Lys Lys Met Lys Glu Ala Leu
 725 730 735
 Glu Asn Gln Ala Glu Ala Thr Lys Ala Ile Ile Asn Tyr Gln Tyr Asn
 740 745 750
 Gln Tyr Thr Glu Glu Glu Lys Asn Asn Ile Asn Phe Asn Ile Asp Asp
 755 760 765
 Leu Ser Ser Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asn Lys Ala Met Ile Asn Ile
 770 775 780
 Asn Lys Phe Leu Asn Gln Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met
 785 790 795 800
 Ile Pro Tyr Gly Val Lys Arg Leu Glu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Lys
 805 810 815
 Asp Ala Leu Leu Lys Tyr Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly
 820 825 830
 Gln Val Asp Arg Leu Lys Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp
 835 840 845
 Ile Pro Phe Gln Leu Ser Lys Tyr Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser
 850 855 860
 Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Lys Asn Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn
 865 870 875 880
 Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Ala Ser
 885 890 895
 Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Asp Lys Asn
 900 905 910
 Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile Glu Val Ile Leu
 915 920 925
 Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser
 930 935 940
 Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn
 945 950 955 960
 Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val
 965 970 975
 Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu
 980 985 990
 Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser
 995 1000 1005
 Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu
 1010 1015 1020
 Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro
 1025 1030 1035 1040
 Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys
 1045 1050 1055
 Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe
 1060 1065 1070
 Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr
 1075 1080 1085
 Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr
 1090 1095 1100
 Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn
 1105 1110 1115 1120
 Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu
 1125 1130 1135
 Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser
 1140 1145 1150
 Ser Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly
 1155 1160 1165
 Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val
 1170 1175 1180
 Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala
 1185 1190 1195 1200
 Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn
 1205 1210 1215
 Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr
 1220 1225 1230
 Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly
 1235 1240 1245
 Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser
 1250 1255 1260
 Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys
 1265 1270 1275 1280
 Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu
 1285 1290 1295
 Lys Val Asp Lys Leu Ala Ala Ala Leu Glu His His His His His His
 1300 1305 1310

<210> 528

<211> 3921

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> ADN que codifica un BoNT/A-TEV con una etiqueta HIS

<400> 528

```

atgccgttcg taaacaaaca gttcaactat aaagacccag tcaacggcgt ggacattgcc 60
tatatcaaaa tcccgaatgc ggggtcaaag cagcccggtg aagcatttaa aatccataac 120
aaaattttggg tgatcccgga gcgcgatacg ttcacgaacc cgaagaagg agatttaaac 180
ccaccgcctg agggtaaaca ggtcccggtg tcttactatg atagcacata cctgagtacc 240
gacaatgaaa aggacaacta cctgaaagggt gttaccaaac tgctcgagcg catttattcg 300
acagatctcg gtcgcatgtt gctgacttct attgtgcgcg gcattccggt ttgggggtggt 360
agcaccatcg atacagaact caaagtgatt gacaccaact gcatcaatgt gattcagcct 420
gatgggagct accggtccga agagcttaac ctcgtaatca ttggcccgag cgcggatatt 480
atccaattcg aatgtaaatc ttttgggcat gaagtcctga atctgacgag gaatggctat 540
ggatcgacgc agtatattcg tttttctcca gatttcacat ttggatttga agaaagcctc 600
gaagttgata cgaacctctt tttaggcgcg ggaaaattcg cgacggaccc agcgggtgacc 660
ttggcacatg aacttattca tgccgggcat cgcttgtagt gaatcgccat taaccggaac 720
cgtgttttca aggtgaatac gaacgcgtat tacgagatgt cgggcttaga agtgtccttt 780
gaagaactgc gcacgtttgg cgtcatgat gcaaaattta ttgatagtct gcaagaaaac 840
gaatttcggc tgtattatta caataaatc aaagacattg catcaacctt aaacaaggcg 900
aaaagcattg tgggtaccac ggctagctta caatatatga aaaacgtttt caaagaaaaa 960
tacctcctta gcgaagacac ttccggcaaa ttctctgtcg ataaactgaa atttgataaa 1020
ctgtataaaa tgctcacoga gatctacaca gaggataact ttgtcaaatt cttcaagggtc 1080
ttgaatcgga aaacctatct gaacttcgat aaagccgtct ttaagatcaa catcgtaaccg 1140
aaagttaact acaccatcta tgatggcttt aatctgcgca atacgaatct ggccggcgaa 1200
tttaacggcc agaaccacca aatcaacaac atgaacttta cttaactgaa aaattttacc 1260
ggcttggttg aattctataa gctcctgtgt gtccgcggta ttatcaccag caaaggcgggt 1320
gggtctggcg gtggtgaaaa cctgtacttc cagggcgggtg gctccgggtg ttggtgcgctc 1380
aatgatttat gcataaagg gtacacactgg gacttggttt tctctccatc tgaagataat 1440
tttactaacg acttgaacaa aggagaggaa attacttccg ataccaacat cgaagcagcg 1500
gaagagaata ttagtctaga tcttattcaa caatattacc tgacctttaa ttttgataac 1560
gagcctgaga acatttccat tgagaatctc agctctgaca tcatcgcca gctggaactg 1620
atgccgaata tcgaacgctt tcctaattga aagaaatag aattggacaa ataccaccatg 1680
ttccactatc tccgcgcgca ggagtttgag cacggcaagt ctcgatttgc tctgaccaat 1740
tcggtaaaacg aagccctttt aaatccttcg cgtgtgtaca cctttttctc aagcgattat 1800
gttaaaaaag tgaacaaggc gaccgaagcg gcgatgtttt tgggatgggt ggaacaactg 1860
gtatatgact ttacggatga aacttctgaa gtctcgacca ccgacaaaat tgccgatatt 1920
accattatca ttccctatat tggccctgca ctgaacattg gtaacatgct gtataaagat 1980
gattttgtgg gcgcctgat cttttcaggc gctgttatcc tgctggaatt tatcccgaa 2040
atcgccattc cagtactcgg tacctttgcg ctggtgtcct atatcgcaa caaagttttg 2100
actgtccaga cgatcgacaa cgcgctcagt aaacgtaacg aaaaatggga tgaggtgtat 2160
aagtatattg ttaccaactg gctcgctaaa gtaaacaccc agattgacct gattcgcaag 2220
aagatgaaaag aagcgctgga aaaccaagca gaagcgacca aagctattat caactatcaa 2280
tataaccagt acacagagga agaaaagaat aacatcaact tcaacatcga cgacttatct 2340
tcaaagctga atgaatctat taacaaagcg atgattaata ttaacaagtt cttgaaccaa 2400
tgtagtgtca gctatctgat gaactcgatg atcccttacg gtgtgaaacg tctggaagac 2460
ttcgatgcaa gccttaaaga tgcccttctg aagtatattt acgataatcg cggaactcct 2520
attggccaag tggatcgctt aaaagataaa gtcaacaaca cgctgagtag agacatccct 2580
tttcagctgt ctaaatatgt ggacaatcag cgcctgctgt ccacgtttac ggaatacatc 2640
aaaaacatca tcaacactag tattctgaac ttgcgttacg agagtaacca tctgattgat 2700

```

```

ctgagccggtt acgcatctaa aatcaacatc ggatccaagg tgaacttcga tcctatcgac 2760
aaaaaccaga ttcaattggtt caacttagaa tcgtcaaaga ttgaagttat cttaaaaaat 2820
gcgattgtat ataattcaat gtacgaaaat ttctctacga gcttttggat tcgtattccg 2880
aaatatattca acagtatctc tttaaacaac gagtatacta tcatcaattg tatggagaat 2940
aacagcgggtt ggaaagtgag ccttaactat ggtgaaatca tctggactct gcaggacact 3000
caagaaatta aacaacgcgt ggtgttttaa tactcacaga tgattaacat ctccgattat 3060
attaatcgct ggatttttgt gacaattact aacaaccggc tgaacaacag caaaatttac 3120
attaacggctc gcctgatcga tcagaaacca atcagtaatc tcggtaacat tcacgcatcg 3180
aataatatca tgttcaaact ggatggttgt cgcgacacgc accgttacat ttggatcaaa 3240
tacttcaatt tattcgacaa agaactcaac gaaaaggaga ttaaggatct ttatgacaat 3300
cagtctaatt cgggtattct gaaagacttt tggggtgatt accttcagta cgataaaccg 3360
tattatatgt taaacttata tgatccgaat aaatacgttg acgtcaacaa cgttggcatt 3420
cgtggctata tgtatctgaa agggccgcgt ggcagcgtga tgaccactaa cattactta 3480
aactcctccc tctatcgctg tactaaattt attatcaaga aatatgcctc tggcaacaag 3540
gacaatatcg tacgcaataa cgatcgctgc tacattaacg tgggtggtgaa gaataaagaa 3600
tatcgtctgg cgaccaatgc tagtcaggcg ggcgtggaga aaattctgtc tgcacttgaa 3660
atcccggatg tgggtaattt atcccaggtg gttgtgatga aaagtaaaaa tgaccaaggg 3720
atcaccaata aatgcaaaat gaatctgcaa gataacaacg gcaacgacat tggttttatc 3780
ggcttccacc aattcaataa tatcgcgaaa ctggtggcct caaattggta caaccgtcag 3840
attgagcgca gctcccgcac tttagctgt agctgggagt tcattccggt agatgacggg 3900
tggggagaac gccattgta a 3921

```

<210> 529

<211> 1306

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> BoNT/A-TEV con una etiqueta HIS

10

<400> 529

```

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

```

Phe	Ile	Asp	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Glu	Phe	Arg	Leu	Tyr	Tyr	Tyr	Asn
		275					280					285			
Lys	Phe	Lys	Asp	Ile	Ala	Ser	Thr	Leu	Asn	Lys	Ala	Lys	Ser	Ile	Val
		290				295					300				
Gly	Thr	Thr	Ala	Ser	Leu	Gln	Tyr	Met	Lys	Asn	Val	Phe	Lys	Glu	Lys
305					310					315					320
Tyr	Leu	Leu	Ser	Glu	Asp	Thr	Ser	Gly	Lys	Phe	Ser	Val	Asp	Lys	Leu
			325						330					335	
Lys	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Met	Leu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Thr	Glu	Asp
		340					345						350		
Asn	Phe	Val	Lys	Phe	Phe	Lys	Val	Leu	Asn	Arg	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
		355					360						365		
Phe	Asp	Lys	Ala	Val	Phe	Lys	Ile	Asn	Ile	Val	Pro	Lys	Val	Asn	Tyr
		370				375					380				
Thr	Ile	Tyr	Asp	Gly	Phe	Asn	Leu	Arg	Asn	Thr	Asn	Leu	Ala	Ala	Asn
385					390					395					400
Phe	Asn	Gly	Gln	Asn	Thr	Glu	Ile	Asn	Asn	Met	Asn	Phe	Thr	Lys	Leu
				405						410				415	
Lys	Asn	Phe	Thr	Gly	Leu	Phe	Glu	Phe	Tyr	Lys	Leu	Leu	Cys	Val	Arg
			420					425					430		
Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Asn	Leu
		435					440						445		
Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Cys
		450				455					460				
Ile	Lys	Val	Asn	Asn	Trp	Asp	Leu	Phe	Phe	Ser	Pro	Ser	Glu	Asp	Asn
465					470					475					480
Phe	Thr	Asn	Asp	Leu	Asn	Lys	Gly	Glu	Glu	Ile	Thr	Ser	Asp	Thr	Asn
			485							490				495	
Ile	Glu	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Ile	Ser	Leu	Asp	Leu	Ile	Gln	Gln	Tyr
			500					505					510		
Tyr	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		515				520						525			
Asn	Leu	Ser	Ser	Asp	Ile	Ile	Gly	Gln	Leu	Glu	Leu	Met	Pro	Asn	Ile
		530				535					540				
Glu	Arg	Phe	Pro	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Thr	Met
545					550					555					560
Phe	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	Gln	Glu	Phe	Glu	His	Gly	Lys	Ser	Arg	Ile
			565						570					575	
Ala	Leu	Thr	Asn	Ser	Val	Asn	Glu	Ala	Leu	Leu	Asn	Pro	Ser	Arg	Val
			580					585					590		
Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Asp	Tyr	Val	Lys	Lys	Val	Asn	Lys	Ala	Thr
		595					600					605			
Glu	Ala	Ala	Met	Phe	Leu	Gly	Trp	Val	Glu	Gln	Leu	Val	Tyr	Asp	Phe
		610				615					620				
Thr	Asp	Glu	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Thr	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile
625					630					635					640
Thr	Ile	Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Met
			645						650					655	
Leu	Tyr	Lys	Asp	Asp	Phe	Val	Gly	Ala	Leu	Ile	Phe	Ser	Gly	Ala	Val
			660				665						670		
Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Ile	Ala	Ile	Pro	Val	Leu	Gly	Thr
		675					680					685			
Phe	Ala	Leu	Val	Ser	Tyr	Ile	Ala	Asn	Lys	Val	Leu	Thr	Val	Gln	Thr
		690				695					700				
Ile	Asp	Asn	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Asn	Glu	Lys	Trp	Asp	Glu	Val	Tyr
705					710					715					720
Lys	Tyr	Ile	Val	Thr	Asn	Trp	Leu	Ala	Lys	Val	Asn	Thr	Gln	Ile	Asp
			725						730					735	
Leu	Ile	Arg	Lys	Lys	Met	Lys	Glu	Ala	Leu	Glu	Asn	Gln	Ala	Glu	Ala
		740						745					750		
Thr	Lys	Ala	Ile	Ile	Asn	Tyr	Gln	Tyr	Asn	Gln	Tyr	Thr	Glu	Glu	Glu
		755					760					765			
Lys	Asn	Asn	Ile	Asn	Phe	Asn	Ile	Asp	Asp	Leu	Ser	Ser	Lys	Leu	Asn
		770				775					780				
Glu	Ser	Ile	Asn	Lys	Ala	Met	Ile	Asn	Ile	Asn	Lys	Phe	Leu	Asn	Gln

```

785          790          795          800
Cys Ser Val Ser Tyr Leu Met Asn Ser Met Ile Pro Tyr Gly Val Lys
      805      810      815
Arg Leu Glu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Lys Asp Ala Leu Leu Lys Tyr
      820      825      830
Ile Tyr Asp Asn Arg Gly Thr Leu Ile Gly Gln Val Asp Arg Leu Lys
      835      840      845
Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Phe Gln Leu Ser
      850      855      860
Lys Tyr Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser Thr Phe Thr Glu Tyr Ile
865      870      875      880
Lys Asn Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Glu Ser Asn
      885      890      895
His Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser
      900      905      910
Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Asp Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn
      915      920      925
Leu Glu Ser Ser Lys Ile Glu Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr
930      935      940
Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro
945      950      955      960
Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn
      965      970      975
Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu
      980      985      990
Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val
995      1000      1005
Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp
1010      1015      1020
Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr
1025      1030      1035      1040
Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn
      1045      1050      1055
Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp
      1060      1065      1070
Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu
1075      1080      1085
Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn Ser
1090      1095      1100
Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp Lys Pro
1105      1110      1115      1120
Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn
      1125      1130      1135
Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser
1140      1145      1150
Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr
1155      1160      1165
Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile Val
1170      1175      1180
Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val Val Val Lys Asn Lys Glu
1185      1190      1195      1200
Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu
      1205      1210      1215
Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val
1220      1225      1230
Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn
1235      1240      1245
Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln
1250      1255      1260
Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln
1265      1270      1275      1280
Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro
      1285      1290      1295
Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu
1300      1305

```

<210> 530

<211> 3945

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN que codifica un BoNT/A que comprende Trombina (N880) y Trombina (D890)

10

<400> 530

atgccgttcg	taaacaaca	gttcaactat	aaagaccag	tcaacggcgt	ggacattgcc	60
tatatcaaaa	tccogaatgc	gggtcaaatg	cagccogtga	aagcatttaa	aatccataac	120
aaaatttggg	tgatcccgga	gcgcgatacg	ttcacgaacc	cggaagaagg	agattttaa	180
ccaccgcctg	aggctaaaca	gggtcccggtg	tcttactatg	atagcacata	cctgagtacc	240
gacaatgaaa	aggacaacta	cctgaaaagg	gttaccaaa	tggtcgcgag	catttattcg	300
acagatctcg	gtcgcgatgt	gctgacttct	attgtgcgag	gcattccgtt	ttgggggtgt	360
agcaccatcg	atacagaact	caaagtgtat	gacaccaact	gcatacaatg	gattcagcct	420
gatgggagct	accggtccga	agagcttaac	ctcgtaatac	ttggcccgag	cgcgcatatt	480
atccaattcg	aatgtaaatc	ttttgggcat	gaagtccgtg	atctgacgag	gaatggctat	540
ggatcgacgc	agtatattcg	ttttctcca	gatttcacat	ttggatttga	agaaagcctc	600
gaagtgtata	cgaaccctct	tttaggcgag	ggaaaattcg	cgacggaccc	agcggtgacc	660
ttggcacatg	aatctattca	tgccgggcat	cgcttgtatg	gaatcgccat	taacccgaa	720
cgtgttttca	aggtgaatac	gaacgcgtat	tacgagatgt	cggtgcttaga	agtgtccttt	780
gaagaactgc	gcacgttttg	cggtcatgat	gcaaaattta	ttgatagtct	gcaagaaaac	840
gaatttcggc	tgtactatta	caataaatc	aaagacattg	catcaacctt	aaacaaggcg	900
aaaagcattg	tgggtaccac	ggctagctta	caatatatga	aaaacgtttt	caaagaaaa	960
tacctcctta	gcgaagacac	ttccggcaaa	ttctctgtcg	ataaactgaa	atttgataaa	1020
ctgtataaaa	tgctcaccga	gatctacaca	gaggataact	ttgtcaaatt	cttcaaggtc	1080
ttgaatcgga	aaacctatct	gaacttcgat	aaagccgtct	ttaagatcaa	catcgtaccg	1140
aaagttaact	aacaccatcta	tgatggcttt	aatctgcgca	atacgaatct	ggcggcgaa	1200
tttaacggcc	agaacaccga	aatcaacaac	atgaacttta	ctaaactgaa	aaattttacc	1260
ggcttctgtt	aattctataa	gctcctgtgt	gtccgcggta	ttatcaccag	caaaggcggt	1320
ggttctggcg	gtgggtgaaa	cctgtacttc	caggggcggtg	gctccggtgg	tggtgcgctc	1380
aatgatttat	gcataaaggt	gaacaactgg	gacttgtttt	tctctccatc	tgaagataat	1440
tttactaacg	acttgaacaa	aggagaggaa	attacttccg	ataccaacat	cgaagcagcg	1500
gaagagaata	ttagtctaga	tcttattcaa	caatattacc	tgacctttaa	ttttgataac	1560
gagctcgaga	acatttccat	tgagaatctc	agctctgaca	tcatcgccca	gctggaactg	1620
atgccgaata	tgcgaagcgt	tcctaagtga	aagaaatag	aattggacaa	atacaccatg	1680
ttccactatc	tccgcgcgca	ggagtttgag	cacggcaagt	ctcgtattgc	tctgaccaat	1740
tccgtaaacg	aagccctttt	aaatccttcg	cggtgtgaca	cctttttctc	aagcgattat	1800
gttaaaaaag	tgaacaaggc	gaccgaagcg	gcgatgtttt	tgggatgggt	ggaacaactg	1860
gtatatgact	ttacggatga	aacttctgaa	gtctcgacca	ccgacaaaat	tgccgatatt	1920
accattatca	ttccctatca	tggtccctgca	ctgaacattg	gtaacatgct	gtataaagat	1980
gattttgtgg	gcgcgcctgat	cttttcaggc	gctgttatcc	tgctggaatt	tatcccgaa	2040
atcgccattc	cagtactcgg	tacctttgog	ctggtgtcct	atatcgcaa	caaagttttg	2100
actgtccaga	cgatcgacaa	cgcgctcagt	aaacgtaacg	aaaaatggga	tgaggtgtat	2160
aagtatatgt	ttaccaactg	gctcgctaaa	gtaaacaccc	agattgacct	gattcgcaag	2220
aagatgaaag	aagcgctgga	aaaccaagca	gaagcgacca	aagctattat	caactatcaa	2280
tataaccagt	acacagagga	agaaaaaat	aacatcaact	tcaacatcga	cgacttatct	2340
tcaaagctga	atgaatctat	taacaaagcg	atgattaata	ttaacaagtt	cttgaaccaa	2400
tgtagtgtca	gctatctgat	gaactcgatg	atcccttaacg	gtgtgaaacg	tctggaagac	2460
ttcgatgcaa	gccttaaaga	tgcccttctg	aagtataatt	acgataatcg	cggaactcct	2520
attggccaag	tgtatcgctt	aaaagataaa	gtcaacaaca	cgctgagtac	agacatccct	2580
tttcagctgt	ctaaatatgt	ggacaatcag	cgctgctgt	ccacgtttac	ggaatacatc	2640
aaaaacatca	tcaacactag	tattctgaac	ctggtgccgc	gtggctccta	cgagagtaac	2700
catctgattg	atctgggtgc	gcgtggcagc	cgttacgcac	ctaaaatcaa	catcggatcc	2760
aaggtgaact	tcgatccctat	cgacaaaaac	cagattcaat	tgttcaactt	agaatcgtca	2820
aagatttgaag	ttatctttaa	aatgcgattt	gtatataatt	caatgtacga	aaattttctc	2880
acgagctttt	ggattcgtat	tccgaatat	ttcaacagta	tctcttttaa	caacgagtat	2940
actatcatca	attgtatgga	gaataacagc	gggtggaaag	tgagccttaa	ctatggtgaa	3000
atcatctgga	ctctgcagga	cactcaagaa	attaaacaac	gcgtggtgtt	taaatactca	3060
cgatgtgatta	acatctccga	ttatattaat	cgctggattt	ttgtgacaat	tactaacaac	3120
cggtcgaaac	acagcaaaaat	ttacattaac	ggctgcctga	tcgatcagaa	accaatcagt	3180
aatctcggtg	acattcacgc	atcgaataat	atcatgttca	aactggatgg	ttgtcgcgac	3240
acgcaccggt	acatttggtg	caaatacttc	aatttattcg	acaaagaact	caacgaaaag	3300
gagattaagg	atctttatga	caatcagttc	aattcgggtg	ttctgaaaga	cttttggggt	3360
gattaccctc	agtacgataa	accgtattat	atgttaaact	tatatgatcc	gaataaatac	3420
gttgacgtca	acaacggttg	cattcgcggc	tatatgtatc	tgaaggggcc	gcgtggcagc	3480
gtgatgacca	ctaacattta	cttaaaactc	tccctctatc	gcggtactaa	atttattatc	3540
aagaaatatg	cctctggcaa	caaggacaat	atcgtacgca	ataacgatcg	cgtctacatt	3600
aacgtgggtg	tgaagaataa	agaatatcgt	ctggcgacca	atgctagtca	ggcgggogtg	3660
gagaaaattc	tgtctgcact	tgaaatcccg	gatgtgggta	atttatccca	gggtgttgtg	3720
atgaaaagta	aaaatgacca	agggatcacc	aataaatgca	aatgaatctc	gcaagataac	3780
aacggcaacg	acattgggtt	tatcggttcc	caccaattca	ataatatcgc	gaagcttgtg	3840
gcctcaaat	ggtacaacog	tcagattgag	cgagctccc	gcactttaag	ctgtagctgg	3900
gagttcattc	cggtagatga	cggttgggga	gaacgcccat	tgtaa		3945

<210> 531
 <211> 1314
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> BoNT/A que comprende Trombina (N880) y Trombina (D890)

5 <400> 531

```

Met Pro Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
 1          5          10          15
Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Ala Gly Gln Met Gln Pro
 20          25          30
Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
 35          40          45
Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
 50          55          60
Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
 65          70          75          80
Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
 85          90          95
Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100          105          110
Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115          120          125
Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130          135          140
Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile
145          150          155          160
Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165          170          175
Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180          185          190
Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195          200          205
Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210          215          220
Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn
225          230          235          240
Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245          250          255
Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260          265          270
Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn
275          280          285
Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290          295          300
Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305          310          315          320
Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu

```

ES 2 813 650 T3

					325					330					335	
Lys	Phe	Asp	Lys	Leu	Tyr	Lys	Met	Leu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Thr	Glu	Asp	
			340					345					350			
Asn	Phe	Val	Lys	Phe	Phe	Lys	Val	Leu	Asn	Arg	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	
		355					360					365				
Phe	Asp	Lys	Ala	Val	Phe	Lys	Ile	Asn	Ile	Val	Pro	Lys	Val	Asn	Tyr	
		370				375					380					
Thr	Ile	Tyr	Asp	Gly	Phe	Asn	Leu	Arg	Asn	Thr	Asn	Leu	Ala	Ala	Asn	
385					390					395					400	
Phe	Asn	Gly	Gln	Asn	Thr	Glu	Ile	Asn	Asn	Met	Asn	Phe	Thr	Lys	Leu	
				405					410					415		
Lys	Asn	Phe	Thr	Gly	Leu	Phe	Glu	Phe	Tyr	Lys	Leu	Leu	Cys	Val	Arg	
			420					425					430			
Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Asn	Leu	
		435				440						445				
Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Cys	
		450				455					460					
Ile	Lys	Val	Asn	Asn	Trp	Asp	Leu	Phe	Phe	Ser	Pro	Ser	Glu	Asp	Asn	
465					470					475					480	
Phe	Thr	Asn	Asp	Leu	Asn	Lys	Gly	Glu	Glu	Ile	Thr	Ser	Asp	Thr	Asn	
				485					490					495		
Ile	Glu	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Ile	Ser	Leu	Asp	Leu	Ile	Gln	Gln	Tyr	
			500					505					510			
Tyr	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu	
		515				520						525				
Asn	Leu	Ser	Ser	Asp	Ile	Ile	Gly	Gln	Leu	Glu	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	
		530				535					540					
Glu	Arg	Phe	Pro	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Thr	Met	
545					550					555					560	
Phe	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	Gln	Glu	Phe	Glu	His	Gly	Lys	Ser	Arg	Ile	
				565					570					575		
Ala	Leu	Thr	Asn	Ser	Val	Asn	Glu	Ala	Leu	Leu	Asn	Pro	Ser	Arg	Val	
			580					585				590				
Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Asp	Tyr	Val	Lys	Lys	Val	Asn	Lys	Ala	Thr	
		595				600						605				
Glu	Ala	Ala	Met	Phe	Leu	Gly	Trp	Val	Glu	Gln	Leu	Val	Tyr	Asp	Phe	
		610				615					620					
Thr	Asp	Glu	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Thr	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	
625					630					635					640	
Thr	Ile	Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Met	
				645					650					655		
Leu	Tyr	Lys	Asp	Asp	Phe	Val	Gly	Ala	Leu	Ile	Phe	Ser	Gly	Ala	Val	
			660													

ES 2 813 650 T3

Asp Lys Val Asn Asn Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Phe Gln Leu Ser
 850 855 860
 Lys Tyr Val Asp Asn Gln Arg Leu Leu Ser Thr Phe Thr Glu Tyr Ile
 865 870 875 880
 Lys Asn Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn Leu Val Pro Arg Gly Ser
 885 890 895
 Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Val Pro Arg Gly Ser Arg Tyr
 900 905 910
 Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Asp
 915 920 925
 Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile Glu Val
 930 935 940
 Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser
 945 950 955 960
 Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu
 965 970 975
 Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp
 980 985 990
 Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr
 995 1000 1005
 Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn
 1010 1015 1020
 Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn
 1025 1030 1035 1040
 Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln
 1045 1050 1055
 Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met
 1060 1065 1070
 Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys
 1075 1080 1085
 Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp
 1090 1095 1100
 Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly
 1105 1110 1115 1120
 Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp
 1125 1130 1135
 Pro Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met
 1140 1145 1150
 Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu
 1155 1160 1165
 Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala
 1170 1175 1180
 Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile
 1185 1190 1195 1200
 Asn Val Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser
 1205 1210 1215
 Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val
 1220 1225 1230
 Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly
 1235 1240 1245
 Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp
 1250 1255 1260
 Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val
 1265 1270 1275 1280
 Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu
 1285 1290 1295
 Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg
 1300 1305 1310
 Pro Leu

<210> 532
 <211> 3945
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> ADN que codifica un BoNT/A que comprende FXa (N872) y Trombina (E884)

<400> 532

atgccgttcg	taaacaaaca	gttcaactat	aaagaccag	tcaacggcgt	ggacattgcc	60
tatatcaaaa	tcccgaatgc	gggtcaaatg	cagcccgta	aagcatttaa	aatccataac	120
aaaatttggg	tgatcccga	gcgcgatacg	ttcacgaacc	cggaagaagg	agatttaaac	180
ccaccgcctg	aggctaaaca	gggtccgggtg	tcttactatg	atagcacata	cctgagtacc	240
gacaatgaaa	aggacaacta	cctgaaagggt	gttaccaaac	tggttcgagcg	catttattcg	300
acagatctcg	gtcgcgatgtt	gctgacttct	attgtgcgcg	gcattccggtt	ttgggggtggt	360
agcaccatcg	atacagaact	caaagtgtatt	gacaccaact	gcatcaatgt	gattcagcct	420
gatgggagct	accgggtccga	agagcttaac	ctcgtaatca	ttggcccag	cgcggtatatt	480
atccaattcg	aatgtaaatc	ttttgggcat	gaagtccctga	atctgacgcg	gaatggctat	540
ggatcgagcg	agtatattcg	ttttctcca	gatttcacat	ttggatttga	agaaagcctc	600
gaagttgata	cgaaccctct	tttaggcgcg	ggaaaattcg	cgacggaccc	agcgggtgacc	660
ttggcacatg	aacttattca	tgccgggcat	cgcttgtatg	gaatcgccat	taacccgaac	720
cgtgttttca	aggtgaatac	gaacgcgtat	tacgagatgt	cggtgcttaga	agtgtccttt	780
gaagaactgc	gcacgttttg	cggtcatgat	gcaaaattta	ttgatagtct	gcaagaaaaac	840
gaatttcggc	tgtactatta	caataaattc	aaagacattg	catcaacctt	aaacaaggcg	900
aaaagcattg	tgggtaccac	ggctagctta	caatatatga	aaaacgtttt	caaagaaaaa	960
tacctcctta	gcgaagacac	ttccggcaaa	ttctctgtcg	ataaactgaa	atttgataaa	1020
ctgtataaaa	tgtccaccga	gatctacaca	gaggataaact	ttgtcaaatt	cttcaagggtc	1080
ttgaatcgga	aaacctatct	gaacttcgat	aaagccgtct	ttaagatcaa	catcgtaccg	1140
aaagttaact	acaccatcta	tgatggcttt	aactctgcga	atacgaatct	ggcggcggaac	1200
tttaacggcc	agaacaccga	aatcaacaac	atgaacttta	ctaaactgaa	aaattttacc	1260
ggcttgtttg	aattctataa	gctcctgtgt	gtccgcggta	ttatcaccag	caaaggcgggt	1320
ggttctggcg	gtggtgaaaa	cctgtacttc	cagggcggtg	gctccggtgg	tggtgcgctc	1380
aatgatttat	gcatcaagggt	gaacaactgg	gacttgtttt	tctctccatc	tgaagataat	1440
tttactaacg	acttgaacaa	aggagaggaa	attacttccg	ataccaacat	cgaagcagcg	1500
gaagagaata	ttagtctaga	tcttattcaa	caatattacc	tgacctttaa	ttttgataac	1560
gagcctgaga	acatttccat	tgagaatctc	agctctgaca	tcatcggccca	gctggaactg	1620
atgccgaata	tccaacgcct	tcctaattgga	aagaaatatg	aattggacaa	atacaccatg	1680
ttccactatc	tccgcgcgca	ggagtgtgag	cacggcaagt	ctcgtattgc	tctgaccaat	1740
tccgtaaaacg	aagccctttt	aaatccttgc	cgtgtgtaca	cctttttctc	aagcgattat	1800
gttaaaaaag	tgaacaaggc	gaccgaagcg	gcgatgtttt	tggtggtgggt	ggaacaactg	1860
gtatatgact	ttacggatga	aacttctgaa	gtctcgacca	ccgacaaaat	tgccgatatt	1920
accattatca	ttccctatat	tggccctgca	ctgaacattg	gtaacatgct	gtataaagat	1980
gatttttgtgg	gcgcctgat	cttttcaggc	cgtgttatcc	tgctggaatt	tatcccggaa	2040
atcgccattc	cagtactcgg	tacctttgcg	ctggtgtcct	atatcgcaaa	caaagttttg	2100
actgtccaga	cgatcgacaa	cgcgctcagt	aaacgtaacg	aaaaatggga	tgaggtgtat	2160
aagtatattg	ttaccaactg	gctcgctaaa	gtaaacaccc	agattgacct	gattcgcaag	2220
aagatgaaag	aagcgctgga	aaaccaagca	gaagcgacca	aagctattat	caactatcaa	2280
tataaacagt	acacagagga	agaaaagaat	aacatcaact	tcaacatcga	cgacttatct	2340
tcaaagctga	atgaatctat	taacaaagcg	atgattaata	ttaacaagtt	cttgaaccaa	2400
tgtagtgtca	gctatctgat	gaactcgatg	atcccttacg	gtgtgaaacg	tctggaagac	2460
ttcgatgcaa	gccttaaaga	tgcccttctg	aagtatatat	acgataatcg	cggaactcct	2520
attggccaag	tggatcgctt	aaaagataaa	gtcaacaaca	cgctgagtac	agacatccct	2580
tttcagctgt	ctaaatatgt	ggacaatcag	cgctgctgt	ccacgtttac	ggaatcacatc	2640
aaaaacattg	agggccgtat	caacactagt	attctgaact	tgcggttacga	gttggtgcca	2700
cgcggttcta	accatctgat	tgatctgagc	cgttacgcgt	ctaaaatcaa	catcggtacc	2760
aagtggaact	tcgatcctat	cgacaaaaac	cagattcaat	tgttcaactt	agaatcgctca	2820
aagattgaag	ttatcttaaa	aatgcgatt	gtatataatt	caatgtacga	aaatttctct	2880
acgagctttt	ggattcgtat	tccgaaatat	ttcaacagta	tctcttttaa	caacgagtat	2940
actatcatca	attgtatgga	gaataacagc	gggtggaag	tgagccttaa	ctatggtgaa	3000
atcatctgga	ctctgcagga	cactcaagaa	attaaacaac	gcgtggtgtt	taaatactca	3060
cagatgaata	acatctcga	ttatattaac	cgctggattt	ttgtgacaat	tactaacacg	3120
cggctgaaca	acagcctaat	ttacattaac	gctcgcctga	tcgatcagaa	accaatcagt	3180
aatctcggtg	acatttcacg	atcgaataat	atcatgttca	aactggatgg	ttgtcgcgac	3240
acgcaccgtt	acatttggat	caaatacttc	aatttattcg	acaaagaact	caacgaaaag	3300
gagattaaag	atctttatga	caatcagttc	aattcgggta	ttctgaaaag	cttttgggggt	3360
gattaccttc	agtacgataa	accgtattat	atgttaaact	tatatgatcc	gaataaatac	3420
gttgacgtca	acaacgtttg	cattcgcggc	tatatgtatc	tgaaagggcc	gcgtggcagc	3480
gtgatgacca	ctaactatta	cttaaaactcc	tcctctatc	gcggtactaa	atttattatc	3540
aagaaatatg	cctctggcaa	caaggacaat	atcgtacgca	ataacgatcg	cgtctacatt	3600
aacgtggtgg	tgaagaataa	agaatatcgt	ctggcgacca	atgctagtca	ggcggcggtg	3660
gagaaaattc	tgtctgcact	tgaaatcccg	gatgtgggta	atttatccca	ggtggttggtg	3720
atgaaaagta	aaaatgacca	agggatcacc	aataaatgca	aaatgaatct	gcaagataac	3780
aacggcaacg	acatttgggtt	tatcggtctc	caccaattca	ataatatcgc	gaagcttggtg	3840
gcctcaaatt	ggtacaacg	tcagattgag	cgagctccc	gcacttagag	ctgtagctgg	3900
gagttcattc	cggtagatga	cggttgggga	gaacgcccat	tgtaa		3945

<210> 533
<211> 1314
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> BoNT/A que comprende FXa (N872) y Trombina (E884)

5

<400> 533

```

Met Pro Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
 1      5      10      15
Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Ala Gly Gln Met Gln Pro
 20      25      30
Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
 35      40      45
Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
 50      55      60
Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
 65      70      75      80
Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
 85      90      95
Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100      105      110
Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115      120      125
Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130      135      140
Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile
145      150      155      160
Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165      170      175
Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180      185      190
Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195      200      205
Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210      215      220
Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn
225      230      235      240
Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245      250      255
Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260      265      270
Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn
275      280      285
Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290      295      300
Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305      310      315      320
Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu
325      330      335
Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
340      345      350
Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
355      360      365
Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Lys Val Asn Tyr

```

370	375	380
Thr Ile Tyr Asp Gly Phe	Asn Leu Arg Asn Thr	Asn Leu Ala Ala Asn
385	390	395
Phe Asn Gly Gln Asn Thr	Glu Ile Asn Asn Met Asn	Phe Thr Lys Leu
	405	410
Lys Asn Phe Thr Gly Leu	Phe Glu Phe Tyr Lys	Leu Leu Cys Val Arg
	420	425
Gly Ile Ile Thr Ser Lys	Gly Gly Ser Gly Gly	Gly Glu Asn Leu
	435	440
Tyr Phe Gln Gly Gly Gly	Ser Gly Gly Gly Ala	Leu Asn Asp Leu Cys
	450	455
Ile Lys Val Asn Asn Trp	Asp Leu Phe Phe Ser	Pro Ser Glu Asp Asn
465	470	475
Phe Thr Asn Asp Leu Asn	Lys Gly Glu Glu Ile	Thr Ser Asp Thr Asn
	485	490
Ile Glu Ala Ala Glu Glu	Asn Ile Ser Leu Asp	Leu Ile Gln Gln Tyr
	500	505
Tyr Leu Thr Phe Asn Phe	Asp Asn Glu Pro Glu	Asn Ile Ser Ile Glu
	515	520
Asn Leu Ser Ser Asp Ile	Ile Ile Gly Gln Leu	Glu Leu Met Pro Asn Ile
	530	535
Glu Arg Phe Pro Asn Gly	Lys Lys Tyr Glu Leu	Asp Lys Tyr Thr Met
545	550	555
Phe His Tyr Leu Arg Ala	Gln Glu Phe Glu His	Gly Lys Ser Arg Ile
	565	570
Ala Leu Thr Asn Ser Val	Asn Glu Ala Leu Leu	Asn Pro Ser Arg Val
	580	585
Tyr Thr Phe Phe Ser Ser	Asp Tyr Val Lys Lys	Val Asn Lys Ala Thr
	595	600
Glu Ala Ala Met Phe Leu	Gly Trp Val Glu Gln	Leu Val Tyr Asp Phe
	610	615
Thr Asp Glu Thr Ser Glu	Val Ser Thr Thr Asp	Lys Ile Ala Asp Ile
625	630	635
Thr Ile Ile Ile Pro Tyr	Ile Gly Pro Ala Leu	Asn Ile Gly Asn Met
	645	650
Leu Tyr Lys Asp Asp Phe	Val Gly Ala Leu Ile	Phe Ser Gly Ala Val
	660	665
Ile Leu Leu Glu Phe Ile	Pro Glu Ile Ala Ile	Pro Val Leu Gly Thr
	675	680
Phe Ala Leu Val Ser Tyr	Ile Ala Asn Lys Val	Leu Thr Val Gln Thr
	690	695
Ile Asp Asn Ala Leu Ser	Lys Arg Asn Glu Lys	Trp Asp Glu Val Tyr
705	710	715
Lys Tyr Ile Val Thr Asn	Trp Leu Ala Lys Val	Asn Thr Gln Ile Asp
	725	730
Leu Ile Arg Lys Lys Met	Lys Glu Ala Leu Glu	Asn Gln Ala Glu Ala
	740	745
Thr Lys Ala Ile Ile Asn	Tyr Gln Tyr Asn Gln	Tyr Thr Glu Glu Glu
	755	760
Lys Asn Asn Ile Asn Phe	Asn Ile Asp Asp Leu	Ser Ser Lys Leu Asn
	770	775
Glu Ser Ile Asn Lys Ala	Met Ile Asn Ile Asn	Lys Phe Leu Asn Gln
785	790	795
Cys Ser Val Ser Tyr Leu	Met Asn Ser Met Ile	Pro Tyr Gly Val Lys
	805	810
Arg Leu Glu Asp Phe Asp	Ala Ser Leu Lys Asp	Ala Leu Leu Lys Tyr
	820	825
Ile Tyr Asp Asn Arg Gly	Thr Leu Ile Gly Gln	Val Asp Arg Leu Lys
	835	840
Asp Lys Val Asn Asn Thr	Leu Ser Thr Asp Ile	Pro Phe Gln Leu Ser
	850	855
Lys Tyr Val Asp Asn Gln	Arg Leu Leu Ser Thr	Phe Thr Glu Tyr Ile
865	870	875
Lys Asn Ile Glu Gly Arg	Ile Asn Thr Ser Ile	Leu Asn Leu Arg Tyr
	885	890
		895

Glu Leu Val Pro Arg Gly Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser Arg Tyr
900 905 910
Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Asp
915 920 925
Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile Glu Val
930 935 940
Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn Phe Ser
945 950 955 960
Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu
965 970 975
Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp
980 985 990
Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr
995 1000 1005
Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn
1010 1015 1020
Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn
1025 1030 1035 1040
Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln
1045 1050 1055
Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met
1060 1065 1070
Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys
1075 1080 1085
Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp
1090 1095 1100
Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly
1105 1110 1115 1120
Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp
1125 1130 1135
Pro Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met
1140 1145 1150
Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu
1155 1160 1165
Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala
1170 1175 1180
Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile
1185 1190 1195 1200
Asn Val Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser
1205 1210 1215
Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val
1220 1225 1230
Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly
1235 1240 1245
Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp
1250 1255 1260
Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val
1265 1270 1275 1280
Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu
1285 1290 1295
Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg
1300 1305 1310
Pro Leu

<210> 534

<211> 3921

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN que codifica un BoNT/A que comprende MMP-9 (1870)

10

<400> 534

```

atgccgttcg taaacaaaca gttcaactat aaagacccag tcaacggcgt ggacattgcc 60
tatatcaaaa tcccgaaatgc ggtcaaatg cagccccgtga aagcatttaa aatccataac 120
aaaatttggg tgatcccgga ggcgatacgt ttcacgaacc cggaagaagg agatttaaac 180
ccaccgcctg aggctaaaca ggtcccggtg tcttactatg atagcacata cctgagtacc 240
gacaatgaaa aggacaacta cctgaaagggt gttaccaaac tggtcgagcg catttattcg 300
acagatctcg gtccgatgtt gctgacttct attgtgcgog gcatcccggt ttgggggtgg 360
agcaccatcg atacagaact caaagtgatt gacaccaact gcatcaatgt gattcagcct 420
gatgggagct accgggtccga agagcttaac ctcgtaatca ttggcccgag cgcggatatt 480
atccaattcg aatgtaaatc ttttgggcat gaagtccctga atctgacgog gaatggctat 540
ggatcgagcg agtatattcg tttttctcca gatttcacat ttggatttga agaaagcctc 600
gaagttgata cgaaccctct tttaggcgog ggaaaattcg cgacggaccc agcggtgacc 660
ttggcacatg aacttattca tgcggggcat cgcttgatg gaatcgccat taaccggaac 720
cgtgttttca agtgaaatc gaacgcgtat tacgagatgt cgggcttaga agtgtccttt 780
gaagaactgc gcacgtttg cgtcatgat gcaaaattta ttgatagtct gcaagaaaac 840
gaatttccgc tgtactatta caataaattc aaagacattg catcaacctt aaacaaggcg 900
aaaagcattg tgggtaccac ggctagctta caatatatga aaaacgtttt caaagaaaaa 960
tacctcctta gcgaagacac ttccggcaaa ttctctgtcg ataaactgaa atttgataaa 1020
ctgtataaaa tgctcaccga gatctacaca gaggataaact ttgtcaaat cttcaaggtc 1080
ttgaatcgga aaacctatct gaacttcgat aaagccgtct ttaagatcaa catcgtaccg 1140
aaagttaact acaccatcta tgatggcttt aatctgcgca atacgaatct ggccggcgac 1200
tttaacggcc agaacaccga aatcaacaac atgaacttta ctaaaactgaa aaattttacc 1260
ggcttggttg aattctataa cctctgtgtg gtccgcggtg ttatcaccag caaaggcggt 1320
gggtctgtcg gtggtgaaaa cctgtacttc cagggcggtg gctccggtgg ttggtcgctc 1380
aatgatttat gcatcaaggt gaacaactgg gacttgcttt tctctccatc tgaagataat 1440
tttactaacg acttgaacaa aggagaggaa attacttcog ataccaacat cgaagcagcg 1500
gaagagaata ttagtctaga tcttattcaa caatattacc tgacctttaa ttttgataac 1560
gagcctgaga acatttccat tgagaatctc agctctgaca tcatcgccca gctggaaactg 1620
atgccgaata tcgaacgctt tctaataatg aagaaatatg aattggacaa ataccaccatg 1680
ttccactatc tccgcgcgca ggagtttgag cacggcaagt ctogtattgc tctgaccaat 1740
tcggtaaacg aagccctttt aaatccttcg cgtgtgtaca cctttttctc aagcgattat 1800
gttaaaaaag tgaacaaggc gaccgaagcg gogatgtttt tgggatgggt ggaacaactg 1860
gtatatgact ttacggatga aacttctgaa gtctcgacca ccgacaaaat tgccgattat 1920
accattatca ttcctatat ctgcccgtgca ctgaacattg gtaacatgct gtataaagat 1980
gattttgtgg gcgcctgat cttttcaggc gctgttatcc tgctggaatt tatccggaa 2040
atcgccattc cagtactcgg taccttttgcg ctggtgtcct atatcgcaa caaagttttg 2100
actgtccaga cgatcgacaa cgcgctcagt aaacgtaacg aaaaatggga tgaggtgat 2160
aagtattatg ttaccaactg gctcgctaaa gtaaacaccc agatttgacct gattcgcaag 2220
aagatgaaag aagcgctgga aaaccaagca gaagcgacca aagctattat caactatcaa 2280
tataaccagt acacagagga agaaaagaat aacatcaact tcaacatcga cgacttatct 2340
tcaaagctga atgaatctat taacaaagcg atgattaata ttaacaagtt cttgaaccaa 2400
tgtagtgtca gactatcgat gaactcgatg atcccttacg gtgtgaaacg tctggaagac 2460
ttcgatgcaa gccttaaaaga tgcccttctg aagtatattt acgataatcg cggaactctt 2520
attggccaag tggatcgctt aaaagataaa gtcaacaaca cgctgagtac agacatccct 2580
tttcagctgt ctaaatatgt ggacaatcag cgctgctgt ccacgtttac ggaatacatc 2640
ggtccactgg gtctgtgggc acagctgaac ttgcgttacg agagtaacca tctgattgat 2700
ctgagccgtt acgcatctaa aatcaacatc ggatccaagg tgaacttoga tctatcgac 2760
aaaaaccaga ttcaattgtt caacttagaa togtcaaaga ttgaagtatt cttaaaaaat 2820
gcgattgtat ataattcaat gtacgaaaat ttctctacga gcttttggat tctgattccg 2880
aaatatttca acagtatctc tttaaacaac gagtatacta tcatcaattg tatggagaat 2940
aacagcggtt ggaagtgag ccttaactat ggtgaaatca tctggactct gcaggacact 3000
caagaaatta aacaacgcgt ggtgtttaaa tactcacaga tgattaacat ctoggattat 3060
attaatcgct ggatttttgt gacaattact aacaaccggc tgaacaacag caaaatttac 3120
attaacggtc gcctgatcga tcagaaacca atcagtaatc tcggtaacat tcacgcacg 3180
aataatata tggtcaaaact ggaatggtgt cgcgacacgc accgttacat ttggatcaaa 3240
tacttcaatt tattcgacaa agaactcaac gaaaaggaga ttaaggatct ttatgacaat 3300
cagtctaatt cgggtattct gaaagacttt tggggtgatt accttcagta cgataaaccg 3360
tattatatgt taaacttata tgatccgaat aaatacgttg acgtcaacaa cgttggcatt 3420
cgcggtctata tgatctgaa agggcccgct ggcagcggtg tgaccactaa catttactta 3480
aactcctccc tctatcgcg tactaaattt attatcaaga aatatgcctc tggcaacaag 3540
gacaatatcg tacgcaataa cgatcgctgc tacattaacg tgggtggtgaa gaataaagaa 3600
tatcgtctgg cgaccaatgc tagtcaggcg ggcgtggaga aaattctgtc tgcacttgaa 3660
atcccggtat tgggtaattt atcccagtg gttgtgatga aaagtaaaaa tgaccaaggg 3720
atcacaata aatgcaaaat gaatctgcaa gataacaacg gcaacgacat tgggtttatc 3780
ggcttccacc aattcaataa tatcggaag cttgtggcct caaattggta caaccgtcag 3840
attgagcgca gctccgcac tttaggctgt agctgggagt tcattccggg agatgacgg 3900
tggggagaa gcccattgta a
3921

```

<210> 535
 <211> 1306
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> BoNT/A que comprende MMP-9 (I870)

<400> 535

Met 1	Pro	Phe	Val	Asn 5	Lys	Gln	Phe	Asn 10	Tyr	Lys	Asp	Pro	Val	Asn 15	Gly
Val	Asp	Ile	Ala 20	Tyr	Ile	Lys	Ile	Pro 25	Asn	Ala	Gly	Gln	Met 30	Gln	Pro
Val	Lys	Ala 35	Phe	Lys	Ile	His	Asn 40	Lys	Ile	Trp	Val	Ile 45	Pro	Glu	Arg
Asp	Thr 50	Phe	Thr	Asn	Pro	Glu 55	Glu	Gly	Asp	Leu	Asn 60	Pro	Pro	Pro	Glu
Ala 65	Lys	Gln	Val	Pro	Val 70	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Ser 75	Thr	Tyr	Leu	Ser	Thr 80
Asp	Asn	Glu	Lys	Asp 85	Asn	Tyr	Leu	Lys	Gly 90	Val	Thr	Lys	Leu	Phe 95	Glu
Arg	Ile	Tyr 100	Ser	Thr	Asp	Leu	Gly	Arg 105	Met	Leu	Leu	Thr	Ser 110	Ile	Val
Arg	Gly	Ile 115	Pro	Phe	Trp	Gly	Gly 120	Ser	Thr	Ile	Asp	Thr 125	Glu	Leu	Lys
Val 130	Ile	Asp	Thr	Asn	Cys 135	Ile	Asn	Val	Ile	Gln	Pro 140	Asp	Gly	Ser	Tyr
Arg 145	Ser	Glu	Glu	Leu	Asn 150	Leu	Val	Ile	Ile	Gly	Pro 155	Ser	Ala	Asp	Ile 160
Ile	Gln	Phe	Glu	Cys 165	Lys	Ser	Phe	Gly	His 170	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Thr 175
Arg	Asn	Gly 180	Tyr	Gly	Ser	Thr	Gln	Tyr 185	Ile	Arg	Phe	Ser	Pro 190	Asp	Phe
Thr	Phe 195	Gly	Phe	Glu	Glu	Ser	Leu 200	Glu	Val	Asp	Thr	Asn 205	Pro	Leu	Leu
Gly 210	Ala	Gly	Lys	Phe	Ala 215	Thr	Asp	Pro	Ala	Val	Thr 220	Leu	Ala	His	Glu
Leu 225	Ile	His	Ala	Gly	His 230	Arg	Leu	Tyr	Gly	Ile 235	Ala	Ile	Asn	Pro	Asn 240
Arg	Val	Phe	Lys	Val 245	Asn	Thr	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Glu	Met	Ser	Gly	Leu 255
Glu	Val	Ser	Phe 260	Glu	Glu	Leu	Arg	Thr 265	Phe	Gly	Gly	His	Asp 270	Ala	Lys
Phe	Ile 275	Asp	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn 280	Glu	Phe	Arg	Leu	Tyr 285	Tyr	Tyr	Asn
Lys	Phe 290	Lys	Asp	Ile	Ala 295	Ser	Thr	Leu	Asn	Lys	Ala 300	Lys	Ser	Ile	Val
Gly 305	Thr	Thr	Ala	Ser	Leu 310	Gln	Tyr	Met	Lys	Asn 315	Val	Phe	Lys	Glu	Lys 320
Tyr	Leu	Leu	Ser	Glu 325	Asp	Thr	Ser	Gly	Lys 330	Phe	Ser	Val	Asp	Lys	Leu 335
Lys	Phe	Asp	Lys 340	Leu	Tyr	Lys	Met	Leu 345	Thr	Glu	Ile	Tyr	Thr 350	Glu	Asp
Asn	Phe 355	Val	Lys	Phe	Phe	Lys	Val 360	Leu	Asn	Arg	Lys	Thr 365	Tyr	Leu	Asn
Phe 370	Asp	Lys	Ala	Val	Phe 375	Lys	Ile	Asn	Ile	Val	Pro 380	Lys	Val	Asn	Tyr
Thr 385	Ile	Tyr	Asp	Gly	Phe 390	Asn	Leu	Arg	Asn	Thr 395	Asn	Leu	Ala	Ala	Asn 400
Phe	Asn	Gly	Gln	Asn 405	Thr	Glu	Ile	Asn	Asn 410	Met	Asn	Phe	Thr	Lys	Leu 415
Lys	Asn	Phe 420	Thr	Gly	Leu	Phe	Glu	Phe 425	Tyr	Lys	Leu	Leu	Cys 430	Val	Arg

ES 2 813 650 T3

Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Asn	Leu
		435						440				445			
Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Cys
		450					455				460				
Ile	Lys	Val	Asn	Asn	Trp	Asp	Leu	Phe	Phe	Ser	Pro	Ser	Glu	Asp	Asn
		465				470				475					480
Phe	Thr	Asn	Asp	Leu	Asn	Lys	Gly	Glu	Glu	Ile	Thr	Ser	Asp	Thr	Asn
				485					490					495	
Ile	Glu	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Ile	Ser	Leu	Asp	Leu	Ile	Gln	Gln	Tyr
			500					505					510		
Tyr	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		515					520					525			
Asn	Leu	Ser	Ser	Asp	Ile	Ile	Gly	Gln	Leu	Glu	Leu	Met	Pro	Asn	Ile
		530				535					540				
Glu	Arg	Phe	Pro	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Thr	Met
		545			550					555					560
Phe	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	Gln	Glu	Phe	Glu	His	Gly	Lys	Ser	Arg	Ile
				565					570					575	
Ala	Leu	Thr	Asn	Ser	Val	Asn	Glu	Ala	Leu	Leu	Asn	Pro	Ser	Arg	Val
				580				585					590		
Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Asp	Tyr	Val	Lys	Lys	Val	Asn	Lys	Ala	Thr
		595					600					605			
Glu	Ala	Ala	Met	Phe	Leu	Gly	Trp	Val	Glu	Gln	Leu	Val	Tyr	Asp	Phe
		610				615					620				
Thr	Asp	Glu	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Thr	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile
		625			630					635					640
Thr	Ile	Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Met
				645					650					655	
Leu	Tyr	Lys	Asp	Asp	Phe	Val	Gly	Ala	Leu	Ile	Phe	Ser	Gly	Ala	Val
			660				665						670		
Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Ile	Ala	Ile	Pro	Val	Leu	Gly	Thr
		675					680					685			
Phe	Ala	Leu	Val	Ser	Tyr	Ile	Ala	Asn	Lys	Val	Leu	Thr	Val	Gln	Thr
		690				695					700				
Ile	Asp	Asn	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Asn	Glu	Lys	Trp	Asp	Glu	Val	Tyr
		705			710					715					720
Lys	Tyr	Ile	Val	Thr	Asn	Trp	Leu	Ala	Lys	Val	Asn	Thr	Gln	Ile	Asp
				725					730					735	
Leu	Ile	Arg	Lys	Lys	Met	Lys	Glu	Ala	Leu	Glu	Asn	Gln	Ala	Glu	Ala
			740					745					750		
Thr	Lys	Ala	Ile	Ile	Asn	Tyr	Gln	Tyr	Asn	Gln	Tyr	Thr	Glu	Glu	Glu
		755					760					765			
Lys	Asn	Asn	Ile	Asn	Phe	Asn	Ile	Asp	Asp	Leu	Ser	Ser	Lys	Leu	Asn
		770				775					780				
Glu	Ser	Ile	Asn	Lys	Ala	Met	Ile	Asn	Ile	Asn	Lys	Phe	Leu	Asn	Gln
		785			790					795					800
Cys	Ser	Val	Ser	Tyr	Leu	Met	Asn	Ser	Met	Ile	Pro	Tyr	Gly	Val	Lys
				805					810					815	
Arg	Leu	Glu	Asp	Phe	Asp	Ala	Ser	Leu	Lys	Asp	Ala	Leu	Leu	Lys	Tyr
			820				825					830			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Arg	Gly	Thr	Leu	Ile	Gly	Gln	Val	Asp	Arg	Leu	Lys
		835					840					845			
Asp	Lys	Val	Asn	Asn	Thr	Leu	Ser	Thr	Asp	Ile	Pro	Phe	Gln	Leu	Ser
		850				855					860				
Lys	Tyr	Val	Asp	Asn	Gln	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Thr	Glu	Tyr	Ile
		865			870					875					880
Gly	Pro	Leu	Gly	Leu	Trp	Ala	Gln	Leu	Asn	Leu	Arg	Tyr	Glu	Ser	Asn
				885					890					895	
His	Leu	Ile	Asp	Leu	Ser	Arg	Tyr	Ala	Ser	Lys	Ile	Asn	Ile	Gly	Ser
			900					905					910		
Lys	Val	Asn	Phe	Asp	Pro	Ile	Asp	Lys	Asn	Gln	Ile	Gln	Leu	Phe	Asn
		915					920					925			
Leu	Glu	Ser	Ser	Lys	Ile	Glu	Val	Ile	Leu	Lys	Asn	Ala	Ile	Val	Tyr
		930				935						940			
Asn	Ser	Met	Tyr	Glu	Asn	Phe	Ser	Thr	Ser	Phe	Trp	Ile	Arg	Ile	Pro


```

945          950          955          960
Lys Tyr Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn
Cys Met Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu
Ile Ile Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val
Phe Lys Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp
Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr
Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn
Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp
Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu
Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn Ser
Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp Lys Pro
Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn
Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser
Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr
Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile Val
Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val Val Val Lys Asn Lys Glu
Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu
Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val
Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn
Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln
Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln
Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro
Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu

```

<210> 536

<211> 3916

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADN que codifica BoNT/A que comprende Fxa (N872)

10

<400> 536

```

... ..
atgccgttcg taaacaaaca gttcaactat aaagacccag tcaacggcgt ggacattgcc 60
tatatcaaaa tcccgaatgc gggcacaatg cagcccgatg aagcatTTaa aatccataac 120
aaaatttggg tgatcccga ggcgatacgt ttcacgaacc cggaagaagg agattttaa 180
ccaccgcctg aggctaaaca ggtcccgggtg tcttactatg atagcacata cctgagtacc 240
gacaatgaaa aggacaacta cctgaaagggt gttaccaaac tgttcgagcg catTTattcg 300
acagatctcg gtcgcatgtt gctgacttct attgtgcgcg gcattccggt ttgggggtgg 360
agcaccatcg atacagaact caaagtgatt gacaccaact gcatcaatgt gattcagcct 420
gatgggagct accggtccga agagcttaac ctcgtaatca ttggcccag cgcggatatt 480
atccaattcg aatgtaaata ttttggggcat gaagtcctga atctgacgcg gaatggctat 540

```

```

ggatcgacgc agtatattcg tttttctcca gatttcacat ttggatttga agaaagcctc 600
gaagttgata cgaaccctct tttaggcgcg ggaatttcg cgacggaccc agcgtgacc 660
ttggcacatg aacttattca tgccggcgcat cgcttgatg gaatcgccat taaccogaac 720
cgtgttttca aggtgaatac gaacgcgatg tacgagatgt cgggcttaga agtgtccttt 780
gaagaactgc gcacgtttgg cggtcgatg gcaaaattta ttgatagtct gcaagaaaac 840
gaatttcggc tgtactatta caataaattc aaagacattg catcaacctt aaacaaggcg 900
aaaagcattg tgggtaccac ggctagctta caatatatga aaaacgtttt caaagaaaaa 960
tacctcctta gcgaagacac ttccggcaaa ttctctgtcg ataaactgaa atttgataaa 1020
ctgtataaaa tgctcaccga gatctacaca gaggataact ttgtcaaatt cttcaagggtc 1080
ttgaatcgga aaacctatct gaacttcgat aaagccgtct ttaagatcaa catcgtaccg 1140
aaagttaact acaccatcta tgatggcttt aatctgcgca atacgaatct ggcggcggaac 1200
tttaacggcc agaaccaccga aatcaacaac atgaacttta cttaaactgaa aaattttacc 1260
ggcttggttg aattctataa gctcctgtgt gtccggcgta ttatcaccag caaaggcggt 1320
ggttctggcg gtgggtgaaaa cctgtacttc caggcggtg gctccggtgg tgggtcgctc 1380
aatgatttat gcatacaggt gaacaactgg gacttggttt tctctccatc tgaagataat 1440
tttactaacg acttgaacaa aggagaggaa attacttccg ataccaacat cgaagcagcg 1500
gaagagaata ttagtctaga tcttattcaa caatattacc tgacctttaa ttttgataac 1560
gagcctgaga acatttccat tgagaatctc agctctgaca tcatcgcca gctggaactg 1620
atgccgaata tcgaacgctt tcctaattgga aagaaatag aattggacaa atacaccatg 1680
ttccactatc tcgcgcgcga ggagtttgag caggccaagt ctcgtattgc tctgaccaat 1740
tcggtaaacg aagccctttt aaatccttcg cgtgtgtaca cctttttctc aagcgattat 1800
gttaaaaaag tgaacaaggc gaccgaagcg gcgatgtttt tgggatgggt ggaacaactg 1860
gtatatgact ttacggatga aacttctgaa gtctcgacca ccgacaaaat tgccgatatt 1920
accattatca ttccctatat tggccctgca ctgaacattg gtaacatgct gtataaagat 1980
gattttgtgg gcgcctgat cttttcaggg gctgttatcc tgotggaatt tatcccgga 2040
atcgccattc cagtactcgg tacctttgcg ctggtgtcct atatcgcaa caaagttttg 2100
actgtccaga cgatcgacaa cgcgctcagt aaacgtaacg aaaaatggga tgaggtgtat 2160
aagtatatgt ttaccaactg gctcgtaaa gtaaacaccc agattgacct gattcgcaag 2220
aagatgaaa ggcgcgtgga aaaccaagca gaagcgacca aagctattat caactatcaa 2280
tataaccagt acacagagga agaaaagaat aacatcaact tcaacatcga cgacttatct 2340
tcaaaagctg atgaatctat taacaaagcg atgattaata ttaacaagtt cttgaaccaa 2400
tgtagtgtca gctatctgat gaactcgatg atcccttacg gtgtgaaacg tctggaagac 2460
ttcgatgcaa gccttaaaaga tgcccttctg aagtataatt acgataatcg cggaactctt 2520
attggccaag tggatcgctt aaagataaaa gtaacaaca cgctgagtac agacatccct 2580
tttcagctgt ctaaatatgt ggacaatcag cgctgctgt ccacgtttac ggaataacatc 2640
aaaaacattg agggccgtat caacactagt attctgatct aacctctga ttgatctgag 2700
ccgttacgca tctaaaatca acatcggatc caaggtgaac ttgatccta tcgacaaaaa 2760
ccagattcaa ttgttcaact tagaatcgtc aaagattgaa gttatcttaa aaaatgcgat 2820
tgtatataat tcaatgtacg aaaatttctc tacgagcttt tggattcgta ttccgaaata 2880
tttcaacagt atctctttaa acaacgagta tactatcatc aattgtatgg agaataacag 2940
cggttggaag gtgagcctta actatggtga aatcatctgg actctgcagg aactcaaga 3000
aattaaacaa cgcgtggtgt ttaataactc acagatgatt aacatctcgg attatattaa 3060
tcgctggatt ttgtgacaa ttactaacia ccggtgaac aacagcaaaa tttacattaa 3120
cggtcgctg atcgatcaga aaccaatcag taatctcgg aacattcacg catcgaataa 3180
tatcatgttc aaactggatg gttgtcgcga cagcaccgt tacatttggg tcaaataactt 3240
caatttattc gacaaagaac tcaacgaaaa ggagattaag gatctttatg acaatcagtc 3300
taattcgggt attctgaaag acttttgggg tgattacctt cagtaacgata aacogtatta 3360
tatgttaaac ttatatgatc cgaataaata cgttgacgtc aacaacgttg gcattcgcgg 3420
ctatatgtat ctgaaaggcg cgcggtggcg cgtgatgacc actaacattt acttaaaactc 3480
ctccctctat cgcggtacta aatttattat caagaaatat gcctctggca acaaggacaa 3540
tatcgtacgc aataacgatc gcgtctacat taacgtggtg gtgaagaata aagaatatcg 3600
tctggcgacc aatgctagtc aggcggcggt ggagaaaatt ctgtctgcac ttgaaatccc 3660
ggatgtgggt aatttatccc aggtggttgt gatgaaaagt aaaaatgacc aagggatcac 3720
caataaatgc aaaatgaatc tgcaagataa caacggcaac gacattggtt ttatcggtt 3780
ccaccaattc aataatatcg cgaagcttgt ggctcaaact tgggtacaacc gtcagattga 3840
gcgcagctcc cgcactttag gctgtagctg ggagttcatt ccggtagatg acggttgggg 3900
agaacgcccc ttgtaa 3916

```

<210> 537

<211> 1309

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> BoNT/A que comprende Fxa (N872)

<400> 537

```

Met Pro Phe Val Asn Lys Gln Phe Asn Tyr Lys Asp Pro Val Asn Gly
1      5      10      15
Val Asp Ile Ala Tyr Ile Lys Ile Pro Asn Ala Gly Gln Met Gln Pro
20      25      30
Val Lys Ala Phe Lys Ile His Asn Lys Ile Trp Val Ile Pro Glu Arg
35      40      45
Asp Thr Phe Thr Asn Pro Glu Gly Asp Leu Asn Pro Pro Pro Glu
50      55      60
Ala Lys Gln Val Pro Val Ser Tyr Tyr Asp Ser Thr Tyr Leu Ser Thr
65      70      75      80
Asp Asn Glu Lys Asp Asn Tyr Leu Lys Gly Val Thr Lys Leu Phe Glu
85      90      95
Arg Ile Tyr Ser Thr Asp Leu Gly Arg Met Leu Leu Thr Ser Ile Val
100     105     110
Arg Gly Ile Pro Phe Trp Gly Gly Ser Thr Ile Asp Thr Glu Leu Lys
115     120     125
Val Ile Asp Thr Asn Cys Ile Asn Val Ile Gln Pro Asp Gly Ser Tyr
130     135     140
Arg Ser Glu Glu Leu Asn Leu Val Ile Ile Gly Pro Ser Ala Asp Ile
145     150     155     160
Ile Gln Phe Glu Cys Lys Ser Phe Gly His Glu Val Leu Asn Leu Thr
165     170     175
Arg Asn Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Tyr Ile Arg Phe Ser Pro Asp Phe
180     185     190
Thr Phe Gly Phe Glu Glu Ser Leu Glu Val Asp Thr Asn Pro Leu Leu
195     200     205
Gly Ala Gly Lys Phe Ala Thr Asp Pro Ala Val Thr Leu Ala His Glu
210     215     220
Leu Ile His Ala Gly His Arg Leu Tyr Gly Ile Ala Ile Asn Pro Asn
225     230     235     240
Arg Val Phe Lys Val Asn Thr Asn Ala Tyr Tyr Glu Met Ser Gly Leu
245     250     255
Glu Val Ser Phe Glu Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly His Asp Ala Lys
260     265     270
Phe Ile Asp Ser Leu Gln Glu Asn Glu Phe Arg Leu Tyr Tyr Tyr Asn
275     280     285
Lys Phe Lys Asp Ile Ala Ser Thr Leu Asn Lys Ala Lys Ser Ile Val
290     295     300
Gly Thr Thr Ala Ser Leu Gln Tyr Met Lys Asn Val Phe Lys Glu Lys
305     310     315     320
Tyr Leu Leu Ser Glu Asp Thr Ser Gly Lys Phe Ser Val Asp Lys Leu
325     330     335
Lys Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Met Leu Thr Glu Ile Tyr Thr Glu Asp
340     345     350
Asn Phe Val Lys Phe Phe Lys Val Leu Asn Arg Lys Thr Tyr Leu Asn
355     360     365
Phe Asp Lys Ala Val Phe Lys Ile Asn Ile Val Pro Lys Val Asn Tyr
370     375     380
Thr Ile Tyr Asp Gly Phe Asn Leu Arg Asn Thr Asn Leu Ala Ala Asn
385     390     395     400
Phe Asn Gly Gln Asn Thr Glu Ile Asn Asn Met Asn Phe Thr Lys Leu
405     410     415
Lys Asn Phe Thr Gly Leu Phe Glu Phe Tyr Lys Leu Leu Cys Val Arg
420     425     430
Gly Ile Ile Thr Ser Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Glu Asn Leu
435     440     445
Tyr Phe Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Leu Asn Asp Leu Cys
450     455     460
Ile Lys Val Asn Asn Trp Asp Leu Phe Phe Ser Pro Ser Glu Asp Asn
465     470     475     480
Phe Thr Asn Asp Leu Asn Lys Gly Glu Glu Ile Thr Ser Asp Thr Asn
485     490     495
Ile Glu Ala Ala Glu Glu Asn Ile Ser Leu Asp Leu Ile Gln Gln Tyr

```

ES 2 813 650 T3

				500										505										510					
Tyr	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu	Asn	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		515					520					525													530				
Asn	Leu	Ser	Ser	Asp	Ile	Ile	Gly	Gln	Leu	Glu	Leu	Met	Pro	Asn	Ile	Asn	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		530				535					540														545				
Glu	Arg	Phe	Pro	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Thr	Met	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		545			550					555					560										565				
Phe	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	Gln	Glu	Phe	Glu	His	Gly	Lys	Ser	Arg	Ile	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
				565					570					575											580				
Ala	Leu	Thr	Asn	Ser	Val	Asn	Glu	Ala	Leu	Leu	Asn	Pro	Ser	Arg	Val	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
			580					585						590											595				
Tyr	Thr	Phe	Phe	Ser	Ser	Asp	Tyr	Val	Lys	Lys	Val	Asn	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		595					600					605													610				
Glu	Ala	Ala	Met	Phe	Leu	Gly	Trp	Val	Glu	Gln	Leu	Val	Tyr	Asp	Phe	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		610				615					620														625				
Thr	Asp	Glu	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Thr	Asp	Lys	Ile	Ala	Asp	Ile	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		625			630					635				640											645				
Thr	Ile	Ile	Ile	Pro	Tyr	Ile	Gly	Pro	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Asn	Met	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
				645					650					655											660				
Leu	Tyr	Lys	Asp	Asp	Phe	Val	Gly	Ala	Leu	Ile	Phe	Ser	Gly	Ala	Val	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
			660					665					670												675				
Ile	Leu	Leu	Glu	Phe	Ile	Pro	Glu	Ile	Ala	Ile	Pro	Val	Leu	Gly	Thr	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		675					680					685													690				
Phe	Ala	Leu	Val	Ser	Tyr	Ile	Ala	Asn	Lys	Val	Leu	Thr	Val	Gln	Thr	Glu	Leu	Thr	Phe	Asp	Asn	Glu	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ile	Glu
		690				695					700														705				
Ile																													

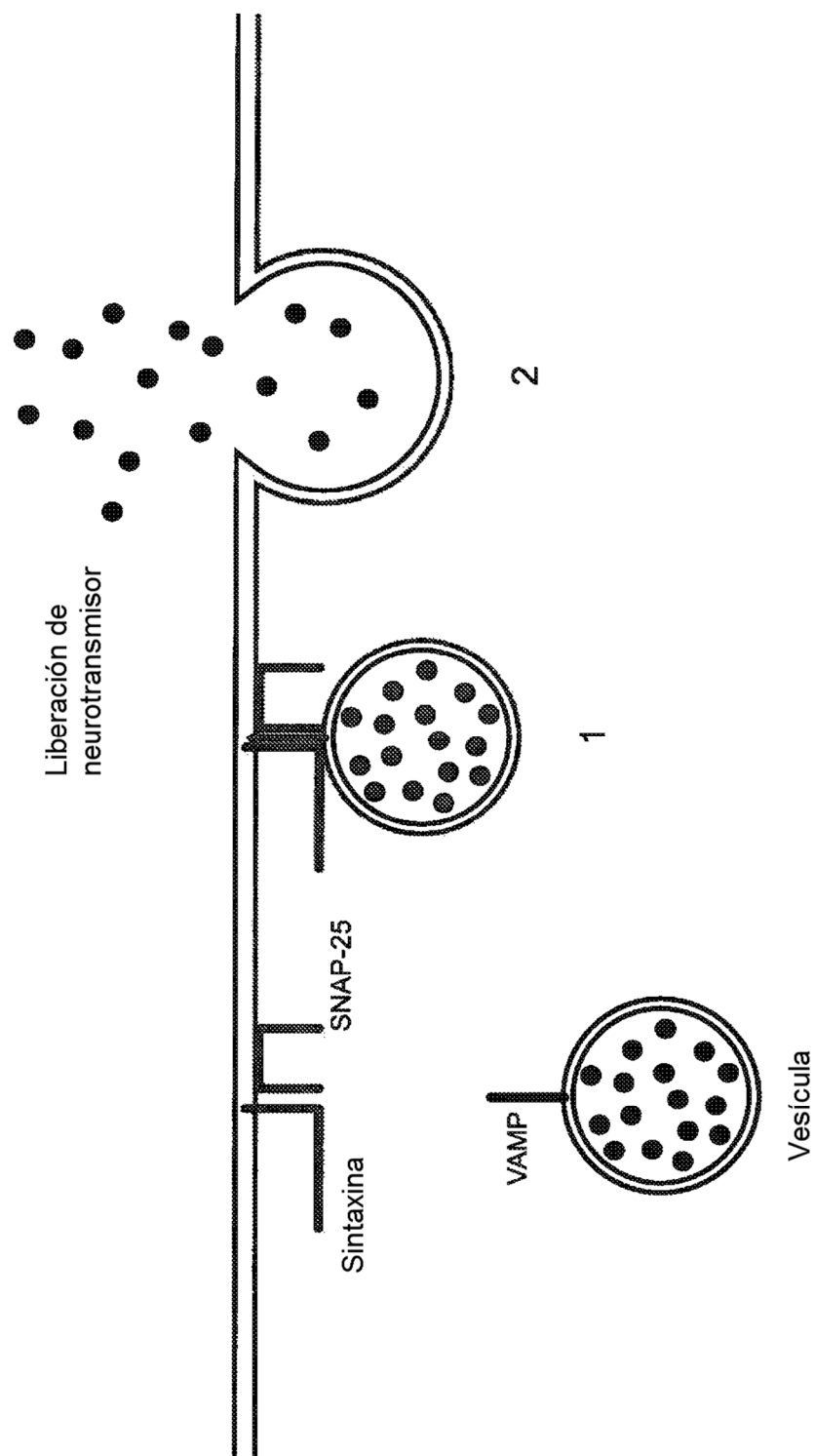
ES 2 813 650 T3

Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser		
1025	1030	1035 1040
Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn		
	1045	1050 1055
Leu Gly Asn Ile His Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly		
	1060	1065 1070
Cys Arg Asp Thr His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe		
	1075	1080 1085
Asp Lys Glu Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr Asp Asn Gln		
	1090	1095 1100
Ser Asn Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr Leu Gln Tyr		
1105	1110	1115 1120
Asp Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn Lys Tyr Val		
	1125	1130 1135
Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly Pro		
	1140	1145 1150
Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser Ser Leu Tyr		
	1155	1160 1165
Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly Asn Lys Asp		
	1170	1175 1180
Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val Val Val Lys		
1185	1190	1195 1200
Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala Gly Val Glu		
	1205	1210 1215
Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn Leu Ser Gln		
	1220	1225 1230
Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr Asn Lys Cys		
	1235	1240 1245
Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly Phe Ile Gly		
	1250	1255 1260
Phe His Gln Phe Asn Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser Asn Trp Tyr		
1265	1270	1275 1280
Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu		
	1285	1290 1295
Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu		
	1300	1305

REIVINDICACIONES

1. Una neurotoxina botulínica, en donde la neurotoxina botulínica comprende una variante de SEQ ID NO: 1, en donde dicha variante se caracteriza por un sitio de escisión de trombina doble en SEQ ID NO: 1, concretamente un primer sitio de escisión de trombina, en donde los aminoácidos VPRGS se han insertado después del aminoácido L en la posición 881 de SEQ ID NO: 1, y el sitio de escisión consiste por tanto en SEQ ID NO: 114, y un segundo sitio de escisión de trombina en donde los aminoácidos VPRG se han insertado después de L en la posición 891 en SEQ ID NO: 1, en donde la variante tiene actividad de neurotoxina botulínica.
2. Una molécula de polinucleótido, que codifica la toxina botulínica de la reivindicación 1.
3. Método de producción de la neurotoxina botulínica de la reivindicación 1, que comprende las etapas de : a. introducir en una célula la molécula de polinucleótido de la reivindicación 2; y b. expresar la molécula de polinucleótido, en donde la expresión de la molécula de polinucleótido produce la neurotoxina botulínica codificada.
4. El método de la reivindicación 3, en donde la célula es una célula de *Escherichia coli*.

FIG. 1A.



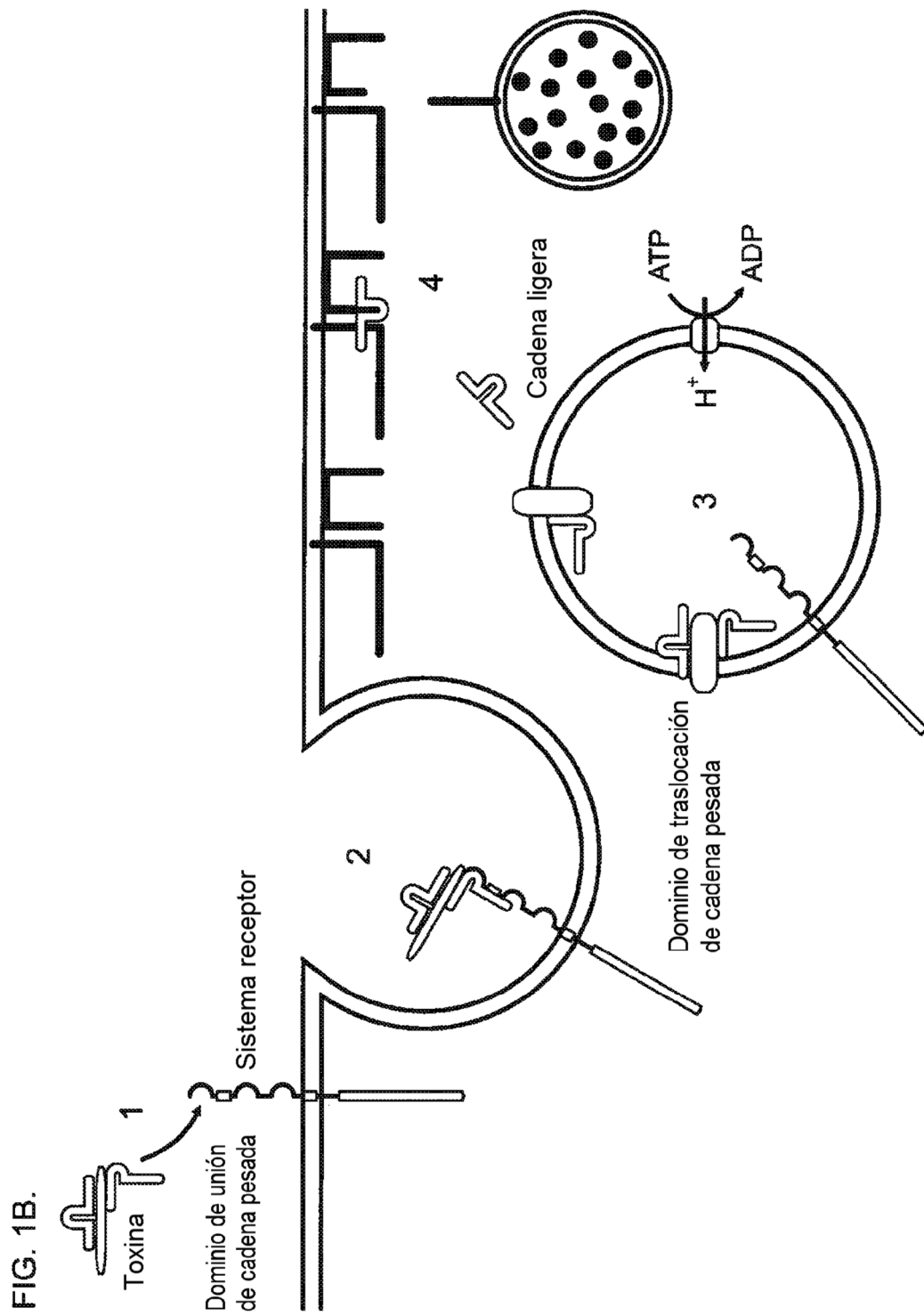


FIG. 2.

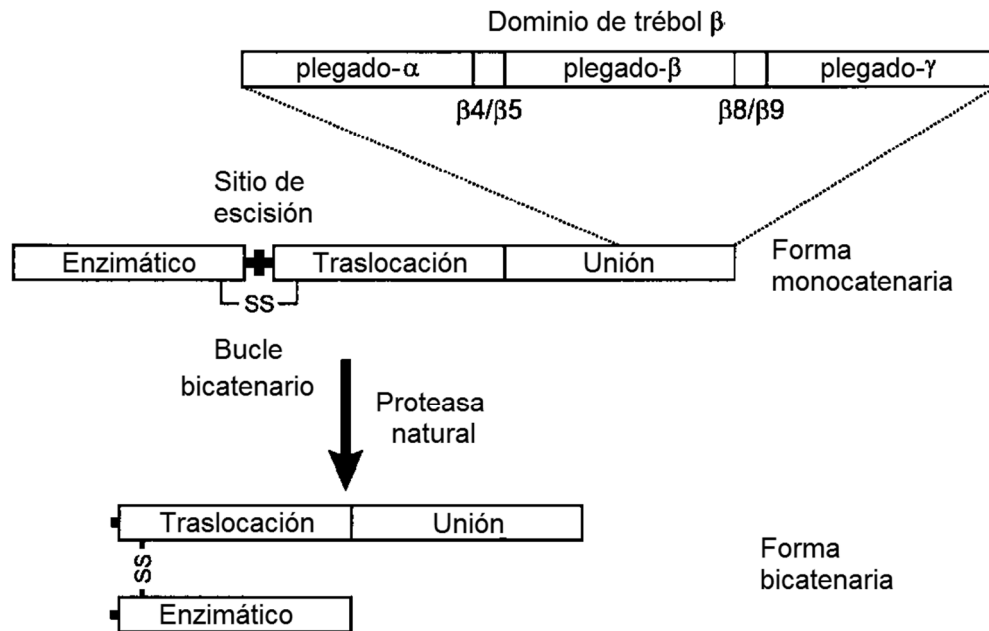


FIG. 3A.

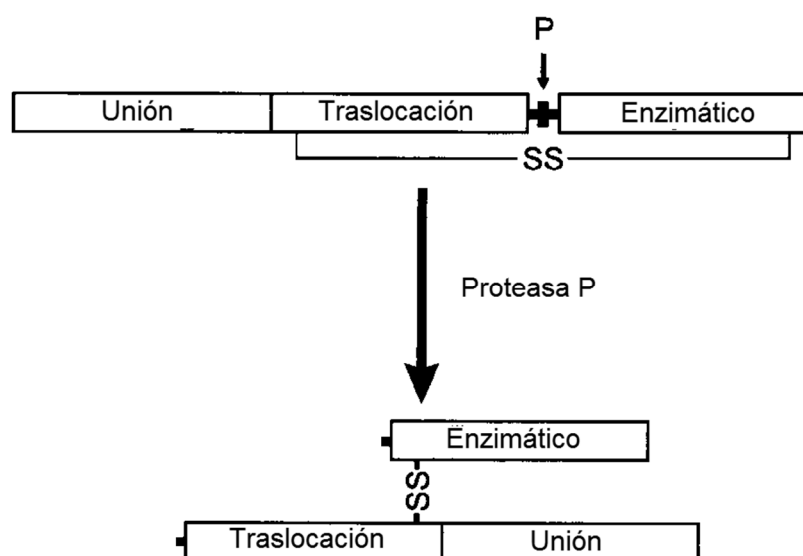


FIG. 3B.

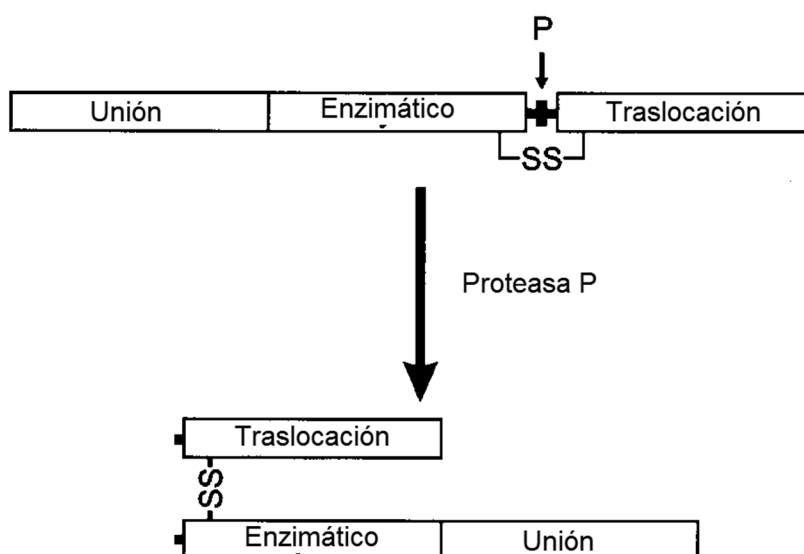


FIG. 4A.

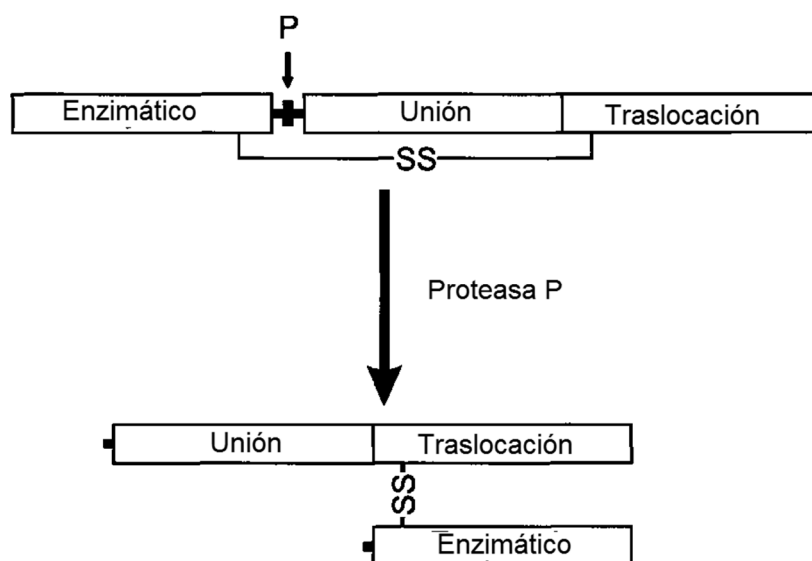


FIG. 4B.

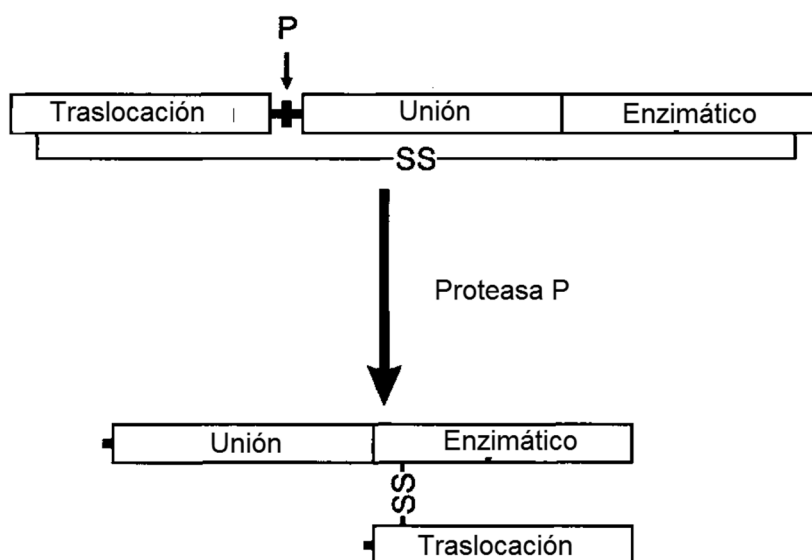


FIG. 4C.

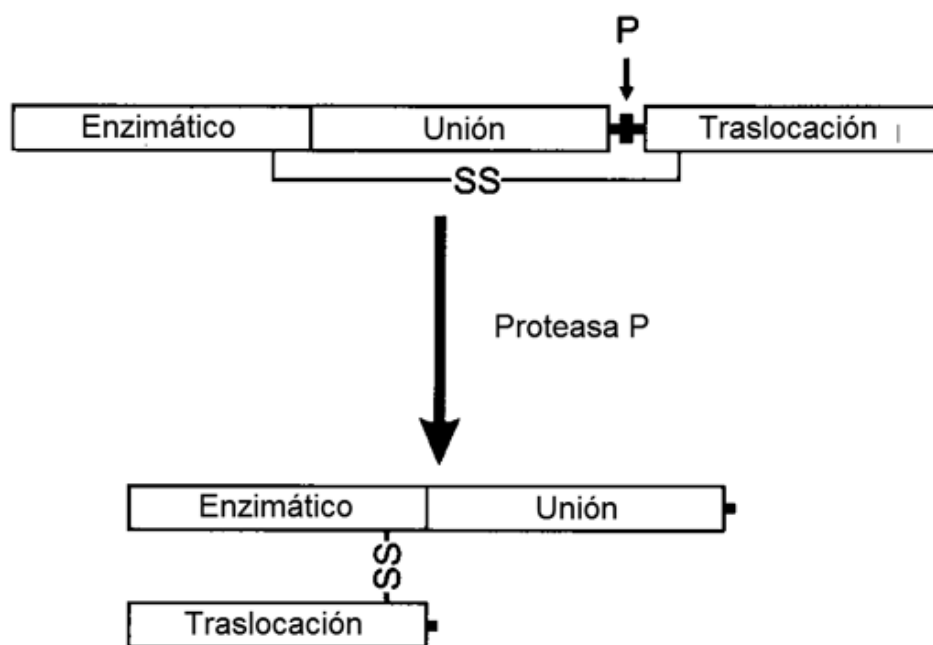


FIG. 4D.

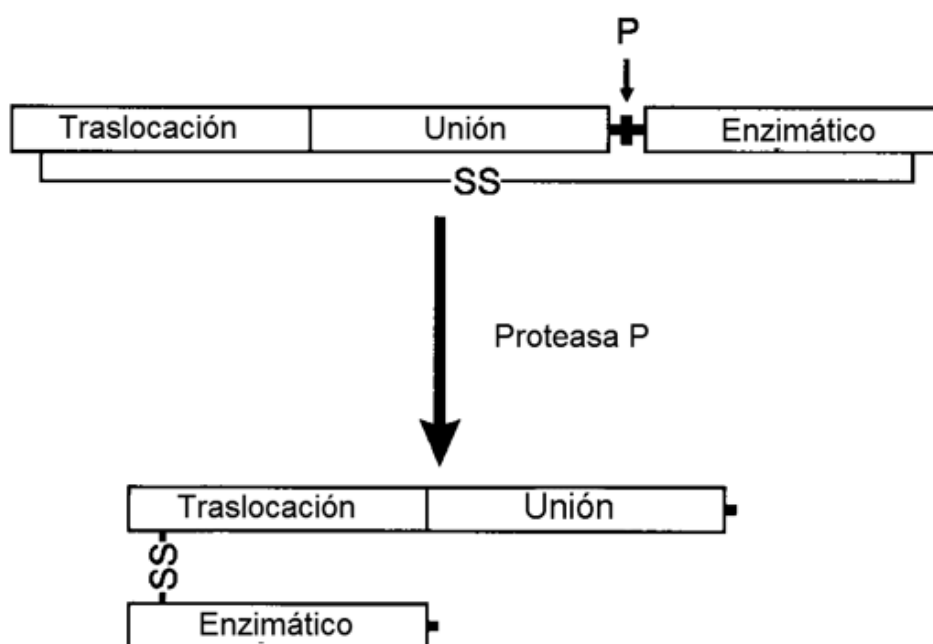


FIG. 5A.

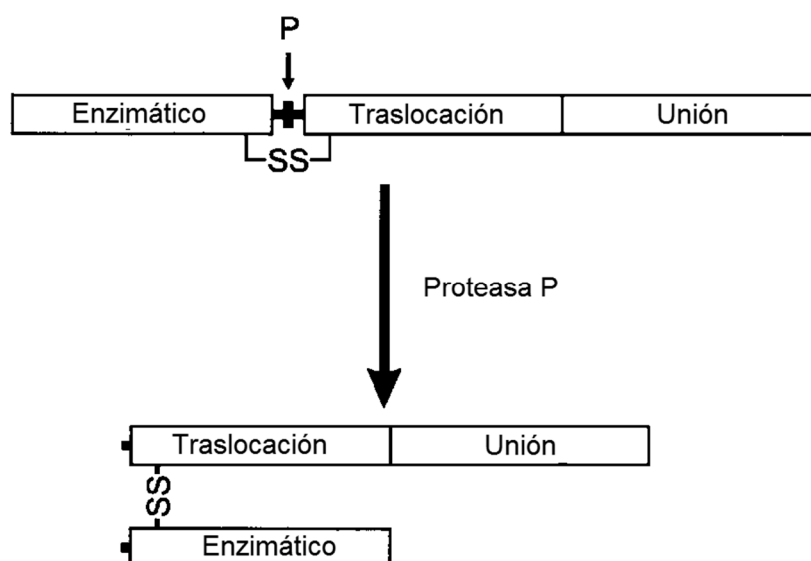


FIG. 5B.

