PCT

Industria y Comercio

SUPERINTE

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE Nº** 10-111097

54. **TÍTULO** CONTROL TEMPORAL IN VIVO DE ENZIMAS ACTIVABLES QUE DEGRADAN MATRIZ.

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** A6K 38/48

71. **SOLICITANTE** HALOZYME, INC.

DOMICILIO Belmont, California, Estados Unidos de América

74. **APODERADO** DILIA MARIA RODRIGUEZ D´ALEMAN

22. **BOGOTÁ, D.C.**

Titulo, Pado, C
06-10-2010

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:

[X] Patente de Invención [ ] Patente de Modelo de Utilidad

[ ] Capitulo I. [X] Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)	**Nombre**: **HALOZYME, INC.** **Dirección**: 2523 Carmelita Avenue, Belmont, California 94002, Estados Unidos de América. **Nacionalidad o domicilio**: Belmont, California, Estados Unidos de América. **Lugar de Constitución**: California, Estados Unidos de América. **Teléfono:** **Fax:** **E-mail**	**IDENTIFICACIÓN** **C.C.** [ ] **NIT** [ ] **C.E.** [ ] **Otro** [ ] **Número**
3 REPRESENTANTE O APODERADO (74)	Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D´ALEMAN Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6 Teléfono: 6 181088 Fax: 6350824 E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Número 41.654.882 TP 20824 CSJ
4 INVENTOR (ES) (72)	**Nombre: KELLER, Gilbert A. y FROST, Gregory I.** **Dirección:** 2523 Carmelita Avenue, Belmont, California 94002, Estados Unidos y 13662 Mercado Drive, Del Mar, California 92014, Estados Unidos. **Nacionalidad o domicilio:** Estadounidense	

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/US2009/001486** Fecha **06 de marzo de 2009**

Publicación Internacional No. **WO 2009/111083 A3** Fecha **11 de septiembre de 2009**

6 TITULO (54) **CONTROL TEMPORAL IN VIVO DE ENZIMAS ACTIVABLES QUE DEGRADAN MATRIZ.** C1309)

7 Clasificación Internacional (51) A61K 38/48

8 Prioridad SI [X] NO [ ]	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	Estados Unidos de América	**06 de marzo de 2008**	**61/068,667**
	Estados Unidos de América	**14 de mayo de 2008**	**61/127,725**

9 Comprobante de pago No. 10-71,026 // 10-71,027 // 10-71,076 // 10-63,173 // 10-52,600
Fecha 27/08/10 // 27/08/10 // 27/08/10 // 03/08/10 // 29/06/10

10 ANEXOS

- [ ] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- [ ] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- [ ] Poderes si fuere el caso
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- [ ] Declaraciones
- [ ] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [ ] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivíndicaciones, dibujos)
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- [ ] De ser el caso copia de contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- [ ] De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- [ ] Arte final 12 X 12 .
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- [ ] Otros *Request

11 FIGURA CARACTERÍSTICA

12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D´ALEMAN

FIRMA:

C.C. 41.654.882 **T.P. 20824**

As. P-2640

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 71,026
FECHA : AGOSTO 27 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353156554	26/08/2010	85,505,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	3 PROC. REGISTRO DE MARCAS Y LEMAS	706,000.00
		TOTAL : $	706,000.00

SON: SETECIENTOS SEIS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

2

P-2640

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 71,027
FECHA : AGOSTO 27 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353156554	26/08/2010	85,505,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	3 PROC. REGISTRO DE MARCAS Y LEMAS	706,000.00
		TOTAL : $	706,000.00

SON: SETECIENTOS SEIS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 71,076
FECHA : AGOSTO 27 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353156554	26/08/2010	85,505,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	500,000.00
		TOTAL : $	500,000.00

SON: QUINIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 63,173
FECHA : AGOSTO 3 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	380476084	02/08/2010	94,210,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	200,000.00
		TOTAL : $	200,000.00

SON: DOSCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 52,600
FECHA : JUNIO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-111097- -00000-0000

Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	325811511	28/06/2010	85,900,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS		2,000.00
		TOTAL :	$	2,000.00

SON: DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

6

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan métodos y combinaciones para controlar la duración de acción, *in vivo*, de enzimas que degradan matriz. Los métodos y combinaciones permiten la activación in vivo temporal de las enzimas que degradan matriz durante la administración a la matriz extracelular (o "ECM"). Las enzimas que degradan matriz que tienen una duración controlada de acción pueden usarse para tratar enfermedades o trastornos mediados por ECM caracterizados al incrementar la deposición o acumulación de uno o más componentes ECM.

CONTROL TEMPORAL IN VIVO DE ENZIMAS ACTIVABLES QUE DEGRADAN MATRIZ

SOLICITUDES RELACIONADAS

Se reivindica el beneficio de prioridad para la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/068,667, para Gilbert Keller and Gregory Frost, titulada "In Vivo Temporal Control of Activatable Matrix-Degrading Enzymes," presentada el 6 de marzo de 2008, y a la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/127,725, para Gilbert Keller and Gregory Frost, titulada "In Vivo Temporal Control of Activatable Matrix-Degrading Enzymes," presentada el 14 de mayo de 2008. Donde se permite, la materia objeto de las solicitudes arriba notadas se incorporan para referencia en su totalidad.

Esta solicitud también se refiere a la Solicitud de Patente E.U.A. No. de Serie (Doc. del Apoderado No. 119374-00082/3056); titulada "In Vivo Temporal Control of Activatable Matrix-Degrading Enzymes," que reivindica prioridad de la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/068,667 y a la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/127,725.

Esta solicitud también se refiere a la Solicitud de Patente E.U.A. No. de Serie (Doc. del Apoderado No. 119374-00103/p3077), titulada "Temperature Sensitive Mutants of Matrix Metalloproteases and Uses Thereof."

Donde se permite, la materia objeto de las solicitudes arriba notadas se incorporan para referencia en su totalidad.

Incorporación para referencia del Listado de Secuencias Proporcionado en discos compactos.

Se presenta una versión electrónica en disco compacto (CD-R) del Listado de Secuencias con esta en cuatro copias (etiquetadas COPIA 1, COPIA 2, COPIA 3, y CRF), los contenidos de las cuales se incorpora para referencia en su totalidad. El archivo legible en computadora en cada uno de los discos compactos arriba mencionados, creados el 6 de marzo de 2009, es idéntico, 1.96 megabytes de tamaño, y titulado 3056SEQ.PC1.txt.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan métodos y combinaciones para controlar la duración de la acción, en vivo, de las enzimas que degradan matriz. Los métodos y combinaciones permiten temporalmente la activación in vivo de enzimas que degradan matriz con la administración de la matriz extracelular (o "ECM"). Las enzimas que degradan matriz que tengan una duración de acción controlada se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades mediadas por ECM o trastornos caracterizados por el depósito o acumulación en aumento de uno o más componentes de ECM.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La matriz extracelular (ECM) ofrece un apoyo crítico estructural para las células y tejidos. Los defectos o cambios en la matriz extracelular como resultado de un depósito excesivo o acumulación de componentes de la MEC, pueden llevar a enfermedades o afecciones mediadas por ECM. Entre ellas se encuentran enfermedades o afecciones mediadas por colágeno que se caracterizan por la presencia de septos fibrosos abundantes de colágeno. A menudo, el único tratamiento aprobado para dichas enfermedades o afecciones es la cirugía, que puede ser altamente invasiva. Otros tratamientos, tales como la aponeurotomía de agujas para el tratamiento del síndrome de Dupuytren (también llamado contractura de Dupuytren) o la liposucción para la celulitis, también son altamente invasivos.

La colagenasa, una enzima que se activa a un pH neutro que degrada el colágeno, se ha utilizado para tratar enfermedades mediadas por ECM tales como celulitis (véase, por ejemplo, solicitud publicada de E.U.A. número de serie US20070224184), síndrome de Dupuytren (véase, por ejemplo patente de E.U.A. No. USRE39941; 5589171; 6086872), y la enfermedad de Peyronie (véase, por ejemplo, patente de E.U.A. 6,022,539). La colagenasa, sin embargo, es capaz de escindir irreversible colágenos de tipo I, II y III. La actividad

prolongada de la colagenasa limita las dosis que se pueden administrar y también los riesgos de efectos secundarios asociados con la activación prolongada. Por lo tanto, hay una necesidad de tratamientos alternativos de las enfermedades y afecciones mediadas por ECM. Por lo tanto, es uno de los objetos aquí proporcionar los métodos y combinaciones de Enzimas activables que degradan matriz para el tratamiento de enfermedades y afecciones mediadas por ECM.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan métodos para tratar enfermedades o afecciones de la matriz extracelular (ECM) mediante la administración de una Enzima activable que degrada la matriz (AMDE por sus siglas en inglés) y un activador. En general, se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de la AMDE. La cantidad es una función de la enfermedad o condición tratada y puede ser determinada empíricamente. La AMDE que se selecciona es la que está inactiva en el en el lugar in vivo de la administración, tal como la ECM. Las AMDEs incluyen enzimas que degradan matriz (MD), de origen natural, las especies y alélicas y otras variantes de la misma, tal como las enzimas modificadas para alterar una actividad, como la especificidad de sustrato o la propiedad, tales como la estabilidad. Las AMDEs pueden ser modificadas por los

procesos y métodos para tener propiedades, tales como mayor especificidad para escindir un tipo particular de colágeno o de tener una curva alterada de pH o el óptimo para los métodos en la presente. La administración en conjunto con un activador o una combinación de activadores, no presentes en el lugar de la administración los resulta de en un AMDE que está activo durante un periodo limitado de tiempo, ya que el activador se disipa o es removido de otra manera del lugar. El AMDE y activador se pueden administrar de forma secuencial, de forma simultánea en la misma composición o separados, o de forma intermitente. Las condiciones pueden ser seleccionadas para que el periodo de tiempo de actividad esté predeterminado. Una AMDE puede requerir más de un activador de la actividad o la actividad completa. El AMDE puede ser administrado como un zimógeno, como un polipéptido maduro de longitud completa, como una sola cadena o de dos cadenas de polipéptidos, o como polipéptido precursor. La AMDE se puede proporcionar en una composición, como una solución o suspensión, o en forma cristalizada o liofilizada. Las AMDEs ejemplares incluyen, pero no se limitan a, catepsinas, calpainas y heparanasas.

Generalmente, se administra la AMDE sub-epidermis. Cuando se administró a otros lugares, incluyendo por vía tópica, la AMDE se escoge de manera que la AMDE es

12

sustancialmente activa (por lo general al menos alrededor de o 10%, 11%, 12%, 13% o 15% de la actividad en comparación con el pH en su máximo sigue siendo) a pH 5.5. Además, para dicha administración, el AMDE normalmente está inactivo (menos de alrededor de o 10%, 11%, 12%, 13% o 15% de la actividad sigue siendo) a un pH neutro. Las enfermedades y afecciones de la MEC, incluyen, por ejemplo, las enfermedades y afecciones mediadas por colágeno. Estas enfermedades y afecciones incluyen, pero no se limitan a: la celulitis, enfermedad de Dupuytren, adherencias quirúrgicas, queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices deprimidas, enfermedad de Peyronie; fibrosis Ledderhose; rigidez en las articulaciones, incluyendo un hombro congelado, cicatrices existentes, incluyendo las adherencias quirúrgicas, queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices deprimidas; esclerodermia; linfoedema y la colitis colágena. La administración sub-epidérmica incluye, pero no se limita a la administración subcutánea, intramuscular, la administración intralesional y la administración intradérmica.

Por lo tanto, se proporcionan métodos para el tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) por la administración en la sub-epidermis a la ECM de una Enzima activable que degrada la matriz (AMDE) y un activador. La AMDE está inactiva o parcialmente inactiva

en la ECM en ausencia del activador, el activador, cuando se administra a la MEC, proporciona una condición de activación de la enzima por la cual la AMDE está activa, y la condición de activación generalmente no está presente en la ECM antes de la administración del activador. En algunas modalidades se selecciona la AMDE para ser una enzima que es sustancialmente inactiva a pH neutro.

También se proporcionan métodos de tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) mediante la administración de una enzima activable que degradan matriz (AMDE) y un activador, en donde la AMDE está inactiva a pH neutro, el activador proporciona una condición de activación a un pH ácido para la enzima de manera que el AMDE está activo en o después de la administración, y la condición de activación no está presente en el lugar de la administración antes de la administración del activador, y la AMDE es sustancialmente activa a un pH de 5.5. La AMDE y activador pueden ser administrados por cualquier vía adecuada, incluyendo pero no limitado a, la administración subcutánea, intramuscular, intralesional, intradérmica, tópica, transdérmica, intravenosa, oral y rectal. Por ejemplo, la administración puede ser la administración sub-epidérmica.

También se proporcionan métodos para el tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) mediante la administración de una enzima activable que degradan matriz (AMDE) y un activador, donde la AMDE está inactiva en la ECM en ausencia del activador de tal manera que el activador, cuando se administra, establece una condición de activación de la enzima de manera que la AMDE está activa, la condición de activación no está presente en la ECM antes de la administración del activador, y el activador está seleccionado entre un ion metálico, la temperatura y fuerza iónica de excipiente, o un agente oxidante o reductor. La AMDE y activador o una combinación de activadores pueden ser administrados por cualquier vía adecuada, incluyendo pero no limitado a, la administración subcutánea, intramuscular, intralesional, intradérmica, tópica, transdérmica, intravenosa, oral y rectal. Por ejemplo, la administración puede ser la administración sub-epidérmica.

En una modalidad ejemplar, se proporcionan los métodos para el tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) mediante la administración a la ECM por una Enzima activable que degrada la matriz (AMDE) y un activador, donde la AMDE está inactiva en la ECM en ausencia del activador de tal manera que el activador, cuando se

administra a la ECM, proporciona una condición de activación de la enzima de manera que la AMDE está activa, la condición de activación no está presente en la ECM antes de la administración del activador, y el activador se selecciona entre los iones metálicos, la temperatura y fuerza iónica. La AMDE y activador pueden ser administrados por cualquier vía adecuada, incluyendo, pero no se limitan a, administración subcutánea, intramuscular, intralesional, intradérmica, tópica, transdérmica, intravenosa, oral y rectal. Por ejemplo, la administración puede ser la administración sub-epidérmica.

En otras modalidades ejemplares se proporcionan métodos para el tratamiento de una enfermedad o afección del colágeno mediada por la administración a la sub-epidermis a la ECM de una cantidad terapéuticamente efectiva de un catepsina L activable y un activador, donde la catepsina L activable está inactiva en la ECM en ausencia del activador, el activador, cuando se administra a la ECM, proporciona una condición de activación de la enzima de manera que la catepsina L activable es activa, la condición de activación no está presente en la ECM antes de la administración del activador, y la condición de activación es pH ácido. Los polipéptidos de la catepsina L ejemplar son aquellos que incluyen una secuencia de aminoácidos establecidos en la SEQ ID NO: 1 o

alelos, especie o su otra variante, donde dichas variantes se modifican para tener propiedades alteradas o actividades y, por lo general tienen al menos o tienen 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia en comparación con una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEQ ID NO: 1.

En general con el tiempo en los métodos de la presente, el activador será eliminado o disipado o neutralizado por el medio ambiente local para que la AMDE ya no esté activa. Las condiciones de activación y/o activadores pueden ser seleccionados o preparados de manera que la AMDE esté activa durante un tiempo predeterminado o limitado. El activador se puede proporcionar, o se administra en la misma composición que la AMDE o en una composición separada, y pueden ser administrados de forma secuencial, a la vez o de forma intermitente. Por ejemplo, la AMDE se expone al activador antes de la administración o en la administración, por lo que la enzima se activa en la administración. Las condiciones de activación incluyen, pero no están limitadas a, pH, fuerza iónica, temperatura y los iones metálicos. Entre las condiciones de activación está el pH, tales como el pH ácido, por ejemplo, en o alrededor de un rango de 3 a 6.5, o 3.5 a 6, o 3 a 5.5, o 3 a 4.5, o 4 a 6, o 4 a 5.5, o 4.5 a 5 o 5 a 6, tal como 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6 o 6.5. Los pH se pueden

obtener poniéndose en contacto con la AMDE con una solución amortiguadora al pH deseado. Las soluciones amortiguadoras pueden incluir aquellas que contienen un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, maleato, succinato, lactato, glicinato, fosfato cítrico y la histidina. Otras condiciones de actividad ejemplares incluyen, pero no se limitan a, los iones metálicos y la temperatura. Por ejemplo, la condición de activación puede ser un ion metálico, como el Ca^{2+}, Zn^{2+} o Mg^{2+}. La temperatura puede ser baja o alta temperatura, donde la enzima es sustancialmente inactiva a la temperatura del lugar de la administración, por lo general 37°C. Por lo tanto, la condición de la activación es la temperatura y la temperatura es o está alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C o por encima de 37°C, tales como 40°C, 41°C, 42°0C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 80°C y superiores hasta cualquier temperatura tolerada que no dañe los tejidos o células in vivo.

El control temporal de la actividad se puede lograr, por ejemplo, mediante la selección de la capacidad amortiguadora y/o la fuerza iónica de la misma. Un tiempo predeterminado para la actividad puede llevarse a cabo mediante la selección de tales condiciones, lo cual puede determinarse

empíricamente o por cualquier método conocido por aquellos con conocimientos en la materia. Los tiempos predeterminados pueden variar desde menos de un minuto o hasta horas, tales como alrededor de 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos, 5 minutos, 6 minutos, 7 minutos, 8 minutos, 9 minutos, 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 40 minutos, 50 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas y 4 horas.

Como se ha señalado una AMDE puede ser cualquier enzima degradante de matriz que es activable o que sea modificada para que sea activable por un activador o condición de activación. Entre las AMDES para su uso en los métodos de este documento están las enzimas lisosomales. Las AMDES incluyen, por ejemplo, catepsinas, tales como catepsinas que son cisteína o aspártico proteasas. Estas incluyen, por ejemplo, catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina S, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E. Ejemplos de tales catepsinas son cualquiera seleccionadas de una catepsina que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, o una variante de alelos o de especies u otra variante de cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96. Otras variantes

incluyen, por ejemplo, las enzimas modificadas para tener una propiedad alterada, tal como la estabilidad, o una actividad, tal como la especificidad de sustrato. Las variantes pueden tener, por ejemplo, el 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% más de la secuencia de identidad con cualquiera de los polipéptidos cuya secuencia de aminoácidos se establece en cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96. En los métodos de la presente, la AMDE, con la administración, puede romper cualquiera de uno o más de los componentes de la matriz extracelular (ECM). Tal división se produce por un tiempo limitado, que puede estar predeterminado. Los componentes de ECM que son divididos, incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, colágenos, elastinas, fibronectinas y proteoglicanos, como un colágeno de tipo I, tipo II, tipo III o tipo IV. La AMDES pueden ser modificadas, tal como por métodos de evolución dirigida u otros métodos, para tener propiedades o actividades alteradas, tal como la especificidad de sustrato incrementada para el colágeno tipo I sobre el colágeno tipo IV.

Otros agentes pueden ser administrados con el activador y enzimas. La administración puede estar en la misma composición que el activador y/o una enzima o como composiciones independientes. La administración se puede

realizar de forma simultánea, por separado o de forma intermitente. Los agentes ejemplares, incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, agentes farmacológicos seleccionados de entre otros productos biológicos, compuestos de moléculas pequeñas, agentes dispersantes, anestésicos y vasoconstrictores y/o combinaciones de ellos. Ejemplos de un agente de dispersión es una enzima que degrada hialuronano, por ejemplo, una hialuronidasa, como PH20, como una forma soluble del mismo, en particular rHuPH20. Tal hialuronidasa generalmente se administra antes de la administración de la enzima y el activador. Ejemplos de una hialuronidasa soluble es el producto designado rHuPH20, que es codificado por el ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 226, o es una variante de especie de alelos u otras variantes de la misma o una variante del polipéptido de tal manera que tiene al menos un 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más identidad de secuencias a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 226.

Otros agentes son los anestésicos, como la lidocaína, y los vasoconstrictores, como los agonistas de los receptores adrenérgicos alfa, incluyendo, por ejemplo, levonordefrina, la epinefrina y la norepinefrina. Por lo general estos agentes se administran con o antes de la AMDE y activador.

Por lo tanto, se proporcionan los métodos para tratar una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) por la administración en la sub-epidermis de una enzima activable que degrada la matriz (AMDE), como se describe más arriba, un activador, una hialuronidasa, lidocaína y epinefrina. La AMDE está inactiva en la ECM en ausencia del activador. La enzima, hialuronidasa, lidocaína y epinefrina se pueden administrar simultáneamente, de forma secuencial o de forma intermitente, siempre que la lidocaína se administre antes de la enzima. Por ejemplo, la hialuronidasa, lidocaína y epinefrina se administran antes de la administración de la enzima o la hialuronidasa, lidocaína y epinefrina se administran de forma simultánea o la hialuronidasa, lidocaína y epinefrina pueden administrarse en una sola composición. La AMDE y activador y otros agentes se pueden administrar por cualquier vía adecuada, incluyendo pero no limitado a, la administración subcutánea, intramuscular, intralesional, intradérmica, tópica, transdérmica, intravenosa, oral y rectal. Por ejemplo, la administración puede ser la administración sub-epidérmica.

También se incluyen los productos, incluyendo composiciones, envases, combinaciones y kits que pueden ser utilizados para efectuar los métodos. Por ejemplo, se contemplan envases que contienen dos compartimientos. Un

primer compartimento contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de una enzima degradante de matriz activable (AMDE), donde la cantidad es de dosis única o una pluralidad de dosis y una dosis única es eficaz para el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, y un segundo compartimiento contiene un activador, cuando el activador es el que activa la enzima. Las AMDEs incluyen, por ejemplo, las enzimas lisosomales, como catepsinas, calpainas y heparanasas, incluidas las descritas arriba para el uso en los métodos. Las AMDES en los envases son las que se han descrito anteriormente, incluyendo, por ejemplo, una AMDE que es sustancialmente activa a un pH de 5.5, y, opcionalmente, es sustancialmente inactiva a pH neutro. Los activadores están contemplados para las condiciones de activación como las descritas anteriormente. De ahí el segundo compartimiento puede contener una composición que efectúe un cambio o mantenga un pH, como una solución amortiguadora, o la fuerza iónica o preste un ion metálico, como el Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+}. Las soluciones amortiguadoras ejemplares incluyen aquellas que contienen ácidos de entre ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, maleato, succinato, lactato, glicinato, fosfato cítrico y la histidina. Las enfermedades y afecciones, son los descritos anteriormente. Los envases también pueden incluir un

compartimiento de mezcla para efectuar la mezcla de los componentes en el primero y segundo compartimientos. Los envases ejemplares, incluye tubos y botellas, contenidos estériles, como una jeringa, con o sin aguja para la inyección.

La AMDE y activador se proporcionan en una cantidad de dosis múltiples de administración o de una sola. La AMDE en el envase se puede proporcionar en una cantidad que es o está alrededor de unos 10 µg a 100 mg, 50 µg a 75 mg, 100 µg a 50 mg, 250 µg a 25 mg, 500 µg a 10 mg, 1 mg a 5 mg o 2 mg a 4 mg. Puede ser proporcionado como un sólido, tal como en forma cristalizada o en forma liofilizada, o en forma líquida, como solución o suspensión, un gel o de otra forma adecuada. El volumen total de líquido en el envase, por ejemplo, puede ser o es alrededor de 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml y 1-10 ml.

En una modalidad ejemplar se proporcionan envases que tienen al menos dos compartimientos, donde un primer compartimento contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un catepsina activable por L y la cantidad es efectiva para el tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM), y un segundo compartimiento contiene una solución amortiguadora ácida que es el que activa catepsina L. Las enfermedades y afecciones son los descritos

anteriormente para el método de tratamiento. El activador puede ser el pH que es proporcionado por una solución amortiguadora, particularmente una solución amortiguadora ácida tiene un rango que es, o es alrededor de pH 4.0-5.0, en particular 4.5 a 6, más concretamente, 4.0, 4.5, 5, 5.5 ó 6. Ejemplar topes se encuentran entre topes ácidos que contienen un ácido, como por ejemplo, ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido málico, ácido clorhídrico-glicina, fosfato cítrico e histidina. Los polipéptidos de catepsina L ejemplares son aquellos que incluyen una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1 o alelos, especie u otra variante de los mismos, donde dichas variantes se modifican para tener propiedades alteradas o actividades y, por lo general tienen al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia en comparación con una secuencia de aminoácidos establecidos en cualquiera de SEQ ID NO: 1. La catepsina L activable se puede proporcionar como polvo liofilizado, en particular de una forma activada madura que es de forma de dos cadenas o formato de una sola cadena. La cantidad de catepsina L activable en el envase es terapéuticamente eficaz para la enfermedad o afección en particular, y puede variar, por ejemplo, desde alrededor de

o: 10 µg a 100 mg, 50 µg a 75 mg, 100 µg a 50 mg, 250 µg a 25 mg, 500 µg a 10 mg, 1 mg a 5 mg y 2 mg a 4 mg. La cantidad puede depender de la enfermedad o afección, y si es necesario, puede ser empíricamente determinada. La catepsina L se puede proporcionar como un sólido, como un polvo liofilizado, una pasta o líquido, tal como una suspensión, dispersión o solución. El volumen del envase es adecuado para la cantidad de catepsina L y la ruta prevista y/o lugar de administración. Por ejemplo, un volumen típico en el envase está o es alrededor de 1-100 ml, 1-50 ml, 10 a 50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml.

También se incluyen las combinaciones que incluyen el(los) depósito(s) anteriormente mencionado(s) y uno o más envases adicionales con otro agente farmacológicamente eficaz. Estos agentes pueden ser seleccionados de entre los productos biológicos, compuestos de pequeñas moléculas, agentes dispersantes, anestésicos y vasoconstrictores y sus combinaciones. Estos agentes incluyen a los agentes y las cantidades como se describió anteriormente con referencia a los métodos. Por ejemplo, un envase adicional puede contener una hialuronidasa, como rHuPH20. La cantidad puede ser por ejemplo de alrededor/o: 10 unidades a 500,000 unidades, 100 unidades a 100,000 unidades, 500 unidades a 50,000 unidades, 1000 unidades a 10,000 unidades, 5000 unidades a 7500

unidades, 5000 unidades a 50,000 unidades, o 1,000 unidades a 10,000 unidades. Otros envases pueden contener anestésicos, como la lidocaína, en una cantidad, por ejemplo, de igual o alrededor de 10 mg a 1000 mg, 100 mg a 500 mg, 200 mg a 400 mg, 20 mg a 60 mg o 30 mg a 50 mg, y/o un vasoconstrictor, tal como un agonista de los receptores adrenérgicos alfa, incluyendo levonordefrina, la adrenalina o la noradrenalina, en una cantidad para efectuar la vasoconstricción en el lugar y la región de la administración. La cantidad, por ejemplo, puede estar en o alrededor de 10 µg a 5 mg, 50 µg a 1 mg, 50 µg a 500 µg, 50 µg a 250 µg, 100 µg a 500 µg, 200 µg a 400 µg, 1 mg a 5 mg o 2 mg a 4 mg de, por ejemplo, la epinefrina u otros vasoconstrictores. Cada uno de los agentes adicionales con eficacia farmacológica puede ser mezclado en cualquier combinación en un envase o pueden ser provistos en envases individuales. Ellos pueden suministrarse como líquidos o sólidos como se demuestra y describe anteriormente para catepsina L.

En modalidades ejemplares, las combinaciones, pueden contener la AMDE y activador, y el envase puede contener al menos dos agentes farmacológicamente efectivos, donde los agentes farmacológicos se proporcionan como composiciones por separado, separadas unas de otras o se proporcionan en el mismo envase en la misma composición. Por ejemplo, el envase

adicional puede contener uno o más de una hialuronidasa, lidocaína y epinefrina. El envase adicional puede ser en forma de una jeringa con o sin aguja. El volumen total del envase adicional (s) es o está alrededor de 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml.

En modalidades ejemplares, la combinación incluye catepsina L y la hialuronidasa, tal como rHuPH20. Puede ser proporcionada como diferentes composiciones o están en una sola composición en un envase. La combinación puede incluir una solución amortiguadora de ácido que activa a la catepsina L. La solución amortiguadora se puede proporcionar en un envase separado o en combinación con uno o ambos de catepsina L y hialuronidasa. También se incluyen composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad de catepsina L eficaz para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por ECM con la administración simultánea o secuencialmente con una solución amortiguadora ácida, donde se formula la composición para la administración de dosis única, y la solución amortiguadora tiene un pH que activa la catepsina L. La cantidad de catepsina L es eficaz para la enfermedad o afección en particular y, por ejemplo, es o está alrededor de 10 µg a 100 mg, 50 µg a 75 mg, 100 µg a 50 mg, 250 µg a 25 mg, 500 µg a 10 mg, 1 mg a 5 mg o 2 mg a 4 mg. La

composición puede además contener uno o más de la lidocaína, epinefrina y una hialuronidasa.

Los envases y/o combinaciones y composiciones pueden ser envasados en forma de kits. Los kits contienen los envases y/o combinaciones y, opcionalmente, reactivos adicionales para su uso en las formas previstas en la presente, dispositivos para administración, tales como frascos, tubos, jeringas y agujas, aquí proporcionados y/o las instrucciones para dicho uso.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: La Figura 1 es una adaptación de las MMP zimógenas, indicando el propéptido, el dominio catalítico, región de unión, los dominios hemopexina 1 -4, las repeticiones de fibronectina tipo II, la región de base, el interruptor de cisteína, los sitios de enlace del calcio (Ca) I y II, y el sitio de unión del zinc. La alineación incluye MMPs zimógenas, incluida la MMP-I (SEQ ID NO:327), MMP-8 (aminoácidos 21-467 de la SEQ ID NO:101), MMP-13 (aminoácidos 20-471 de la SEQ ID NO:104), MMP-18 (aminoácidos 18-467 de la SEQ ID NO:107), MMP-2 (aminoácidos 30-660 de la SEQ ID NO:110), MMP-9 (aminoácidos 20-707 de la SEQ ID NO:113), MMP-3 (aminoácidos 18-477 de SEQ ID NO:116), MMP-10 (aminoácidos 18-476 de la SEQ ID NO:119), MMP-11 (aminoácidos 32-488 de la

SEQ ID NO:122), MMP-7 (aminoácidos 18-267 de la SEQ ID NO: 125), MMP-26 (aminoácidos 18-261 de la SEQ ID NO:128), MMP-12 (aminoácidos 17-470 de la SEQ ID NO: 131), y la MMP-19 (aminoácidos 19-508 de la SEQ ID NO: 146). Un "*" significa que los residuos o nucleótidos en esa columna son idénticos en todas las secuencias en la alineación, un ":" significa que las sustituciones conservadas han sido observados, y un "." significa que las sustituciones semi-conservadas se observan.

Figura 2: La Figura 2 es una alineación de los dominios catalíticos de las MMP ejemplares, lo que indica residuos de aminoácidos conservados y conservadores ejemplares. Se entiende que otros residuos de aminoácidos conservados y conservadores existen entre las MMP. Por lo tanto, esta figura y la identificación de los residuos no tiene por objeto limitar los residuos correspondientes entre y dentro de las MMP. Las MMP ejemplares son: la MMP-I (aminoácidos 81-242 de la SEQ ID NO:327), MMP-8 (aminoácidos 101-242 de la SEQ ID NO:101), MMP-13 (aminoácidos 104-248 de la SEQ ID NO: 104), MMP-18 (aminoácidos 100-246 de la SEQ ID NO:107), MMP-2 (aminoácidos 110-417 de la SEQ ID NO:110), MMP-9 (aminoácidos 94-425 de la SEQ ID NO:113), MMP-3 (aminoácidos 100-247 de la SEQ ID NO: 116), MMP-10 (aminoácidos 99-246 de la SEQ ID NO: 119), MMP-11 (aminoácidos 98-228 de la SEQ ID NO:122), MMP-7

(aminoácidos 95-242 de la SEQ ID NO:125), MMP-26 (aminoácidos 90-236 de la SEQ ID NO: 128), MMP-12 (aminoácidos 106-247 de la SEQ ID NO: 131), y la MMP-19 (aminoácidos 98-239 de la SEQ ID NO:146). Sustituciones ejemplares conservadas y conservadoras se destacan.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Esquema

A. Definiciones

B. La Matriz Extracelular

1. Componentes de la ECM

a. Colágenos

b. Elastina

c. Fibronectina

d. Glicosaminoglicanos (GAGs)

i. Proteoglicanos

ii. Ácido Hialurónico

2. Histología de la piel

a. La epidermis

b. La dermis

c. La hipodermis

3. Enfermedades de la ECM

C. Enzimas que Degradan matriz

1. La activación enzimática

a. Serina proteasas

b. Cisteína proteasas

i. Catepsinas

Catepsina L

ii. Calpaína

c. Aspártico proteasas

d. Metaloproteasas

e. Heparanasa

D. Enzimas activables que degradan matriz (AMDE)

1. Condiciones de activación y métodos para la activación de enzimas activables que degradan matriz

a. Activación de Estado - pH ácido

b. Activación de Estado - Concentración de cationes metálicos

c. Activación de Estado – Agente reductor

d. Activación de Estado - Temperatura

i. Mutantes de metaloproteasas de matriz sensibles a la temperatura

1) Modificaciones ejemplares tsMMP-1

2) Las combinaciones

3) Modificaciones adicionales

4) Otras MMPs

2. Combinaciones de enzimas que degradan matriz y el Activador

E. Métodos de Producción de ácidos nucleicos que codifican enzimas que degradan matriz, y polipéptidos de las mismas

1. Vectores y células

2. Expresión

a. Células procariotas

b. Células de levadura

c. Células de insectos

d. Células mamíferas

e. Plantas

3. Técnicas de purificación

F. Preparación, Formulación y Administración de enzimas activables que degradan matriz

1. Inyectables, soluciones y emulsiones

Polvos liofilizados

2. Administración tópica

3. Composiciones para otras vías de administración

4. Terapias de combinación

a. Enzimas de degradación de hialuronano

i. Hialuronidasas

1) hialuronidasas de tipo mamífero

2) hialuronidasas bacterianas

3) hialuronidasas de sanguijuelas, otros parásitos y crustáceos

ii. Otras enzimas degradantes de hialuronano.

iii. Enzimas de degradación solubles de hialuronano

1) PH20 Soluble Humano

2) rHuPH20

iv. Modificaciones de las enzimas que degradan hialuronano para mejorar sus propiedades farmacocinéticas

G. Empaques y artículos de Fabricación de enzimas de degradación Activables de Matriz

1. Aparato de una sola cámara

2. Aparatos de doble cámara

3. Kits

H. Métodos de evaluación de la actividad de las enzimas que degradan matriz

1. Métodos de evaluación de la actividad enzimática

2. Métodos de Evaluación de la Degradación de ECM

a. Ensayos in vitro

b. Ensayos in vivo

c. Modelos animales no humanos

I. Métodos ejemplares de tratamiento de enfermedades o defectos de las enfermedades o afecciones mediadas por colágeno de ECM

a. Celulitis

b. Enfermedad de Dupuytren

c. Enfermedad de Peyronie

d. Fibrosis Ledderhose

e. Articulaciones Rígidas

f. Cicatrices existentes

i. Adherencias quirúrgicas

ii. Queloides

iii. Cicatrices hipertróficas

iv. Cicatrices deprimidas

g. Esclerodermia

h. Linfedema

i. Colitis colagenosa

J. Ejemplos

A. DEFINICIONES

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por aquellas personas con conocimientos en la materia a la cual pertenece el objeto de la invención. Todas las patentes y solicitudes de patentes, las solicitudes publicadas y las publicaciones, las secuencias de Genbank, bases de datos, sitios web y otros materiales publicados a que se refiere a lo largo de toda la descripción en este documento, a menos que se indique lo

contrario, se incorporan por referencia en su totalidad. En el caso de que haya una pluralidad de definiciones de términos en este documento, aquellos en esta sección prevalecerán. Cuando se haga referencia a una URL o cualquier otro identificador o dirección, se entiende que esos identificadores puede cambiar y la información particular en Internet puede ir y venir, pero la información equivalente se puede encontrar buscando en Internet. La referencia a ello evidencia la disponibilidad y la difusión pública de dicha información.

Como se utiliza aquí, la matriz extracelular (ECM) se refiere a una estructura compleja de malla que rodea y proporciona soporte estructural a las células de los tejidos y órganos especializados. La ECM se compone de proteínas estructurales, como el colágeno y la elastina, proteínas especializadas como la fibronectina y proteoglicanos. La composición bioquímica exacta varía de un tejido a otro. En la piel, por ejemplo, es la capa dérmica que contiene el ECM. Referencia al "intersticio" se utiliza aquí para referirse indistintamente a la ECM.

Tal como se utiliza en este documento, los componentes de la ECM se refieren a cualquier material producido por las células del tejido conectivo y que secretan hacia el intersticio. A efectos de este documento, las referencias a

componentes de ECM se refieren a las proteínas y glicoproteínas, y no a otros componentes celulares u otros componentes de la ECM. Los componentes ejemplares de ECM incluyen, pero no se limitan a, colágeno, fibronectina, elastina y proteoglicanos.

Como se utiliza aquí, una enzima que degrada la matriz se refiere a cualquier enzima que degrada uno o más componentes de la ECM. Las enzimas que degradan matriz incluyen la proteasa, que son enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces covalentes peptídicos. Las enzimas que degradan matriz incluyen cualquiera conocida por aquellos con conocimientos en la materia, al igual que cualquiera descrita en la presente (véase, por ejemplo, Tabla 3), o variantes alélicas o especies u otras variantes de las mismas.

Como se utiliza aquí, una metaloproteasa de matriz (MMP) se refiere a un tipo de enzimas degradantes de la matriz que son endopeptidasas que dependen del zinc que contienen un sitio activo $Zn2^{+}$ necesario para la actividad. Las MMPs son enzimas que degradan los componentes de la MEC, incluyendo pero no limitado a, el colágeno, la fibronectina, elastina y proteoglicanos. Las MMPs contienen generalmente un propéptido, un dominio catalítico, una ligadura de prolina y un dominio de hemopexina (también llamado como C-terminal tipo hemopexina). Algunas MMPs contienen dominios

adicionales. Las MMP ejemplares se exponen en el cuadro 5. La referencia a un MMP incluye todas las formas, por ejemplo, la forma precursora (que contiene la secuencia de señales), la forma de proenzima (que contiene el propéptido), la forma activa procesada, y las formas del mismo carecen de uno o más dominios. Por ejemplo, la referencia a una MMP se refiere a las MMP que contiene sólo los activos de dominio catalítico. Dominios de MMP ejemplares son identificados en la Figura 1. MMP también incluyen variantes de especies u otras variantes alélicas de la misma.

Como se utiliza aquí, una enzima modificada que degradan matriz (o variantes de una enzima que degradan matriz) se refiere a una enzima que tiene una o más modificaciones en la secuencia primaria en comparación con una enzima de tipo silvestre. La una o más mutaciones pueden ser uno o varios sustitutos de aminoácidos (sustituciones), las inserciones, supresiones y cualquier combinación de éstos. Una enzima modificada que incluye los de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más posiciones modificadas. Una enzima modificada mantiene la actividad de una enzima de tipo silvestre, pero puede haber alterado la especificidad o la estabilidad del sustrato. Una enzima modificada por lo general cuenta con 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más secuencias

de identidad correspondientes a una secuencia de aminoácidos de una enzima de tipo silvestre.

Como se utiliza aquí, una enzima lisosomal se refiere a las enzimas cuya función de degradación es óptima a pH ácido. En virtud de la exigencia de un pH bajo, tales enzimas en general están presentes en los lisosomas de las células. Las enzimas lisosomales incluyen, pero no se limitan a, catepsina S, K, L, B, C, H, M, O, R, V, D y E. Ejemplos de enzimas lisosomales son las formas precursoras establecidas en cualquiera de SEQ ID NOS: 56, 59, 62, 64, 179, 67, 70, 73, 76, 182, 185, 188, 79, 194, 89, 92 y 95 y las formas maduras establecidas en la SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96 o variantes alélicas o variantes de las especies u otras variantes de la misma. Otras enzimas lisosomales incluyen, pero no se limitan a, la lipasa ácida lisosomal, lipasa gástrica, fosfolipasa y lipasa lisosomal activada por sales biliares (secuencias de ácido nucleico que codifican secuencias de aminoácidos, incluyendo formas maduras del mismo, como se establecen en cualquiera de SEQ ID NOS: 196-207).

Como se utiliza aquí, un mutante o mutación o variante o modificación sensible a la temperatura (ts) que confiere sensibilidad a la temperatura se refiere a un polipéptido que se modifica para mostrar una mayor actividad enzimática en

algunas temperaturas llamadas temperaturas permisivas en comparación con otras temperaturas llamadas temperaturas no permisivas. Por lo general, un mutante sensible a la temperatura muestra actividad enzimática más alta a temperaturas más bajas que a temperaturas más altas.

Como se usa aquí, la temperatura permisiva es la temperatura a la cual un polipéptido muestra una mayor actividad enzimática luego en una segunda temperatura llamada temperatura no permisiva. Por lo tanto, las enzimas modificadas en el presente documento muestran diferentes actividades a diferentes temperaturas, que es superior a una temperatura luego a otra temperatura. La temperatura a la que presenta mayor actividad es la temperatura permisiva.

Como se utiliza aquí, una temperatura no permisiva es la temperatura donde un polipéptido exhibe menor actividad enzimática luego a la temperatura permisiva y exhibe una actividad reducida en comparación con la enzima que no se modificada. Los mutantes sensibles a la temperatura previstos en este documento presentan actividad enzimática a la temperatura no permisiva que está en o alrededor de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% hasta un mínimo de 100% de la actividad a la temperatura permisiva. Los mutantes sensibles a la temperatura previstos en este documento también presentan un

1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% hasta menos de 100% de la actividad a la temperatura no permisiva en comparación con la enzima que no se modifica (por ejemplo, la enzima tipo silvestre) a la temperatura no permisiva.

Como se utiliza aquí, la relación de la actividad enzimática a la temperatura permisiva en comparación con la temperatura no permisiva se refiere a la relación entre la actividad enzimática a la temperatura permisiva y no permisiva. Se expresa por el cociente de la división de la actividad a la temperatura permisiva por la actividad a la temperatura no permisiva.

Como se usa aquí, la temperatura fisiológica se refiere a las condiciones de temperatura mantenidas en el cuerpo, es decir, alrededor de 37°C, por ejemplo, en o alrededor de 34°C, 35°C, 36°C, 37°, 38°C o 39°C. Se entiende que el rango normal de la temperatura del cuerpo humano varía dependiendo de factores tales como la tasa de metabolismo, el órgano en particular y otros factores. A efectos de este documento, la temperatura fisiológica es la temperatura que existe para un sujeto vestido cómodamente sin ayuno, que está dentro de una habitación que se mantiene a una temperatura ambiente normal (por ejemplo, 22.7 a 24.4° C).

Como se usa aquí, reversible se refiere a una enzima modificada por cuya actividad a la temperatura permisiva es susceptible de ser recuperada o se recuperara parcialmente cuando se expone a la temperatura no permisiva y reexposición a la temperatura permisiva. Por lo tanto, la actividad de una enzima reversible una vez que se expone a la temperatura no permisivas es la misma o sustancialmente retenida en comparación con la actividad de la enzima expuesta únicamente a las condiciones permisivas y es mayor que la actividad de la enzima expuesta únicamente a las temperaturas no permisivas. Por ejemplo, al regresar a las condiciones permisivas de las condiciones no permisivas, las enzimas reversibles presentan en o alrededor de 120%, 125%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 200% o más la actividad de la enzima expuesta solamente a las temperaturas no permisivas y conservan la actividad de la enzima expuesta sólo a la temperatura permisiva.

Como se utiliza aquí, irreversible o no reversible se refiere a una enzima modificada cuya actividad enzimática a la temperatura permisiva no se recupera cuando se expone a la temperatura no permisiva y reexposición a la temperatura permisiva. Por lo tanto, la actividad de una enzima irreversible una vez que se expone a la temperatura no permisiva es inferior a la actividad de la enzima expuesta

sólo a la temperatura permisiva y también es menor o igual o sustancialmente la misma que la actividad de la enzima expuesta sólo a las afecciones no permisivas. Por ejemplo, al regresar a las condiciones permisivas, las enzimas irreversibles presentan en o alrededor del 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 105%, 110%, 115%, o 120% de la actividad a temperaturas no permisivas y un mínimo de 100% de la actividad en la actividad de la enzima expuesta sólo a la temperatura permisiva.

Como se utiliza aquí, un dominio se refiere a una porción (una secuencia de tres o más, generalmente de 5 o 7 o más aminoácidos) de un polipéptido que es estructural y/o funcionalmente diferenciable o definible. Por ejemplo, un dominio incluye aquellos que pueden formar una estructura independiente plegada de una proteína compuesta por una o más porciones estructurales (por ejemplo, las combinaciones de hélices alfa y/o hebras beta conectados por regiones de rizo) y/o que se hayan reconocido de acuerdo con una actividad funcional, como la actividad de la cinasa. Una proteína puede tener uno o más de uno, dominios distintos. Por ejemplo, un dominio puede ser identificado, definido o caracterizado por homología de la secuencia en él a los miembros familiares relacionados, como la homología y porciones que definen un dominio extracelular. En otro ejemplo, un dominio se puede

distinguir por su función, como por la actividad enzimática, por ejemplo, la actividad de cinasa, o una capacidad de interactuar con una biomolécula, como el enlace al ADN, la unión del ligando y dimerización. Un dominio de forma independiente puede exhibir una función o actividad de tal manera que el dominio de forma independiente o fusionada con otra molécula puede llevar a cabo una actividad, como, por ejemplo, la actividad proteolítica o enlace del ligando. Un dominio puede ser una secuencia lineal de aminoácidos o una secuencia no lineal de aminoácidos del polipéptido. Muchos polipéptidos contienen una pluralidad de dominios. Por ejemplo, la estructura de dominio de las MMP se expone en la Figura 1. Aquellos con conocimientos en la materia están familiarizados con los dominios y los pueden identificar en virtud de la homología estructural y/o funcional con otros dominios tales.

Como se utiliza aquí, un dominio catalítico se refiere a cualquier parte de un polipéptido que presenta una función catalítica o enzimática. Tales dominios o regiones suelen interactuar con un sustrato para dar lugar a la catálisis de la misma. Para las MMP, el dominio catalítico de zinc contiene una porción de enlace, que contiene el ión $Zn2^{+}$ enlazado por tres residuos de histidina y está representado por la secuencia conservada HExxHxxGxxH.

Como se utiliza aquí, una ligadura rica en prolina (también llamada la región de articulación) se refiere a una articulación flexible o región de unión que no tiene ninguna función determinable. Tal región típicamente se encuentra entre los dominios o regiones y contribuye a la flexibilidad de un polipéptido.

Como se utiliza aquí, un dominio de enlace a hemopexina o el dominio C-terminal tipo hemopexina, se refiere a la región C-terminal de MMP. Se trata de una estructura de cuatro paletas de la hélice-β, que participa en las interacciones proteína-proteína. Por ejemplo, el dominio del enlace de hemopexina de las MMP interactúa con diferentes sustratos y también interactúa con los inhibidores, por ejemplo, el tejido inhibidor de metaloproteasas (TIMP).

Como aquí se utiliza, que consiste esencialmente de, o la mención de un polipéptido que consiste esencialmente en un dominio determinado, por ejemplo, el dominio catalítico, significa que la única parte del MMP del polipéptido es el dominio o una parte de su actividad catalítica. El polipéptido puede incluir opcionalmente secuencias de aminoácidos adicionales no derivados de MMP, por lo general un mínimo de 3, 4, 5, 6 o más, como por la inserción en otro polipéptido o de su ligadura.

Como se utiliza aquí, un "zimógeno" se refiere a una enzima que es un precursor inactivo y requiere algún cambio, como proteólisis del polipéptido, para convertirse en activo. Algunos zimógenos también requieren la adición de factores tales como, pero no limitado a, el pH, fuerza iónica, los iones metálicos o la temperatura para la activación. Zimógenos que incluyen la forma de proenzima de las enzimas. Por lo tanto, los zimógenos en general, están inactivos y se pueden convertir en un polipéptido maduro por escisión autocatalítica o catalítica de la proregión del zimógeno en presencia o ausencia de cofactores adicionales.

Como se utiliza aquí, un prosegmento o proregión se refiere a una región o un segmento que se escinde para producir una proteína madura. Esto puede incluir segmentos que funcionan para suprimir la actividad enzimática mediante el enmascaramiento de la maquinaria catalítica. Una proregión es una secuencia de aminoácidos colocada en el extremo amino terminal de un polipéptido maduro, y puede ser tan pequeña como algunos aminoácidos, o puede ser una estructura multidominio.

Como se utiliza aquí, una secuencia de activación se refiere a una secuencia de aminoácidos en un zimógeno que son el sitio necesario para la escisión de activación o escisión de maduración para formar una proteasa activa. La escisión de

una secuencia de activación puede ser catalizada autocatalíticamente o mediante la activación de los compañeros.

La escisión de activación es un tipo de escisión de maduración en el cual se produce un cambio conformacional requerido para la actividad. La activación puede resultar en la producción de formas múltiples de la cadena de las proteasas, por ejemplo, formas de dos cadenas. En algunos casos, las formas individuales de la cadena de la proteasa pueden mostrar actividad proteolítica como una única cadena.

Como se utiliza aquí, un cofactor se refiere a una condición o factor que se requiere para la actividad de una enzima. Los cofactores incluyen todo lo necesario para la actividad enzimática. Ejemplos de cofactores incluyen, pero no se limitan a, pH, fuerza iónica, los iones de metal o de temperatura. En relación con la administración in vivo de una enzima, cofactores incluyen factores presentes de forma endógena y factores proporcionados de forma exógena.

Como se utiliza aquí, una condición de activación se refiere a cualquier condición física ó una combinación de condiciones que se requiere para la actividad de una enzima. A efectos de este documento, una condición de activación de una enzima activable que degrada la matriz (AMDE) incluye a aquellas que no están presentes en el lugar de

administración, por ejemplo, no están presentes en la matriz extracelular, en las cantidades (cantidad es decir, el grado, nivel o de otro tipo medida física) requeridas para realizar la activación de la enzima. Ejemplos de las condiciones de activación incluyen, pero no están limitadas a, pH, iones metálicos, agentes oxidantes o reductores, la temperatura y fuerza iónica. Por ejemplo, en el caso de las enzimas degradantes de la matriz lisosomal que actúan en condiciones de pH bajo, pero inactivas a pH neutro, la exposición de la enzima inactiva a una condición de activación que es pH ácido, resulta en la activación de la enzima. En virtud del hecho de que la condición de activación no está presente en el lugar de la administración de la enzima, sino que debe añadirse exógenamente, la condición de activación se disipará y/o será neutralizada con el tiempo, de tal manera que la condición de activación ya no está presente para activar la enzima. Por lo tanto, la enzima se activa durante un tiempo predeterminado o limitado con la administración.

Como se utiliza aquí, un activador se refiere a cualquier composición que proporciona una condición de activación de una enzima activable que degrada la matriz. Entre los ejemplos de activadores incluyen, pero no se limitan a una solución amortiguadora de pH ácido, una

solución amortiguadora fría, o una solución amortiguadora de calcio.

Como se utiliza aquí, una "enzima activable que degrada la matriz (AMDE)" se refiere a una enzima degradante de la matriz que requiere una condición de activación con el fin de estar activa. A efectos de la presente, por ejemplo, una AMDE está sustancialmente inactiva en la ECM a menos que esté expuesta a los activadores antes, o con posterioridad a la administración de la AMDE, proporcionando con ello una condición para la activación de la enzima. Por lo tanto, la activación de las enzimas activables es controlada por condiciones exógenas para que el periodo de tiempo en un lugar in vivo o en el sitio en el que la enzima se activa pueda ser predeterminado y/o controlado como resultado de la disipación y/o neutralización de la condición de activación (es decir, temporalmente controlable o controlada por el tiempo). Así, en virtud de la exposición a una condición de activación, las enzimas se activan por un tiempo limitado y/o de forma limitada en la ECM (es decir, son condicionalmente activas). El alcance y el tiempo de la activación pueden ser controlados mediante la selección de activador o las condiciones de la activación, y pueden ser por un tiempo predeterminado. Por ejemplo, una enzima lisosomal, como una catepsina L, es activable en que puede ser activada por la

exposición a la condición de activación de pH, que se estipulan en una solución amortiguada ácida. Tras la administración de la enzima activa con el medio ambiente de pH neutro de la ECM, el medio ambiente del pH volverá a la neutralidad en un período de tiempo que puede estar predeterminado basado en la capacidad de amortiguación de la solución amortiguadora ácida, de tal manera que la enzima se vuelven inactiva.

Tal como se utiliza en este documento, "la cantidad de un activador" se refiere a la cantidad, grado o nivel de un activador. La cantidad de un activador puede corresponder a una concentración o cantidad absoluta o una temperatura en particular o el pH. A efectos de la presente, la cantidad de un activador es típicamente una cantidad que es suficiente para dar lugar a la activación condicional de una enzima. La cantidad puede ser ajustada para alterar la duración de activación de modo que la activación puede ser para un tiempo limitado o predeterminado.

Como se utiliza aquí, una "cantidad terapéuticamente efectiva" o una "dosis terapéuticamente efectiva" se refiere a un agente, compuesto, material, o composición que contiene un compuesto que es por lo menos suficiente para producir un efecto terapéutico.

Como se utiliza aquí, una enzima que se activa por un tiempo limitado o de duración limitada se refiere a una enzima activa que tiene una actividad que se disipa y/o se neutraliza con el tiempo. Así, en virtud de la ausencia de una condición de activación, la enzima se vuelve inactiva.

Como se utiliza aquí, tiempo predeterminado significa un límite que se conoce antes y se puede controlar. La disipación y/o neutralización de una condición de activación necesaria para la actividad de una enzima puede ser valorada de manera que el tiempo necesario para una enzima activa para convertirse en inactiva se conoce. Por ejemplo, una enzima activada por ácido que se administra en medio ácido y se expone a un entorno en vivo con un pH neutro (es decir, la ECM), con el tiempo, estará expuesta a un pH que aumenta gradualmente de tal manera que la enzima se mantendrá activa por sólo un tiempo limitado. La tasa de aumento del pH puede ser controlada, por ejemplo, mediante la variación de la capacidad amortiguadora de la solución amortiguadora ácida tal que el período de tiempo necesario para que una enzima activa se vuelva inactiva puede ser pre-determinado. A efectos de este documento, una enzima puede estar activa por un tiempo predeterminado que es, o está a 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos, 5 minutos, 6 minutos, 7

minutos, 8 minutos, 9 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, o 4 horas.

Como se utiliza aquí, sustancialmente inactiva a pH neutro significa que la enzima, cuando está a un pH neutro, muestra menos de 10% de la actividad de la enzima en su pH óptimo en condiciones similares (a excepción de las diferencias del pH), es decir, ensayo, amortiguamiento, fuerza iónica.

Como se utiliza aquí, sustancialmente activo a pH 5.5 significa que la enzima, cuando está a un pH de 5.5, muestra más de 10%, por ejemplo, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de la actividad de la enzima en su pH óptimo en condiciones similares (a excepción de las diferencias del pH), es decir, ensayo, amortiguamiento, la fuerza iónica.

Tal como se utiliza en este documento, la administración sub-epidérmica se refiere a cualquier administración que resulte en la entrega de la enzima en la capa más externa de la piel. La administración subepidérmica no incluye la aplicación tópica en la capa externa de la piel. Los ejemplos de administraciones sub-epidérmicas incluyen, pero no se limitan a, vías de administración subcutánea, intramuscular, intradérmica e intralesional.

Como se usa aquí, el sustrato se refiere a una molécula que se escinde por una enzima. Como mínimo, un sustrato objetivo incluye un péptido que contiene la secuencia reconocida por el desdoblamiento de la proteasa, y por lo tanto puede haber dos, tres, cuatro, cinco, seis o más residuos de longitud. Un sustrato también incluye una proteína de longitud completa, variante alélica, isoforma o cualquier parte de éstos, que se escinde por una enzima. Además, un sustrato incluye un péptido o proteína que contiene una fracción adicional que no afecta a la escisión del sustrato por la enzima. Por ejemplo, un sustrato puede incluir un péptido de cuatro aminoácidos, o una proteína de longitud completa ligada químicamente a una fracción fluorogénica.

Como se usa aquí, la escisión se refiere a la ruptura de los enlaces peptídicos u otros enlaces por una enzima que resulta en uno o varios productos de degradación.

Como se usa aquí, la actividad se refiere a una actividad funcional o actividades de un polipéptido o parte de éstos, asociados a una proteína de longitud completa (completa). Las actividades funcionales incluyen, pero no se limitan a, la actividad biológica, catalítica o de actividad enzimática, antigenicidad (capacidad para unirse o competir con un polipéptido de enlace a un anticuerpo anti-

polipéptido), la inmunogenicidad, la capacidad para formar multímeros, y específicamente la capacidad de enlazar a un receptor o ligando para el polipéptido.

Como se usa aquí, la actividad enzimática o la actividad catalítica o actividad de escisión se refiere a la actividad de una proteasa que se evaluará en ensayos proteolíticos in vitro que detectan la proteólisis de un sustrato seleccionado.

Como se utiliza aquí, una enzima activa se refiere a una enzima que muestra actividad enzimática. A efectos de este documento, las enzimas activas son las que cortan uno o más componentes de la ECM, como el colágeno. Las enzimas activas incluyen las de una sola cadena o en forma de dos cadenas.

Como se utiliza aquí, una enzima inactiva se refiere a una enzima que no exhibe ninguna actividad sustancial (es decir, la actividad catalítica o escisión de la actividad), como por ejemplo menos del 10% de la máxima actividad de la enzima. La enzima puede estar inactiva, en virtud de su conformación, la ausencia de una activación de las condiciones necesarias para su actividad, o la presencia de un inhibidor o cualquier otra condición o factor o forma que hace que la enzima esté sustancialmente inactiva.

Como se utiliza aquí, una proteína humana es una codificada por una molécula de ácido nucleico, como el ADN,

presente en el genoma de un ser humano, incluyendo todas las variantes alélicas y las variaciones conservadoras de la misma. Una variante o modificación de una proteína es una proteína humana, si la modificación se basa en el tipo silvestre o la secuencia prominente de una proteína humana.

Como se utiliza aquí, una enzima que degrada hialuronano se refiere a una enzima que cataliza la ruptura de un polímero de hialuronano (también conocido como ácido hialurónico o HA) en fragmentos más pequeños de peso molecular. Ejemplos de las enzimas que degradan hialuronano son las hialuronidasas y en particular condroitinasas y liasas que tienen la capacidad de despolimerizar hialuronano. Las condroitinasas ejemplares que son las enzimas que degradan hialuronano incluyen, pero no se limitan a, la condroitina liasa ABC (también conocida como condroitinasa ABC), liasa condroitina AC (también conocida como el sulfato de condroitina liasa o sulfato de condroitina eliminasa) y C liasa condroitina. La condroitina liasa ABC se compone de dos enzimas, la condroitina-sulfato-ABC endoliasa (EC 4.2.2.20) y el condroitina sulfato-ABC exoliasa (CE 4.2.2.21). Ejemplos de condroitín-sulfato-ABC-endoliasas y condroitina-ABC-sulfato-exoliasas incluyen, pero no se limitan a, los de *Proteus vulgaris* y *Flavobacterium heparinum* (condroitina-sulfato-ABC endoliasa de *Proteus vulgaris* se establece en la

SEQ ID NO: 305; Sato et al. (1994) Appl. Microbiol. Biotechnol. 41 1):39-46). Ejemplos de enzimas AC condroitinasa de las bacterias incluyen, pero no se limitan a, las de *Flavobacterium heparinum, Victivallis vadensis,* establecidos en la SEQ ID NO: 308, y *Arthrobacter aurescens* (Tkalec et al. (2000) Applied Environmental Microbiology 66 (1):29-35; Ernst et al. (1995) Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 30(5):387-444). Ejemplos de enzimas de C condroitinasa de las bacteria incluyen, pero no se limitan a, las de *Streptococcus* y *Flavobacterium* (Hibi et al. (1989) FEMS Microbiol-Lett. 48(2):121-4; Michelacci et al. (1976) J Biol. Chem. 251:1154-8; Tsuda et al. (1999) Eur. J. Biochem. 262:127-133).

Como se utiliza aquí, hialuronidasa se refiere a una enzima que degrada el ácido hialurónico. Las hialuronidasas incluyen hialuronidasas bacterianas (EC 4.2.99.1), hialuronidasas de sanguijuelas, otros parásitos, y los crustáceos (CE 3.2.1.36), y hialuronidasas tipo mamíferos (CE 3.2.1.35). Hialuronidasas comprenderán también los de origen no humano, incluyendo pero no limitado a, los ratones, caninos, felinos, leporinos, aves, bovinos, ovinos, porcinos, equinos, peces, raninas, bacterianas, y cualquier otra de las sanguijuelas, otros parásitos, y crustáceos. Las hialuronidasas ejemplares no humanas incluyen las

establecidas en cualquiera de SEQ ID NOS: 237-260. Las hialuronidasas ejemplares humanas incluyen HYAL1 (SEQ ID NO: 262), HYAL2 (SEQ ID NO: 263), HYAL3 (SEQ ID NO: 264), HYAL4 (SEQ ID 0 NO: 265), y PH20 (SEQ ID NO: 232). También se incluyen entre otras hialuronidasas la PH20 humana soluble y rHuPH20 soluble.

La referencia a hialuronidasas incluye polipéptidos precursores de hialuronidasa y polipéptidos maduros de hialuronidasa (como aquellos en los que una secuencia de señales se ha eliminado), formas truncadas de la misma que tienen actividad, e incluye variantes alélicas y variantes de especies, las variantes codificadas por variantes del empalme, y otras variantes, incluidos los polipéptidos que tienen al menos un 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o más de identidad de la secuencia del polipéptido precursor establecidos en cualquiera de SEQ ID NO: 232 o la forma madura de la misma. Las hialuronidasas también incluyen aquellas que contienen químicos o modificaciones postraduccionales y los que no contienen químicos o modificaciones postraduccionales. Dichas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, pegilación, albuminación, glicosilación, carboxilación, farnesilación, hidroxilación, la fosforilación, y otras modificaciones de polipéptidos conocidas en el arte.

Como se usa aquí, PH20 humana soluble o sHuPH20 incluyen polipéptidos maduros carentes de todo o una parte del lugar de inserción de glicosil fosfatidil inositol (GPI) en el extremo C-terminal de tal manera que con la expresión, los polipéptidos son solubles. Ejemplos de polipéptidos sHuPH20 son polipéptidos maduros que tienen una secuencia de aminoácidos establecidos en cualquiera de SEQ ID NOS:226-231. Los polipéptidos precursores de tales polipéptidos ejemplares sHuPH20 incluyen una secuencia de señal de aminoácidos. Ejemplos de un precursor se establecen en la SEQ ID NOS: 225, que contiene una secuencia de señal de 35 aminoácidos en las posiciones de los aminoácidos 1-35. Los polipéptidos solubles HuPH20 pueden ser degradados durante o después de los métodos de purificación y la producción que se describen a continuación.

Como se usa aquí, rHuPH20 soluble se refiere a una forma soluble de PH20 humana, que es expresada de forma recombinante en las células de ovario de hámster chino (CHO). El rHuPH20 soluble está codificado por el ácido nucleico que codifica los aminoácidos 1-482 establecidos en la SEQ ID NO: 225. También se incluyen las moléculas de ADN que son variantes alélicas del mismo y otras variantes solubles. El ácido nucleico que codifica rHuPH20 soluble se expresa en células CHO que secretan el polipéptido maduro. Cuando se

producen en el medio de cultivo existe una gran heterogeneidad en el C-terminal para que el producto incluya una mezcla de especies de la SEQ ID NOS:226-231. Las correspondientes variantes alélicas y otras variantes también están incluidas. Otras variantes pueden tener un 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más secuencias de identidad con cualquiera de SEQ ID NOS:226-231, con tal que conserven una actividad de hialuronidasa y sean solubles.

Como se usa aquí, la actividad de hialuronidasa se refiere a cualquier actividad exhibida por un polipéptido de hialuronidasa. Estas actividades pueden ser probadas in vitro y/o in vivo e incluyen, aunque no se limitan a, la actividad enzimática, tal como efectuar la escisión de ácido hialurónico, la capacidad de actuar como un agente de dispersión o de difusión y antigenicidad. Los ensayos ejemplares incluyen la determinación de la microturbidez (véase, por ejemplo, Ejemplo 16) que mide la escisión del ácido hialurónico por la hialuronidasa indirectamente por la detección de la formación de un precipitado insoluble cuando el ácido hialurónico se une sin escindir con albúmina sérica.

Como se utiliza aquí, los residuos de α aminoácidos que se presentan naturalmente son los residuos de los 20 α-aminoácidos que se encuentran en la naturaleza que se

incorporan a la proteína por el reconocimiento específico de la molécula de tRNA cargada a su codón de ARNm afines en los seres humanos.

Como se utiliza aquí, los ácidos nucleicos incluyen el ADN, el ARN y los análogos de los mismos, incluyendo los ácidos nucleicos peptídicos (PNA) y sus mezclas. Los ácidos nucleicos puede ser simples o de doble cadena. Al referirse a las sondas o cebadores, que son opcionalmente etiquetados, como con una etiqueta detectable, como por ejemplo un fluorescente o radioetiqueta, se contemplan las moléculas de cadena simple. Dichas moléculas son típicamente de una longitud tal que su objetivo es estadísticamente único o de número de copias bajo (normalmente menos de 5, generalmente menos de 3) para sondeo o de una biblioteca de cebado. En general, una sonda o cebador contiene al menos 14, 16 o 30 nucleótidos contiguos de la secuencia complementaria o idéntica a un gen de interés. Las sondas y cebadores pueden ser de 10, 20, 30, 50, 100 o más ácidos nucleicos de largo.

Como se usa en la presente, un péptido se refiere a un polipéptido que tiene de 2 a 40 aminoácidos de longitud.

Como se usan en la presente, los aminoácidos que se presentan en las diversas secuencias de aminoácidos aquí contempladas, se identifican de acuerdo con sus abreviaturas conocidas de tres letras o de una letra (Tabla 1). Los

nucleótidos que se presentan en los diversos fragmentos de ácidos nucleicos se designan con las designaciones estándar de una letra que se usan de rutina en la técnica.

Como se usa en la presente, un "aminoácido" es un compuesto orgánico que contiene un grupo amino y un grupo ácido carboxílico. Un polipéptido contiene dos o más aminoácidos. Para los propósitos en la presente, aminoácidos incluyen los veinte aminoácidos que se presentan naturalmente, aminoácidos no naturales y análogos de aminoácidos (es decir, aminoácidos en donde el carbono tiene una cadena lateral).

Como se usan en la presente, "residuo de aminoácidos" se refiere a un aminoácido formado con la digestión química (hidrólisis) de un polipéptido en sus ligaduras de péptidos. Los residuos de aminoácidos aquí descritos se presume que están en la forma "L" isomérica. Los residuos en la forma isomérica "D", que se designan así, se pueden sustituir por cualquier residuo de aminoácido L con tal de que se mantenga la propiedad funcional deseada por el polipéptido. NH2 se refiere al grupo amino libre presente en la terminación amino de un polipéptido. COOH se refiere al grupo carboxi libre presente en la terminación carboxilo de un polipéptido. Al mantener la nomenclatura estándar de polipéptidos descrita en J. Biol. Chem., 243:3552-3559 (1969), y adoptada en el 37

C.F.R, §§ 1.821-1.822, las abreviaturas para los residuos de aminoácidos se muestran en la Tabla 1:

Tabla 1 - Tabla de Correspondencia

SIMBOLO		
1 letra	3 letras	AMINOACIDO
Y	Tyr	Tirosina
G	Gly	Glicina
F	Phe	Fenilalanina
M	Met	Metionina
A	Ala	Alanina
S	Ser	Serina
I	Ile	Isoleucina
L	Leu	Leucina
T	Thr	Treonina
V	Val	Valina
P	Pro	Prolina
K	Lys	Lisina
H	His	Histidina
Q	Gln	Glutamina
E	Glu	Ácido glutámico
Z	Glx	Glu y/o Gln
W	Trp	Triptofano
R	Arg	Arginina
D	Asp	Acido Aspártico
N	Asn	Asparagina
B	Asx	Asn y/o Asp
C	Cys	Cisteína
X	Xaa	Desconocido u otro

Se debe observar que todas las secuencias de residuos de aminoácidos aquí representadas por las formulas, tienen una orientación de izquierda a derecha en la dirección convencional de la terminación amino a la terminación carboxilo. Además, la frase "residuo de aminoácidos" se define ampliamente para incluir los aminoácidos listados en la Tabla de Correspondencia (Tabla 1) y aminoácidos

modificados e inusuales, tales como aquellos referidos en 37 C.F.R. §§ 1.821-1.822, e incorporados en la presente por referencia. Además, se debe señalar que un guión al comienzo o final de una secuencia de residuo de aminoácidos indica un enlace de péptido hasta una secuencia adicional de uno o más residuos de aminoácidos, hasta un grupo terminal amino tal como NH2 o hasta un grupo terminal carboxilo tal como COOH.

Como se usan en la presente, "aminoácidos que se presentan naturalmente" se refieren a los 20 L-aminoácidos que se presentan en los polipéptidos.

Como se usa en la presente, "aminoácido no natural" se refiere a un compuesto orgánico que tiene una estructura similar a un aminoácido natural pero que ha sido modificado estructuralmente para imitar la estructura y reactividad de un aminoácido natural. Los aminoácidos que no se presentan naturalmente incluyen así, por ejemplo, aminoácidos o análogos de aminoácidos diferentes a los 20 aminoácidos que se presentan naturalmente e incluyen, pero no se limitan a, los D-isoestereómeros de aminoácidos. Los aminoácidos no naturales ejemplares se describen en la presente y se conocen para aquellos expertos en la técnica.

Como se usa en la presente, un constructo de ADN es una molécula de ADN lineal o circular, de hebra sencilla o de hebra doble, que contiene segmentos de ADN combinados y

yuxtapuestos en una forma que no se encuentra en la naturaleza. Los constructos de ADN existen como resultado de la manipulación humana, e incluyen clones y otras copias de moléculas manipuladas.

Como se usa en la presente, un segmento de ADN es una porción de una molécula más grande de ADN que tiene atributos específicos. Por ejemplo, un segmento de ADN que codifica un polipéptido especificado es una porción de una molécula más larga de ADN, tal como un plásmido o fragmento de plásmido, el cual, cuando se lee desde la dirección 5′ a la 3′, codifica la secuencia de aminoácidos del polipéptido especificado.

Como se usa en la presente, el término polinucleótido significa un polímero de hebra sencilla o de hebra doble de bases de desoxiribonucleótidos o de ribonucleótidos leídas desde el extremo 5' ale 3'. Los polinucleótidos incluyen ARN y ADN, y se pueden aislar de fuentes naturales, sintetizados in vitro, o preparados a partir de una combinación de moléculas naturales y sintéticas. La longitud de la molécula de polinucleótido se da en la presente en términos de nucleótidos (abreviados "nt") o pares de bases (abreviados "bp"). El término nucleótidos se usa para moléculas de hebra sencilla o de hebra doble en donde lo permite el contexto. Cuando se aplica el término a moléculas de hebra doble, se

usa para denotar la longitud global y se entenderá como que es equivalente al término pares de bases. Se reconocerá por aquellos expertos en la técnica que las dos hebras de un polinucleótido de hebra doble, pueden diferir ligeramente de longitud y que los extremos del mismo se pueden escalonar; así todos los nucleótidos dentro de una molécula de hebra doble de polinucleótido no se pueden aparear. Tales extremos no apareados no excederán, en general, 20 nucleótidos de longitud.

Como se usa en la presente, "similitud" entre dos proteínas o ácidos nucleicos se refiere a la relación entre la secuencia de aminoácidos de las proteínas o las secuencias de nucleótidos de los ácidos nucleicos. La similitud se puede basar en el grado de identidad y/u homología de secuencias de residuos y los residuos allí contenidos. Los métodos para evaluar el grado de similitud entre proteínas o ácidos nucleicos se conocen para aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, en un método de evaluación de la similitud de secuencias, dos secuencias de aminoácidos o de nucleótidos se alinean en una forma que produce un nivel máximo de identidad entre las secuencias. La "identidad" se refiere al grado al cual las secuencias de aminoácidos o de nucleótidos no son variantes. La alineación de secuencias de aminoácidos, y hasta cierto grado las secuencias de nucleótidos, también

pueden tomar en cuenta diferencias conservadores y/o sustituciones frecuentes en los aminoácidos (o nucleótidos). Las diferencias conservadoras son aquellas que conservan las propiedades físico-químicas de los residuos involucrados. Las alineaciones pueden ser globales (alineación de las secuencias comparadas sobre la longitud completa de las secuencias e incluyen todos los residuos) o locales (la alineación de una porción de las secuencias que incluye solamente la región o regiones más similares).

La "identidad" per se, tiene un significado reconocido en la técnica y se puede calcular al usar técnicas publicadas. (ver, por ejemplo: Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; and Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991). Aunque existen diversos métodos para medir la identidad entre dos polinucleótidos o polipéptidos, el término "identidad" es bien conocido por los técnicos expertos (Carillo, H. & Lipton, D., SIAM J Applied Math 45:1073 (1988)).

Como se usan en la presente, homólogo (con respecto a secuencias de ácidos nucleicos y/o de aminoácidos) significa alrededor de, mayor que, o igual a 25% de homología de secuencias, típicamente mayor que, o igual a 25%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% o 95% de homología de secuencias; el porcentaje preciso se puede especificar si es necesario. Para los propósitos en la presente, los términos "homología" e "identidad" se usan a menudo de forma intercambiable, a menos que se indique de otra manera. En general, para la determinación del porcentaje de homología o de identidad, las secuencias se alinean de manera que se obtiene la coincidencia del orden más alto (ver, por ejemplo: Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; and Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991 ; Carillo et al. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073). Por la homología de secuencias, se determina el número de aminoácidos conservados por programas de algoritmos de alineación estándar, y se pueden usar si las

penalizaciones de espacios por omisión establecidas por cada proveedor. Las moléculas de ácidos nucleicos sustancialmente homólogas hibridizarían típicamente a una severidad moderada o a una alta severidad todas a lo largo de la longitud del ácido nucleico de interés. También se contemplan moléculas de ácidos nucleicos que contengan codones degenerados en lugar de codones en la molécula de hibridización de ácido nucleico.

Ya sea que alguna de las dos moléculas tenga secuencias de nucleótidos o secuencias de aminoácidos que sean al menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% "idénticas" u "homólogas" se puede determinar al usar algoritmos de cómputo conocidos tales como el programa "FAST", al usar por ejemplo, los parámetros por omisión como en Pearson et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (otros programas incluyen el paquete de programas GCG (Devereux, J., et al, Nucleic Acids Research 12(I):3S7 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, S.F., et al, J Molec Biol 215:403 (1990)); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994, y Carillo et al. (1988) SIAM J Applied Math 48A013). Por ejemplo, la función BLAST de la base de datos del Centro Nacional para Información de Biotecnología se puede usar para determinar la identidad. Otros programas comercial o públicamente disponibles incluyen, el programa DNAStar "MegAlign" (Madison, WI) y el

programa del Grupo de Cómputo de Genética de la Universidad de Wisconsin (UWG) "Gap" (Madison WI). El porcentaje de homología o identidad de proteínas y/o moléculas de ácidos nucleicos se puede determinar, por ejemplo, al comparar la información de secuencias usando un programa de cómputo GAP (por ejemplo, Needleman et al. (1970) J. MoI. Biol. 48:443, como se modificó por Smith and Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482). Brevemente, el programa GAP define la similitud como el número de símbolos alineados (es decir, nucleótidos o aminoácidos), que son similares, divididos por el número total de símbolos en la más corta de las dos secuencias. Los parámetros por omisión para el programa GAP pueden incluir: (1) una matriz unitaria de comparación (que contiene un valor de 1 para identidades y 0 para no identidades) y la matriz de comparación ponderada de Gribskov et al. (1986) Nucl. Acids Res. 14:6745, como se describe por Schwartz and Dayhoff, eds., ATLAS OF PROTEIN SEQUENCE AND STRUCTURE, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979); (2) una penalización de 3.0 para cada espacio y una penalización adicional de 0.10 para cada símbolo en cada espacio; y (3) ninguna penalización para espacios en el extremo.

Por lo tanto, como se usa en la presente, el término "identidad" u "homología" representa una comparación entre una prueba y un polipéptido o polinucleótido de referencia.

Como se usan en la presente, el término al menos "90% idéntico a" se refiere a identidades en porcentaje desde 90 a 99.99 con relación al ácido nucleico de referencia o la secuencia de aminoácidos del polipéptido. La identidad a un nivel de 90% o más es indicativo del hecho de que, al asumir que se comparan para propósitos de ejemplificación una longitud de prueba y de referencia de un polipéptido de 100 aminoácidos, no más del 10% (es decir, 10 de cada 100) de los aminoácidos en el polipéptido de prueba difiere de aquel del polipéptido de referencia. Las comparaciones similares se pueden hacer entre los polinucleótidos de prueba y de referencia. Tales diferencias se pueden representar como mutaciones de punto aleatoriamente distribuidas sobre la extensión completa de un polipéptido o se pueden agrupar en una o más ubicaciones de longitud variable hasta un máximo permisible, por ejemplo 10/100 diferencia de aminoácidos (aproximadamente 90% de identidad). Las diferencias se definen como sustituciones, inserciones o eliminaciones de ácidos nucleicos o de aminoácidos. Al nivel de las homologías o identidades arriba de alrededor de 85-90%, el resultado debe ser independiente del programa y los parámetros de espacio fijados; tales altos niveles de identidad se pueden evaluar fácilmente, a menudo por alineación manual sin apoyarse en el software.

Como se usa en la presente, una secuencia alineada se refiere al uso de homología (similitud y/o identidad) para alinear posiciones correspondientes en una secuencia de nucleótidos o aminoácidos. Típicamente, se alinean dos o más secuencias que se relacionan por 50% o más identidad. Un conjunto alineado de secuencias se refiere a 2 o más secuencias que se alinean en las posiciones correspondientes y puede incluir secuencias de alineación derivadas de ARNs, tales como ESTs y otros ADNc, alineados con secuencia genómica de ADN.

Como se usa en la presente, "cebador" se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede actuar como un punto de inicio de la síntesis de ADN dirigida por plantilla bajo condiciones apropiadas (por ejemplo, en la presencia de cuatro trifosfatos de nucleósido diferentes y un agente de polimerización, tal como polimerasa de ADN, polimerasa de ARN, o transcriptasa inversa) en una solución amortiguadora apropiada y a una temperatura adecuada. Se apreciará que una determinada molécula de ácido nucleicos puede servir como una "sonda" y como un "cebador". Un cebador, sin embargo, tiene un grupo 3' hidroxilo para extensión. Un cebador puede ser usado en una diversidad de métodos, incluyendo, por ejemplo, reacción en cadena de polimerasa (PCR), transcriptasa reversa (RT)-PCR, RNA PCR, LCR, PCR múltiple, PCR de "mango de

sartén", PCR de captura, PCR de expresión, RACE 3' y 5', PCR in situ, PCR mediada por ligación y otros protocolos de amplificación.

Como se usa en la presente, "par cebador" se refiere a un conjunto de cebadores que incluye un cebador 5' (cadena arriba) que se hibridiza con el extremo 5' de una secuencia a amplificarse (por ejemplo, por PCR) y un cebador 3' (cadena abajo) que se hibridiza con el complemento en el extremo 3' de la secuencia a ser amplificada.

Como se usan en la presente, "hibridiza específicamente" se refiere a combinar los pares de bases, al aparear bases complementarias, de una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, un oligonucleótido) a una molécula de ácido nucleico objetivo. Aquellos de experiencia en la técnica están familiarizados con parámetros in vitro e in vivo que afectan la hibridación específica, tales como longitud y composición de la molécula en particular. Los parámetros particularmente relevantes para la hibridación in vitro incluyen además la combinación de pares de bases y la temperatura de lavado, composición amortiguadora y concentración de sales. Las condiciones de lavado ejemplares para remover moléculas de ácidos nucleicos no enlazadas específicamente a una alta severidad son 0.1 x SSPE, 0.1% SDS, 65°C, y a una severidad media son 0.2 x SSPE, 0.1% SDS, 50°C. Se conocen en la

técnica las condiciones de severidad equivalentes. La persona experimentada puede fácilmente ajustar estos parámetros para alcanzar una hibridación específica de una molécula de ácido nucleico a una molécula objetivo de ácido nucleico adecuada para una aplicación en particular. De forma complementaria, cuando se refiere a dos secuencias de nucleótidos, significa que las dos secuencias de nucleótidos pueden hibridizarse, típicamente con menos de 25%, 15% o 5% no coincidencias entre los nucleótidos opuestos. Si es necesario, se especificará el porcentaje de complementariedad. Típicamente las dos moléculas se seleccionan de manera que se hibridicen bajo condiciones de alta severidad.

Como se usa en la presente, sustancialmente idéntico a un producto significa suficientemente similar de manera que la propiedad de interés esté sustancialmente sin cambio de forma que el producto sustancialmente idéntico se pueda usar en lugar del producto.

Como se usan en la presente, también se entiende que los términos "sustancialmente idéntico" o "similar" varían con el contexto como se entiende por aquellos expertos en la técnica relevante.

Como se usan en la presente, una variante alélica o variación alélica hace referencia a alguna de dos o más formas alternativas de un gen que ocupa el mismo lugar

cromosomal. La variación alélica aparece naturalmente a través de la mutación, y puede resultar en polimorfismo fenotípico dentro de las poblaciones. Las mutaciones de genes pueden ser silentes (sin cambio en el polipéptido codificado) o pueden codificar polipéptidos que tengan secuencias alteradas de aminoácidos. El término "variante alélica" también se usa en la presente para denotar una proteína codificada por una variante alélica de un gen. Típicamente la forma de referencia de un gen codifica una forma de tipo silvestre y/o una forma predominantes de un polipéptido desde una población o número de referencia sencillo de una especie. Típicamente, las variantes alélicas, que incluyen variantes entre especies típicamente tienen al menos 80%, 90% o mayor identidad de aminoácidos con una forma de tipo silvestre y/o predominantes de la misma especie; el grado de identidad depende del gen y de si la comparación es entre especies o dentro de especies. Generalmente las variantes alélicas dentro de especies tienen al menos alrededor de 80%, 85%, 90% o 95% de identidad o mayor con una forma de tipo silvestre y/o predominante, incluyendo 96%, 97%, 98%, 99% o mayor identidad con una forma de tipo silvestre y/o predominante de un polipéptido. La referencia a una variante alélica en la presente, se refiere generalmente a variaciones de proteínas entre los miembros de la misma especie.

Como se usa en la presente, "alelo," que se usa en la presente de manera intercambiable con "variante alélica" se refiere a formas alternas de un gen o porciones del mismo. El alelo ocupa el mismo lugar o posición sobre los cromosomas homólogos. Cuando un sujeto tiene dos alelos idénticos de un gen, se dice que el sujeto es homocigótico para ese gen o alelo. Cuando un sujeto tiene dos alelos diferentes de un gen, se dice que el sujeto es heterocigótico para el gen. Los alelos de un gen específico pueden diferir uno del otro en un nucleótido sencillo o en varios nucleótidos, y pueden incluir sustituciones, eliminaciones e inserciones de nucleótidos. Un alelo de un gen también puede ser una forma de un gen que contiene una mutación.

Como se usa en la presente, variantes de especies se refieren a variantes en polipéptidos entre diferentes especies, incluyendo especies diferentes de mamíferos, tales como el ratón y el humano.

Como se usa en la presente, una variante de empalme se refiere a una variante producida por el procesamiento diferencial de un transcrito primario de AND genómico, que resulta en más de un tipo de mRNA.

Como se usa en la presente, la modificación es con referencia a una modificación de una secuencia de aminoácidos de un polipéptido o una secuencia de nucleótidos en una

molécula de ácido nucleico e incluye eliminaciones, inserciones, y reemplazos de aminoácidos y nucleótidos, respectivamente. Los métodos para la modificación de un polipéptido son de rutina para aquellos expertos en la técnica, tal como por el uso de metodologías recombinantes de ADN.

Como se usa en la presente, el término promotor significa una porción de un gen que contiene secuencias de ADN que proporcionan el enlace de la polimerasa de ARN y el inicio de la transcripción. Las secuencias de promotor se encuentran comúnmente, pero no siempre, en la región no codificadora 5' de los genes.

Como se usa en la presente, polipéptido o proteína aislado o purificado o porción biológicamente activa del mismo está sustancialmente libre del material celular u otras proteínas contaminantes de la célula o tejido a partir del cual se deriva la proteína, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros químicos cuando se sintetiza químicamente. Las preparaciones se pueden determinar para estar sustancialmente libres si aparecen libres de impurezas fácilmente detectables cuando se determina por métodos estándar de análisis, tales como cromatografía de capa delgada (TLC), electroforesis de gel y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), usados por aquellos de experiencia

en la técnica para evaluar tal pureza, o suficientemente puro de manera que la purificación adicional no alteraría detectablemente las propiedades físicas y químicas, tales como actividades enzimáticas y biológicas de la sustancia. Los métodos para la purificación de los compuestos para producir compuestos sustancialmente químicamente puros se conocen para aquellos expertos en la técnica. Un compuesto sustancialmente químicamente puro, sin embargo, puede ser una mezcla de estereoisómeros. En tales casos, una purificación adicional pudiera incrementar la actividad específica del compuesto.

El término sustancialmente libre de material celular incluye preparaciones de proteínas en las cuales la proteína se separa de componentes celulares de las células a partir de las cuales se aísla o se produce de forma recombinante. En una modalidad, el término sustancialmente libre de material celular incluye preparaciones de proteínas de enzimas que tienen menos de alrededor de 30% (en peso seco) de proteínas sin enzimas (también referidas en la presente como una proteína contaminante), generalmente menos de alrededor de 20% de proteínas sin enzimas o 10% de proteínas sin enzimas o menos de alrededor de 5% de proteínas sin enzimas. Cuando la proteína de enzimas se produce de forma recombinante, también está sustancialmente libre de medio de cultivo, es decir, el

medio de cultivo representa menos de alrededor o a 20%, 10% o 5% del volumen de la preparación de proteína para enzimas.

Como se usa en la presente, el término sustancialmente libre de precursores químicos u otros químicos incluye preparaciones de proteínas de enzimas en las cuales la proteína se separa de precursores químicos u otros químicos que están involucrados en la síntesis de la proteína. El término incluye preparaciones de proteínas de enzimas que tienen menos de alrededor del 30% (en peso seco), 20%, 10%, 5% o menos de precursores químicos o productos químicos o componentes sin enzimas. Como se usa en la presente, sintético, con referencia a por ejemplo, una molécula sintética de ácido nucleico o un gen sintético o un péptido sintético, se refiere a una molécula de ácido nucleico o molécula de polipéptido que se produce por métodos recombinantes y/o por métodos de síntesis química.

Como se usa en la presente, la producción por medios recombinantes al usar métodos de ADN recombinante, significa el uso de los métodos bien conocidos de biología molecular para expresar proteínas codificadas por el ADN clonado.

Como se usa en la presente, vector (o plásmido) se refiere a elementos discretos que se usan para introducir un ácido nucleico heterólogo en células ya sea para expresión o replicación de los mismos. Los vectores típicamente

permanecen episomales, pero se pueden diseñar para efectuar la integración de un gen o una porción del mismo dentro de un cromosoma del genoma. También se contemplan vectores que son cromosomas artificiales, tales como cromosomas artificiales de levaduras y cromosomas artificiales de mamíferos. La selección y uso de tales vehículos es bien conocida para aquellos expertos en la técnica.

Como se usa en la presente, un vector de expresión incluye vectores que pueden expresar ADN que se ligan operativamente con las secuencias reguladoras, tales como las regiones del promotor, que pueden efectuar la expresión de tales fragmentos de ADN. Tales segmentos adicionales pueden incluir secuencias del promotor y del terminador, y opcionalmente pueden incluir uno o más orígenes de replicación, uno o más marcadores de selección, un potenciador, una señal de poliadenilación, y los similares. Los vectores de expresión se derivan generalmente de un ADN de plásmido o viral, o pueden contener elementos de ambos. Así, un vector de expresión se refiere a un constructo de ADN o ARN recombinante, tal como un plásmido, un fago, un virus recombinante u otro vector que, con la introducción dentro de una célula hospedera apropiada, resulta en la expresión del ADN clonado. Los vectores de expresión apropiados son bien conocidos para aquellos expertos en la técnica e incluyen

aquellos que son replicables en células eucarióticas y/o células procarióticas y aquellos que permanecen en el episoma o aquellos los cuales se integran en el genoma de la célula hospedera.

Como se usa en la presente, vector también incluye "vectores de virus" o "vectores virales." Los vectores virales son virus preparados por ingeniería que se ligan operativamente a genes exógenos para transferir (como vehículos o transportes) los genes exógenos dentro de las células.

Como se usa en la presente, ligado en operación u operativamente cuando se refiere a segmentos de ADN, significa que los segmentos se configuran de manera de funcionar en conjunto con sus propósitos pretendidos, por ejemplo, la transcripción inicia en el promotor y procede a través del segmento de codificación del terminador.

Como se usa en la presente el término evaluar se pretende para incluir la determinación cuantitativa y cualitativa en el sentido de obtener un valor absoluto para la actividad de una proteasa, o un dominio de la misma, presente en la muestra, y también para obtener un índice, relación, porcentaje, indicativo visual u otro valor indicativo del nivel de actividad. La evaluación puede ser directa o indirecta y las especies químicas realmente

detectadas no necesitan por supuesto, ser el producto de proteolisis mismo sino pueden ser por ejemplo, una derivado del mismo o alguna sustancia adicional. Por ejemplo, la detección de un producto de escisión de una proteína de complemento, tal como por SDS-PAGE y tinción de proteínas con azul de Coomasie.

Como se usa en la presente, la actividad biológica se refiere a las actividades in vivo de un compuesto o las respuestas fisiológicas que resultan con la administración in vivo de un compuesto, composición u otra mezcla. La actividad biológica así, abarca efectos terapéuticos y actividad farmacéutica de tales compuestos, composiciones y mezclas. Las actividades biológicas se pueden observar en sistemas in vitro diseñados para probar o usar tales actividades. Así, para los propósitos en la presente una actividad biológica de una proteasa es su actividad catalítica en la cual se hidroliza un polipéptido.

Como se usa en la presente equivalente, cuando se refiere a dos secuencias de ácidos nucleicos, significa que las dos secuencias en cuestión codifican la misma secuencia de aminoácidos o proteínas equivalentes. Cuando se usa equivalente al referirse a dos proteínas o péptidos, significa que las dos proteínas o péptidos tienen sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos con

solamente sustituciones de aminoácidos que no alteran sustancialmente la actividad o función de la proteína o péptido. Cuando equivalente se refiere a una propiedad, la propiedad no necesita estar presente al mismo grado (por ejemplo, dos péptidos pueden mostrar tasas diferentes del mismo tipo de actividad enzimática), pero las actividades son sustancialmente las mismas.

Como se usan en la presente, "modular" y "modulación" o "alterar" se refiere a un cambio de una actividad de una molécula, tal como una proteína. Las actividades ejemplares incluyen, pero no se limitan a, actividades biológicas, tales como la transducción de señal. La modulación puede incluir un incremento en la actividad (es decir, sobre-regulación o actividad agonista) o una disminución en la actividad (es decir, sub-regulación o inhibición) o alguna otra alteración en una actividad (tal como un cambio en la periodicidad, frecuencia, duración, cinética u otro parámetro). La modulación puede ser dependiente del contexto y típicamente la modulación se compara con un estado designado, por ejemplo, la proteína de tipo silvestre, la proteína en un estado constitutivo, o la proteína cuando se expresa en un tipo o condición de célula designada.

Como se usa en la presente, una composición se refiere a cualquier mezcla. Puede ser una solución, suspensión,

líquido, polvo, pasta, acuoso, no acuoso o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en la presente, una combinación se refiere a cualquier asociación entre dos o más partes. La combinación puede ser dos o más partes separadas, tales como dos composiciones o dos colecciones, puede ser una mezcla de los mismos, tal como una mezcla sencilla de las dos o más partes, o cualquier variación de los mismos. Los elementos de una combinación se asocian o relacionan generalmente de forma funcional.

Como se usa en la presente, un kit es una combinación empacada que opcionalmente incluye otros elementos, tales como reactivos adicionales e instrucciones para uso de la combinación o elementos del mismo. En particular, para los propósitos en la presente, un "kit" se refiere a una combinación de enzima activable que degrada la matriz aquí contemplada, y otro artículo para un propósito que incluye, pero no se limita a, activación, administración, diagnóstico, y evaluación de una actividad o propiedad biológica. Los kits opcionalmente incluyen instrucciones para uso.

Como se usa en la presente, "enfermedad o trastorno" se refiere a una condición patológica en un organismo, que resulta de una causa o condición que incluye, pero no se limita a, infecciones, condiciones adquiridas, condiciones

genéticas, y caracterizada por síntomas identificables. Las enfermedades o trastornos de interés en la presente son aquellas que involucran componentes de la ECM.

Como se usa en la presente, una enfermedad o afección mediada por ECM es una en donde alguno o más componentes ECM están involucrados en la patología o etiología. Para los propósitos en la presente, una enfermedad o afección mediada por ECMs incluye aquellas que son provocadas por una deposición o acumulación creciente de uno o más componentes de ECM. Tales condiciones incluyen, pero no se limitan a, celulitis, síndrome de Duputyren, enfermedad de Peyronie, hombros congelados, cicatrices existentes tales como queloides, escleroderma y linfedema.

Como se usa en la presente, "tratamiento" de un sujeto con una enfermedad o afección significa que los síntomas del sujeto están parcial o totalmente aliviados, o permanecen estáticos después del tratamiento. Así, el tratamiento abarca la profilaxis, terapia y/o cura. La profilaxis se refiere a la prevención de una enfermedad potencial y/o una prevención del empeoramiento de los síntomas o avance de una enfermedad. El tratamiento también abarca cualquier uso farmacéutico de un interferón modificado y composiciones aquí proporcionadas.

Como se usa en la presente, un agente farmacéuticamente efectivo, incluye cualquier agente terapéutico o agentes

bioactivos, incluyendo pero no limitado a, por ejemplo, anestésicos, vasoconstrictores, agentes dispersantes, fármacos terapéuticos convencionales, incluyendo fármacos de moléculas pequeñas y proteínas terapéuticas.

Como se usa en la presente, tratamiento significa cualquier forma en la cual los síntomas de una afección, trastorno o enfermedad u otra indicación, se aminoran o se alteran benéficamente de otra manera.

Como se usa en la presente, efecto terapéutico significa un efecto que resulta del tratamiento de un sujeto que altera, típicamente mejora o aminora los síntomas de una enfermedad o afección o que curan una enfermedad o afección. Una cantidad terapéuticamente efectiva se refiere a la cantidad de una composición, molécula o compuesto el cual resulta en un efecto terapéutico que sigue a la administración a un sujeto.

Como se usa en la presente, el término "sujeto" se refiere a un animal, incluyendo un mamífero, tal como un ser humano.

Como se usa en la presente, un paciente se refiere a un sujeto humano.

Como se usa en la presente, aminoramiento de los síntomas de una enfermedad o trastorno particular por un tratamiento, tal como por la administración de una

composición farmacéutica u otro terapéutico, se refiere a cualquier disminución, ya sea permanente o temporal, duradera o transitoria, de los síntomas que se pueden atribuir a o asociarse con la administración de la composición o terapéutico.

Como se usan en la presente, prevención o profilaxis se refieren a métodos en los cuales se reduce el riesgo de desarrollar una enfermedad o afección.

Como se usa en la presente, una cantidad efectiva es la cantidad de un agente terapéutico, necesaria para prevenir, curar, aminorar, suspender o suspender parcialmente un síntoma de una enfermedad o trastorno.

Como se usa en la presente, forma de dosis unitaria se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas para sujetos humanos y animales y empacadas individualmente como se conoce en la técnica.

Como se usa en la presente, una formulación de dosificación sencilla se refiere a una formulación para administración directa.

Como se usa en la presente, un "artículo de manufactura" es un producto que se hace y vende. Como se usa a lo largo de esta solicitud, el término se pretende para abarcar Enzimas activables que degradan matriz contenidas en los artículos de empaque.

Como se usa en la presente, fluido se refiere a cualquier composición que puede fluir. Fluidos abarcan así composiciones que están en la forma de semi-sólidos, pastas, soluciones, mezclas acuosas, geles, lociones, cremas y otras de tales composiciones.

Como se usa en la presente, un extracto celular o lisado se refiere a una preparación o fracción la cual se hace de una célula lisada o con disrupción.

Como se usa en la presente, animal incluye cualquier animal, tales como, pero no limitados a primates incluyendo humanos, gorilas, y monos; roedores, tales como ratones y ratas; aves, tales como pollos; rumiantes, tales como cabras, vacas, venados, ovejas; ovinos, tales como credos y otros animales: los animales no humanos excluyen a los humanos como el animal contemplado. Las enzimas aquí proporcionadas son de cualquier fuente, animal, planta, procariótico y fúngico. La mayoría de las enzimas son de origen animal, incluyendo origen de mamíferos.

Como se usa en la presente, un control se refiere a una muestra que es sustancialmente idéntica a la muestra de prueba, excepto que no se trata con un parámetro de prueba, o, si es una muestra de plasma, puede ser de un voluntario normal no afectado con una afección de interés. Un control también puede ser un control interno.

Como se usan en la presente, las formas en singular "un", "uno" y "el/la" incluyen referentes en plural a menos que el contexto lo dicte claramente de otra manera. Así, por ejemplo, la referencia a un compuesto, que comprende "un dominio extracelular" incluye compuestos con uno o una pluralidad de dominios extracelulares.

Como se usan en la presente, los intervalos y cantidades se pueden expresar como "alrededor de" un valor o intervalo en particular. Alrededor de, también incluye la cantidad exacta. Así, "alrededor de 5 bases" significa "alrededor de 5 bases" y también "5 bases."

Como se usan en la presente, "opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia posteriormente descritos sucede o no sucede, y que la descripción incluye casos en donde el evento o circunstancia sucede y casos en donde no lo hace. Por ejemplo, un grupo opcionalmente sustituido significa que el grupo está no sustituido o está sustituido.

Como se usan en la presente, las abreviaturas para cualquiera de los grupos protectores, aminoácidos y otros compuestos son, a menos que se indique de otra manera, de acuerdo con su uso común, abreviaturas reconocidas, o de la Comisión sobre Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB (ver, (1972) Biochem. 11 :1726).

B. LA MATRIZ EXTRACELULAR

Se proporcionan en la presente enzimas activables que degradan matriz (AMDE) que degradan uno o más componentes de proteína de la matriz extracelular (ECM) en una manera controlada por tiempo. En virtud de tal direccionado y la activación *in vivo* temporal, enfermedades y/o afecciones del ECM pueden tratarse. La enzima activable que degrada la matriz puede degradar cualquier componente de la ECM; la selección de enzima puede depender del componente direccionado y/o la enfermedad o afección particular a tratarse.

La ECM hace el tejido conectivo o intersticio que rodea los espacios fuera de las células y el sistema linfático y vascular, por ello propocionando soporte mecánico y estructural con y entre tejidos diferentes. El microambiente complejo y dinámico de la ECM representa un sistema de señalización y estructural dentro de tejidos conectivos, tal como la piel. Debido a la naturaleza compleja de ECM, puede servir a diversas funcionales tales como proporcionar soporte y anclaje para células, segregar tejidos, regular la comunicación intercelular, y factores de crecimiento celular secuestantes. Los defectos o cambios en la organización, o elaboración, de la ECM pueden contribuir a un número de enfermedades o afecciones. Por ejemplo, cambios en la

síntesis, degradación y organización de fibras de colágeno contribuye a lipodistrofia (por ejemplo, celulosis) y linfedema.

La ECM está compuesta de proteínas estructurales fibrosas, tales como colágenos, polisacáridos, tales como proteoglicanos y ácido hialurónico, y proteínas de adhesión que ligan componentes de la matriz uno al otro y a las células. Algunos tejidos conectivos, tales como tendón y cartílago, se hacen principalmente de ECM. La ECM elaboran el tejido conectivo de la piel, sin embargo, también se distribuye con fibroblastos, vasos sanguíneos y otros componentes. La ECM también sirve como el espacio donde el agua y estos constituyentes disueltos se mueven desde el plasma sanguíneo a los linfáticos. El fluido intersticial es casi isosmótico con el citoplasma y es amortiguado con bicarbonato para proporcionar un ambiente extracelular que está a pH neutro.

1. Componentes de la ECM

La ECM (también llamada matriz intersticial) es una estructura dinámica tridimensional en complejo que contiene numerosas macromoléculas estructurales incluyendo proteínas fibrosas tales como colágenos, elastina y fibronectina, en las cuales los glicosiaminoglicanos (GAGs) forman una sustancia tipo gel hidratada. Los componentes de la ECM se

producen por células residentes, típicamente fibroblastos o células de la familia de fibroblastos, y se secretan por medio de exocitosis donde interactúan con otros componentes de la ECM. Esta es la variación en la cantidad relativa y la manera en la cual los componentes organizados y forman juntos lo que da para diversos tejidos conectivos tales como hueso, piel o córnea (Albert et al., "Cell Junctions, Cell Adhesions and the Matriz extracelular." Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Publishers, 1994. Página 972.)

a. Colágenos

El colágeno es el principal constituyente estructural de los tejidos conectivos, tales como la piel, y juega un papel en el desarrollo y mantenimiento de arquitectura de tejido, resistencia de tejido e interacciones célula-célula. Los colágenos incluyen una familia de proteínas estructuralmente relacionadas de la ECM que contiene uno o más dominios que tienen la conformación de una hélice triple de colágeno (Van der Rest et al. (1991) FASEB J., 5:2814-2823). Los colágenos que contienen una estructura de repetición Gly-X-Y, que permite que las cadenas de colageno se tuerzan en una estructura en hélice. Cada molécula de colágeno contiene tres cadenas torcidas en una estructura en hélice. Cada molécula de colágeno contiene tres cadenas torcidas una alrededor de la otra para formar una hélice triple, designada α1-α3. La

estructura de hélice triple proporciona una alta resistencia mecánica a la molécula de colágeno. Hay al menos 27 tipos diferentes de colágenos, que difieren en secuencia de aminoácido y composición de cadena. Por ejemplo, dependiendo del tipo de colágeno, las tres cadenas que forman la hélice triple pueden las mismas o diferentes. Los colágenos pueden ser homotriméricos (es decir, las tres cadenas de polipéptido de la hélice triple se hacen del mismo colágeno) o pueden ser heterotípicos (es decir los fibrilos hechos de más de un tipo de colágeno). Los colágenos pueden dividirse en varias familias dependiendo de la estructura que forman. Estas incluyen colágenos fibrilares (también llamados colágenos intersticiales; por ejemplo, Tipo I, II, III, V y XI) y colágenos no fibrilares tales como facit (por ejemplo, Tipo IX, XII, XIV), cadena corta (por ejemplo, Tipo VIII, X), mebrana de basamento (por ejemplo, Tipo IV), y otros colágenos (por ejemplo, Tipo VI, VII, y XIII). La Tabla 2 enseguida establece tipos de colágeno comunes y su ubicación representativa (Van der Rest et al. (1991) FASEB J., 5:2814-2823); www.collagenlife.com/page_1167323108078.html; www.indstate.edu/thcme/mwking/extracellularmatrix.html).

Entre los colágenos intersticiales, moléculas de colágeno asociadas para formar fibrilos grandes, que tienen un patrón de banda distintivo. El patrón de banda resulta del

traslape entre las adjacent molecules. La resistencia de fibras de colágeno se basa en la multiplicidad de ligaduras intra- e intermoleculares de las fibras de colágeno que forman la red de fibras de colágeno densa de tejidos conectivos. El más común de los colágenos fibrilares incluye colágenos tipo I, II y III. El colágeno Tipo I se encuentra en la mayoría de los tejidos conectivos tales como piel, hueso, tendón y córnea, y se hace de dos cadenas $\alpha 1(I)$ y una cadena $\alpha 2(I)$ ($[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$). El colágeno tipo II es homotrimérico ($[\alpha 1(II)]_3$) y se encuentra predominantemente en el cartílago. El golágeno tipo III también es homotrimérico ($[\alpha 1(III)]_3$) y se encuentra predominantemente en la piel y los vaso.

No todos los colágenos forman redes de fibrilo. Por ejemplo, el colágeno de tipo IV de membrana de basamento es no fibroso y tienen interrupciones no en hélice, que actúa como una bisagra que da a la molécula mayor flexiblidad. De esta manera, el colágeno tipo IV forma una lámina hecha por red de malla de filamentos en vez de por fibrilos lineales.

La proteína más abundante de la piel es el colágeno, que se hace primariamente del tipo I (80-85%) y tipo III (8-11%) del colágeno total de la piel. El colágeno de tipo I se asocia con el colágeno tipo III para formar las principales fibras de colágeno de la dérmis. La resistencia a la tensión

de la piel se debe predominantemente a estas moléculas de colágeno fibrilares, que se ensamblan en microfibrilos en una configuración laterla cabeza a cola y estratificada lado a lado. Las moléculas de colágeno se vuelven reticuladas a las moléculas de colágeno adyacentes, creando resistencia y estabilidad adicional en fibras de colágeno. Por ejemplo, el colágeno de tipo V también se asocia con fibras de colágeno tipo I/III, y regula el diámetro del fibrilo. Otros tipos de colágeno en la piel incluyen, por ejemplo, el tipo IV, tipo VI, tipo VII, tipo XII, tipo XIV y tipo XVII.

Tabla 2: Tipos de Colágenos

Tipo	**Composición de la Molécula**	**Tejido representativo**
Colágenos Fibrilares		
I	$[\alpha1(I)]_2[\alpha2(I)]$	Piel, hueso, tendón, dentina, ligamentos, tejido intesticial
II	$[\alpha1(II)]_3$	Cartílado, humor vítreo
III	$[\alpha1(III)]_3$	Piel, músculo, vasos sanguíneos; frecuentemente asociado con tipo I
V	$[\alpha1(V)][\alpha2(V)][\alpha3(V)]$	Similar al tipo I, también cultivo celular, tejidos fetales; asociado con Tipo I
XI	$[\alpha1(XI)][\alpha2(XI)][\alpha3(XI)]$	Cartílago, cartílago invertebrado y esmalte

		óseo
Colágenos no fibrilares		
IV	$[\alpha1(IV)]_2[\alpha2(IV)]$	Membrana de basamento
VI	$[\alpha1(VI)][\alpha2(VI)][\alpha3(VI)]$	Tejidos más intesticiales; asociados con el tipo I
VII	$[\alpha1(III)]_3$	Epitelio
VIII	$[\alpha1(VIII)]_3$	Desconocido, algunas células endoteliales
IX	$[\alpha1(IX)][\alpha2(IX)][\alpha3(IX)]$	Cartílago; asociados con Tipo II
X	$[\alpha1(X)]_3$	Cartílago heterotrófico y mineralizante
XII	$[\alpha1(XII)]_3$	Ligamentos, tendones y esmalte de dientes; interactúa con tipos I y III

b. Elastina

Una red de fibras elásticas en la ECM proporciona flexibilidad a los tejidos que requieren resilencia para retroceder después de estirarse, tal como la piel, arterias y pulmones. El componente principal de las fibras elásticas es la molécula de elastina, que crea reticulaciones para moléculas de elastina adyacentes. Estas moléculas forman un núcleo de fibras elásticas y se cubren por fibrilina, una glicoproteína grande que se enlaza a elastina y es importante para la integridad de las fibras elásticas.

C. Fibronectina

La fibronectina es una glicoproteína que existe como un par de dos subunidades grandes unidas por un par de enlaces disulfuro cerca de las tterminales carboxi. Cada subunidad contiene dominios funcionalmente distintos específicos para otras macromoléculas de matriz y receptores en la superficie de las células. Por ejemplo, los dominios distintos de fibronectina unen colégano (dominios separados para tipos I, II y III), heparina, fibrina y receptores de superficie celular tales como integrinas. La fibronectina se presenta tanto en plasma como tejido. En el tejido, la fibronectina funciona para ligar en conjunto diferentes tipos de moléculas ECM y células. También contiene un dominio enlazado a la célula importante hecho de los tres aminoácidos, Arg-Gly-Asp (RGD), que se reconoce por receptores de integrina en las membranas de plasma de células. El enlace de moléculas de fibronectina a receptores de integrina en células lleva a la estimulación de las trayectorias de señalización que promueven la unión, migración y diferenciación de célula. Estas características permiten a la fibronección jugar un papel importante en la adhesión celular y comunicar señales entre las células y los componentes de la ECM.

d. Glicosaminoglicanos (GAGs)

Las GAGs son cahdenas de polisacáridos no ramificadas

hechas de unidades de disacáridos repetidas que son fuertemente hidrofílicas. Las GAGs son cargadas altamente de forma negativa y por lo tanto atraen Na^+ osmóticamente activo, lo que causa que grandes cantidades de agua se saquen en su estructura para mantener la ECM hidratada. Las GAG, tales como sulfato de dermatan, contienen típicamente múltiples cadenas de glicosaminoglicano de 70-200 azúcares de largo (formados de unidades de disacárido repetidas) que ramifican desde un núcleo de proteína lineal. Esto resulta en GAGs que ocupan un volumen enorme con relación a su masa y forman geles a muy bajas concentraciones. La naturaleza hidrofílica de las GAGs causa una presión de hinchazón, o turgencia, que permite que la ECM soporte fuerzas de compresión.

En la ECM, las GAGs se unen a las proteínas ECM para formar proteoglicanos o, en el caso de ácido hialurónico (también llamado hialuronano), existen como un componente de matriz no proteoglicano. Los proteoglicanos extracelulares son moléculas grandes, altamente hidratadas, que ayudan a amortiguar las células en la ECM. Los glicosaminoglicanos tales como hialuronano contribuyen a la "sustancia molida" al crear una barrera al flujo de fluido de volumen a través de la matriz de colágeno intersticial por medio de su viscosidad y agua de hidratación. Las GAGs de proteoglicanos y no

proteoglicanos se asocian para formar complejos poliméricos grandes en la ECM. Estas se asocian una con la otra, y también con proteínas fibrosas tales como colágeno.

i. Proteoglicanos

Hay tres tipos principales de GAGs que forman proteoglicanos de la ECM, incluyendo sulfato de dermatan y sulfato de condroitina, heparina y sulfato de heparano, y sulfato de ceratan. Generalmente, un proteoglicano es 95% carbohidrato en peso, típicamente en la forma de cadenas GAG no ramificadas largas. Además de proporcionar espacio hidratado alrededor de las células, los proteoglicanos también regulan el tráfico de moléculas y células, enlazan moléculas de señalización jugando por ello un papel en la activación celular, y enlaza otras proteínas secretadas tales como proteasas e inhibidores de proteasas para regular las actividades de proteínas secretadas (Albert et al., "Cell Junctions, Cell Adhesions and the Matriz extracelular." Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Publishers, 1994. pp. 972-978.) Por ejemplo, las cadenas de sulfato de heparina de proteoglicanos enlazan a varios factores de crecimiento diferentes, incluyendo factores de crecimiento de fibroblastos (FGFs), ayudándolos a enlazarse a sus receptores de superficie específicos.

El agrecano es un proteoglicano, que contiene

principalmente GAGs de sulfato de condroitina y sulfato de heparano, y se encuentra típicamente en agregados grandes que forman el cartílago con hialuronano para proporcionar soporte mecánico. La decorina es otra GAG ejemplar de tejido conectivo hecha primariamente de GAGs de sulfato de condroitina y sulfato de dermatan. Se enlaza a fibrilos de colágeno tipo I. el perlecan y betaglicano son otros proteoglicanos ejemplares de la ECM. No todos los proteoglicanos se asocian con la ECM: por ejemplo, serglicina se asocia con vesículas secretoras donde ayuda a empacar y almacenar moléculas secretoras, y sindecanos se encuentran en la superficie celular y actúan como co-receptores (Albert et al., "Cell Junctions, Cell Adhesions and the Matriz extracelular." Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Publishers, 1994. pp. 972-978.)

Los proteoglicanos de sulfato de heparan (HSPGs) son macromoléculas ubicuas asociado con la superficie celular y matriz celular (ECM) de un amplio rango de células de tejidos vertebrados e invertebrados (Wight, T. N., Kinsella, M. G., and Qwarnstromn, E. E. (1992) Curr. Opin. Cell Biol, 4,793-801; Jackson, R. L., Busch, S. J., and Cardin, A. L. (1991) Physiol. Rev., 71,481-539; Wight, T. N. (1989) Arteriosclerosis, 9,1-20; Kjellen, L., and Lindahl, U. (1991) Annu. Rev. Biochem., 60,443-475; y Ruoslahti, E., and

99

Yamaguchi, Y. (1991) Cell, 64,867-869). La estructura HSPG básica consiste de un núcleo de proteína al cual se enlazan covalentemente varias cadenas de sulfato de heparano lineales. Las cadenas de polisacárido se componen típicamente de unidades de D-glucosamina y hexurónicas repetidas que están sustituidas hasta una extensión variable con porciones de sulfato ligadas a N y O y grupos acetilo ligados a N. los estudios en el involucramiento de moléculas ECM en el enlace celular, crecimiento y diferenciación revela un papel central de HSPGs en morfogénesis embriónicos, angiogénesis, metastasis, crecimiento de neuritas y reparación de tejido. Las cadenas de sulfato de heparano (HS), que son únicas en su capacidad para enlazar una multitud de proteínas, asegura que una amplia variedad de moléculas efectoras se pegen a la superficie celular. Las HSPGs también son componentes prominentes de los vasos sanguíneos. En los vasos grandes están mayormente concentradas en el íntimo y revestimiento medio, mientras que en los capilares se encuentran principalmente en la membrana de base subendotelial donde soportan células endoteliales proliferantes y migrantes y estabilizan la estructura de la pared capilar. La capacidad de las HSPGs para interactuar con macromoléculas ECM tales como colágeno, laminina y fibronectina, y con diferentes sitios de enlace en las membranas de plasma sugiere un papel

clave para este proteoglicano en el auto-ensamble e insolubilidad de componentes ECM, así como en adhesión y locomoción celular.

ii. Ácido hialurónico

El ácido hialurónico (HA; también llamado hialuronano) es una GAG grande que atraer agua, y cuando se enlaza al agua existente en una forma tipo gel, viscosa. De esta manera, el HA sirve como un lubricante, manteniendo juntos los tejidos conectivos tipo gel. El HA es un polímero de disacáridos (algunas veces tanto como 25,000 repeticiones en longitud) y está compuesto de unidades de repetición de dos azúcares sencillos modificados: ácido glucurónico y N-acetil glucosamina. El HA es parte de la ECM de muchos tejidos conectivos. El HA se encuentra en la cantidad más grande en la piel con casi el 50% del HA del cuerpo encontrado en la piel. El HA proporciona humedad continua a la piel al enlazar agua. La producción reducida de HA, tal como por la edad, resulta en piel arrugada y poco saludable.

El HA, principalmente a través de su receptor CD44, también funciona para regular el comportamiento celular durante el desarrollo y morfogénesis embriónica, cicatrización de heridas, reparación y regeneración, inflamación y progreso e invasión de tumor (Harada et al. (2006) J. Biol. Chem., 8:5597-5607). El HA se desgrada por

hialuronidasas. Los productos de degradación de HA pueden encontrarse en cantidades incrementadas en tejidos dañados o en crecimiento, y en una variedad de afecciones inflamatorias. Los fragmentos de HA promueven la angiogénesis y pueden estimular la producción de citoquina por macrófagos y células dendríticas en tejido lesionado y transplante de piel.

2. Histología de la piel

La piel está compuesta de varias capas distintas, principalmente la epidermis y dermis. La epidermis es un epitelio especializado derivado del ecotodermo, y debajo está la dermis, que es un derivado del mesodermo y es un tejido conectivo denso vascular. Estas dos capas se adhieren firmemente una a la otra y forman una región que varía en grosor general desde aproximadamente 0.5 hasta 4 mm en áreas diferentes del cuerpo. Debajo de la dermis está una capa de tejido conectivo suave, que varía desde areolar hasta adiposo en carácter. Se refiere como la hipodermis, pero típicamente se considera que no es parte de la piel. La dermis se conecta a la hipodermis al conectar fibras de tejido que pasan desde una capa a la otra.

a. La Epidermis

La epidermis es la capa de piel directamente arriba de la dermis, y es la capa de superficie de la piel. La función

principal de la epidermis es actuar como una barrera protectora contra la pérdida de agua, lesión química y patógenos invasores. La epidermis es una capa delgada de aproximadamente quince capas de células que es de alrededor de 0.1 hasta 1.5 milímetros de grosor compuestas primariamente de queratinocitos (Inlander, Skin, New York, N. Y.: People's Medical Society, 1-7 (1998)). La epidermis por sí misma está dividida en varias capas (por ejemplo, estrato basal, estrato espinoso, estrato granuloso, estrato lúcido, estrato córneo) con base en el estado de diferenciación de los queratinocitos. Los queratinocitos se originan en la capa basal de células madre de queratinocitos. Ya que los queratinocitos crecen y se dividen, pueden experimentar una diferenciación que alcanza eventualmente el estrato córneo donde forman una capa de células altamente queratinizadas, aplanadas, enucleadas, llamadas células escamosas (también llamadas corneocitos). Además de hacerse de corneocitos, el estrato córneo también contiene sebo. El sebo se secreta por glándulas sebaseas, que se encuentran usualmente en las áreas cubiertas de pelo conectadas a los folículos de cabello.el sebo es una capa ligeramente ácida que ayuda a mantener los corneocitos juntos y con humedad. Esta acidez se debe a la presencia de aminoácidos anfotéricos, ácido láctico y ácidos grasos que hacen el sebo. De esta manera, el pH de la

superficie de la piel está normalmente entre 5 y 6, típicamente alrededor de 5.5. El sebo actúa para impermeabilizar el pelo y la piel, y los protege de que se sequen, quiebren y rompan, y también inhibe el crecimiento de microorganismos en la piel. El término "manto ácido" se refiere a la presencia de las sustancias solubles en agua en la mayoría de las regiones de la piel.

b. La Dermis

El tejido conectivo de la piel se llama la dermis. La dermis es de 1.5 hasta 4 mililitros de espesor. En la piel, la dermis contiene componentes ECM; los componentes de proteína principal son colágeno y elastina. La dermis también es el hogar para la mayoría de las estructuras de la piel, incluyendo sudor y glándulas sebáseas que secretan sustancias a través de las aberturas en la piel llamadas poros, o comedones, folículos capilares, terminaciones nerviosas, y vasos sanguíneos y linfáticos (Inlander, Skin, New York, N. Y.: People's Medical Society, 1-7 (1998)).

c. La Hipodermis

Bajo la dermis está la hipodermis, que es una capa grasa y es la capa más profunda de la piel. Esta actúa como un aislante para la conservación del calor corporal y como un absorbente de golpes para protección de los órganos (Inlander, Skin, New York, N. Y.: People's Medical Society,

1-7 (1998)). Además, la hipodermis también almacena grasa para reservas de energía.

3. Enfermedades de la ECM

Ciertas enfermedades y afecciones resulta de defectos o cambios en la arquitectura de la matriz extracelular debido a la expresión o producción aberrante de los componentes de ECM. Por ejemplo, en algunas condiciones inflamatorias tales las que ocurren durante la cicatrización de heridas, se secretan las citoquinas, que estimulan los fibroblastos a secretar componentes de ECM tales como colágeno. Los componentes de ECM acumulan y se depositan localmente, lo que resulta en un amplio rango de afecciones fibróticas. La desposición de matriz es una característica frecuente en muchas enfermedades inflamatorias crónicas y en otras enfermedades y afecciones. Se incluyen entre estas las afecciones de enfermedad mediada por colágeno tal como, pero no se limita a, cicatrices tales como queloides y cicatrices hipertróficas, síndrome de Duputyren, enfermedad de Peyronie y linfedema. La celulosis también es una enfermedad prominente de la ECM que, además de incrementar la adipogenicidad, se caracteriza por alteraciones en la matriz de tejido conectivo que resulta en una red de septo fibroso anormal de colágeno (Rawlings et al. (2006) Int. J Cos. Science, 28:175-190).

Las enfermedades y afecciones de la ECM que se caracterizan

por la expresión aberrante o sobreproducción de componentes de matriz, resulta en su acumulación y deposición indeseada. En virtud de la activación temporal de tales enzimas durante la administración in vivo, el tratamiento de tales enfermedades y afecciones se regula para limitar la degradación enzimática de los componentes de matriz. Por ejemplo, al limitar la duración de la acción de degradación de matriz, se minimizan los efectos secundarios indeseados tales como degradación de proteína incontrolada.

C. Enzimas que degradan matriz

Se proporcionan en la presente composiciones, combinaciones y recipientes que contienen enzimas activables que degradan matriz, y métodos para usar las enzimas activables que degradan matriz para tratar enfermedades o afecciones mediadas por ECM. Las enzimas que degradan matriz degradan los componentes de la proteína o glicoproteínas de la ECM, que incluye, pero no se limita a, colágeno, elastina, fibronectina y proteoglicanos. En virtud de su capacidad para desdoblar uno o más componentes ECM, enzimas activables que degradan matriz proporcionadas en la presente pueden usarse para modificar la matriz de tejidos, particularmente aquellos que exhiben defectos o cambios estructurales debido al exceso de una o más proteína ECM o acumulación indeseada de tejido fibroso rico en una o más proteínas ECM, tal como colágeno. De esta manera, tales enzimas

son útiles para tratar enfermedades o afecciones en las cuales están involucradas las proteínas ECM.

Entre las enzimas que degradan matriz están las proteasas y glicosil hidrolasas. Por lo tanto, las enzimas que degradan matriz incluyen proteínas que son enzimas que degradan la proteína que reconocen secuencias de aminoácidos o un sustrato polipéptido dentro de una proteína objetivo y también hidrolasas que reconocen enlaces no péptidos tales como enlaces de éster o grupos glicosilo. Entre las proteasas están las exoproteasas de las familia serina, cisteína, aspártico y metalo-proteasa. Una vez que se reconoce la secuencia del sustrato, las proteasas catalizan la hidrólisis o desdoblamiento de una proteína objetivo. Tal hidrólisis de una proteína objetivo, dependiendo de la ubicación del enlace péptido dentro del contexto de secuencias de longitud completa de la secuencia objetivo, pueden inactivar, o en algunos casos activar, un objetivo.

Varios tipos distintos de mecanismos catalíticos se usan por proteasas (Barret et al. (1994) Meth. Enzymol. 244:18-61; Barret et al. (1994) Meth. Enzymol 244:461-486; Barret et al. (1994) Meth. Enzymol. 248:105-120; Barret et al. (1994) Meth. Enzymol. 248:183-228). Con base en su mecanismo catalítico, las proteasas que desdoblan enlaces péptidos se subdividen en serina-, cisteína-, aspártico-, treonina- y metalo- proteasas. Las péptidasas tipo serina tienen un residuo de serina

involucrado en el centro activo, peptidasas tipo cisteína que tienen un residuo de cisteína, peptidasas tipo treonina que tienen un residuo treonina, y metalo-peptidasas que usan iones de metal en el mecanismo catalítico. La actividad catalítica de las proteasas se requiere para desdoblar el sustrato objetivo. La serina y metaloproteinasas son más activas a pH neutro, mientras la cisteína y proteasas áspárticas, encontradas predominantemente en lisosomas, tienen pH ácido óptimo. De esta manera, las proteasas lisosomales incluyen proteasas de las familias de cisteína y proteasa aspárica. Otras familias de enzimas incluyen las hidrolasas tales como esterasas que actúan en los enlaces éster y glicolasas que hidrolisan compuestos O- o S-glicosilo o compuestos N-glicosilos. La gtlicosil hidrolasa ejemplar es heparanasa.

Las enzimas que degradan matriz ejemplares se establecen en la TABLA 3 (ver por ejemplo, Chapman et al., Am J. Physiol Heart Circ. Physiol. (2004) 286: 1-10; Iozzo RV, Proteoglycans: Structure, biology, and Molecular Interactions, CRC Press (2000), pp. 94-96; Owen et al. (1999) J. Leuk. Biol., 65: 137-150; Buhling et al. (2004) Eur. Respir. J., 23:620-628; Thomas Kreis and Ronald Cale, Matriz extracelular, Anchor and Adhesion Proteins, Oxford University Press (1999) pp. 515-523; Ian M. Clark and Gillian Murphy. "Matrix Proteinases," en Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism, Academic Press (2006), pp. 181-

198; Buck et al. (1992) Biochem J., 282:273-278). Los identificadores de secuencia (SEQ ID NO) para la secuencia de nucleótido (mARN) y secuencia de aminoácido codificada del polipéptido precursor para cada una de las proteasas ejemplares se describen en la Tabla. Los identificadores de secuencia (SEQ ID NO) para la secuencia de aminoácido de la proproteína para cada una de las proteasas ejemplares también se describen en la Tabla, así como las posiciones de aminoácido dentro de la proteína que corresponde al propéptido. También existen variaciones entre las variantes alélicas y de especies y otras variantes conocidos en la técnica, y tales variantes también se contemplan para uso como enzimas activables. La Tabla también establece sustratos objetivo ECM ejemplares para cada enzima. La referencia a tales sustratos es para referencia y ejemplificación, y no se pretende que represente una lista exhaustiva de todos los sustratos objetivo. Alguien de experiencia en la técnica conoce o puede determinar empíricamente los sustratos objetivo ECM para la enzima deseada usando ensayos de rutina, justo como cualquiera descrito en la presente.

Las enzimas que degradan matriz pueden producirse o aislarse por cualquier método conocido en la técnica incluyendo aislado de fuentes naturales, aislado de proteínas recombinantemente producidas en células, tejidos y organismos y

por métodos recombinantes y por métodos que incluyen etapas in silico, métodos sintéticos y cualquiera de los métodos conocidos por aquellos de habilidad en la técnica. Típicamente, las enzimas se producen o aíslan en una forma inactiva. La activación condicional puede alcanzarse como se describe enseguida.

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	**Sustrato**	**Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC) www.expasy.ch/sprot/enzyme.html**	**GenBank No.**	**SEQ ID NO**		
				Precursor		**maduro**
				nt	**aa** (aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	**aa**
Serina Proteasa						
Elastasa pancreática (PE1; Elastasa-1)	elastina	3.4.21.36	Q9UNI1; NM_001971	19	20 (ss aa 1-8; pp aa 9-18)	21
Elastasa-2A	elastina	3.4.21.71	P08217; NM_033440	22	23 (ss aa 1-16; pp aa 17-28)	24
Elastasa-2B	elastina	3.4.21.71	P08218; NM_015849	25	26 (aa aa 1-16; pp aa 17-28)	27
Neutrofil elastasa (NE; leucocito elastasa; elastasa-2)	Elastina, fibronectina, laminina, colágeno tipo II, IV, VI, proteoglicanos	3.4.21.37	P08246 NM_001972	28	29 (ss aa 1-17; pp aa 28-29)	30
Proteinasa-3 (PR-3; mieloblastina)	elastina, fibronectina, laminina, vitronectina, tipo colágeno	3.4.21.76	P24158 NM_002777	31	32 (ss aa 1-25; pp aa 26-27, 249-256)	33

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	**Sustrato**	**Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC)**	**maduro** (aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)
Elastasa vascular endógena (EVE; elastasa de tejido; factor D de complemento)	elastina		
Catepsina G	Tipo IV colágeno, laminina, fibronectina, proteoglicano, elastina		
Quimasa de mastocito	Tipo IV colágeno, laminina, fibronectina, proteoglicano		
Triptasa de mastocito	Fibronectina, fibrinógeno, colágeno tipo IV, proteoglicano		
Plasmina	Proteoglicano, fibronectina, laminina		
Trombina	proteoglicano		
Granzima B	proteoglicano		
Cisteína Proteasa			
Catepsina S	Elastina, colágeno		
Catepsina K	elastina, colágeno I y III		
Catepsina L	elastina, colágeno I y		

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	Sustrato	Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC) www.expasy.ch/sprot/enzyme.html	GenBank No.	SEQ ID NO		
				Precursor		maduro
				nt	aa (aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	aa
	IV				aa 18-113)	
Catepsina B	Colágeno IV, laminina, fibronectina	EC 3.4.22.1	P07858 NM_001908	63	64 (ss aa 1-17; pp aa 18-79)	65
Catepsina C	Proteoglicanos (decorina)	EC 3.4.14.1	P53634 NM_001814	178	179 (ss aa 1-24; pp aa 135-230)	180
Catepsina H	fibronectina	EC 3.4.22.16	P09668 X16832	66	67 (ss aa 1-22; pp aa 23-97)	68
Catepsina F	Fragmentos de colágeno	EC 3.4.22.41	Q9R013 NM_019861 (*Mus musculus*)	69	70 (ss aa 1-19; pp aa 20-248)	71
Catepsina F	Fragmentos de colágeno	EC 3.4.22.41	Q9UBX1 NM_003793	181	182 (ss aa 1-19; pp 20-270)	183
Catepsina O	fibrinógeno	EC 3.4.22.42	Q8BM88 NM_177662 (*mus musculus*)	72	73 (aa aa1-23; pp aa 24-98)	74
Catepsina O	fibrinógeno	EC 3.4.22.42	P43234 NM_001334	184	185 (ss aa 1-23; pp aa 24-107)	186
Catepsina R		EC3.4.22.-	Q9JIA9 NM_020284 (*mus musculus*)	75	76 (ss aa 1-17; pp aa 18-114)	77
Catepsina V (Catepsina L2)	colágeno	EC 3.4.22.43	O60911 NM_001333	187	188 (ss aa 1-17; pp aa 18-113)	189
Catepsina W		EC 3.4.22.-	P56202 NM_001335	78	79 (ss aa 1-21; pp aa 22-127)	80
Calpaína 1	fibronectina, vitronectina, proteoglicanos	EC 3.4.22.52	Subunidad grande de Calpaína 1: P07384 NM_005186	81		82

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	**Sustrato**	**Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC)**		**maduro**
			(aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	
Calpaína 2	Fibronectina, vitronectina, proteoglicanos		Subunidad grande de calpaína 2:	(aa 1 metionina inicial)
		Subunidad 1 pequeña de calpaína (asociada con subunidades grandes de Calpaína 1 y 2)		
Legumaína				
Catepsina Z (catepsina X)				
Proteasa Aspártica				
Catepsina D	proteoglicano			
Catepsina E	proteoglicano		Isoforma a	
			Isoforma b	
Metalo-Proteasa				
(colagenasa -1)	Colágeno I, II, III, VII, VIII, X, XI, gelatina, proteoglicano, fibronectina, glicoproteína			
(colagenasa -2)	Colágeno I, II, III, agrecano			

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	**Sustrato**	**Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC)**	(aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	**maduro**
(colagenasa -3)	Colágeno I, II, III, IV, VI, IX, X, XIV, gelatina, proteoglicano, fibronectina, glicoproteína			
(colagenasa -4)	colágeno I			
(gelatinasa A)	gelatinas, colágeno I, II, III, IV, V, VII, X, XI, elástina, fibronectina, laminina, proteoglicano, glicoproteína			
(gelatinasa B)	gelatina, colágeno I,V, V; VI, XIV, elástina, laminina, proteoglicano, glicoproteína			
(estromelisina -1)	fibronectina, elastina, laminina, gelatina, proteoglicano, glicoproteína, colágeno III, IV, V, VII, IX, X, XI			
(estromelisina -2)	colágeno III, IV, V, elastina, gelatina, fibronectina, agrecano			
(estromelisina-	Gelatina, fibronectina,			

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	Sustrato	Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC) www.expasy.ch/sprot/enzyme.html	GenBank No.	SEQ ID NO		
				Precursor		maduro
				nt	aa (aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	aa
3)	laminina, colágeno IV				pp aa 32-97)	
MMP-7 (matrilsina)	fibronectina, laminina, elastina, gelatina, colágeno I, IV, proteoglicano, glicoproteína	3.4.24.23	P09237 NM_002423	124	125 (ss aa 1-17; pp aa 18-94)	126
MMP-26 (matrilsina-2)	colágeno IV, fibronectina, gelatina, proteoglicano	3.4.24.-	Q9NREI NM_021801	127	128 (ss aa 1-17; pp aa 18-89)	129
MMP-12 (metaloelas-tasa)	elastina, fibronectina, laminina, colágeno I, IV, V, gelatina, proteoglicano, glicoproteína	3.4.24.65	P39900 NM_002426	130	131 (ss aa 1-16; pp aa 17-105)	132
MMP-14 (MT1-MMP)	colágeno I, II, III, gelatina, agrecano, fibronectina, laminina, proteoglicano, glicoproteína	3.4.24.80	P50281 NM_004995	133	134 (ss aa 1-20; pp aa 21-111)	135
MMP-15 (MT2-MMP)	agrecano, fibronectina, laminina, glicoproteína	EC 3.4.24.-	P51511 NM_002428	136	137 (ss aa 1-41; pp aa 42-131)	138
MMP-16 (MT3-MMP)	Colágeno III, fibronectina, laminina, gelatina, proteoglicano	EC 3.4.24.-	P51512 NM 005941	139	140 (ss aa 1-31; pp aa 32-119)	141
MMP-17 (MT4-MMP)	gelatina	EC 3.4.24.-	Q9ULZ9 AB021225	142	143 (ss aa 1-38; pp aa 39-128)	144
MMP-24 (MT5-MMP) Transmembrana	fibronectina, gelatina, proteoglicano	EC 3.4.24.-	Q9Y5R2 NM_006690	309	310 (ss aa 1-52; pp aa 53-155)	311

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz

Proteasa	Sustrato	Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC) www.expasy.ch/sprot/enzyme.html	GenBank No.	SEQ ID NO		
				Precursor		maduro
				nt	aa (aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	aa
MMP-25 (MT6-MMP) ancla GPI	colágeno IV, gelatina, fibronectina, proteoglicano	EC 3.4.24.-	Q9NPA2 NM_022468	312	313 (ss aa 1-21; pp aa 22-107)	314
MMP-19	colágeno IV, gelatina, laminina, agrecano, fibronectina, glicoproteína	EC 3.4.24.-	Q99542 NM_002429	145	146 (ss aa 1-18; pp aa 19-97)	147
MMP-20 (enamelsina)	agrecano	EC 3.4.24.-	O60882 Y12779	148	149 (ss aa 1-22; pp aa 23-107)	150
MMP-x (MMP-21) (XMMP)	Sin sustratos definidos	EC 3.4.24.-	O93470 NM_001085816 (*Xenopus*)	151	152 (ss aa 1-22; pp aa 23-180)	153
MMP-21	gelatina	EC 3.4.24.-	Q8N119 NM_147191	315	316 (ss aa 1-24; pp aa 25-144)	317
MMP-23 CA-MMP	gelatina	EC 3.4.24.-	O75900 AJ005256	318	319	320
MMP-27 CMMP	gelatina	EC 3.4.24.-	Q9H306 NM_022122	321	322 (ss aa 1-17; pp aa 18-98)	323
MMP-28 (epilisina)		EC 3.4.24.-	Q9H239 NM_024302	324	325 (ss aa 1-22; pp aa 23-122)	326
ADAMTS-1	agrecano	EC 3.4.24.	Q9UHI8 NM_006988	157	158 (ss aa 1-49; pp aa 50-252)	159
ADAMTS-2	Procolágeno I, procolágeno II	EC 3.4.24.	O95450 AJ003125	160	161 (ss aa 1-29; pp aa 30-253)	162
ADAMTS-3	Procolágeno II	EC 3.4.24.14	O15072 NM_014243	163	164 (aa 1-229)	165
ADAMTS-4 (agrecanasa-1)	agrecano	EC 3.4.24.82	O75173 NM_005099	166	167 (ss aa 1-51; pp aa 52-212)	168

TABLA 3: Enzimas que Degradan matriz						
Proteasa	**Sustrato**	**Código de acceso al banco de datos de la enzima (EC) www.expasy.ch/sprot/enzyme.html**	**GenBank No.**	**SEQ ID NO**		
				Precursor		**maduro**
				nt	**aa** (aa de secuencia de señal(ss); aa de pro-péptido(pp)	**aa**
ADAMTS-5 (agrecanasa-2)	agrecano	EC 3.4.24.	Q9UNA0 NM_007038	169	170 (ss aa 1-16; pp aa 17-261)	171
ADAMTS-14	Procolágeno II	EC 3.4.24.	Q8WXS8 Isoforma a NM_139155	172	173 (ss aa 1-22; pp aa 23-252)	174
			Isoforma a NM_080722	175	176 (ss aa 1-22; pp aa 23-252)	177
Otro						
Heparanasa	Proteoglicano	EC 3.2.-.-	Q9Y251 AF152376	154	155 (ss aa 1-35; pp aa 110-157)	156

1. Activación de Enzimas

La mayoría de las proteasas se sintetizan y secretan como formas inactivas y requieren procesamiento adicional para volverse activas. La activación se alcanza típicamente por cambios conformacionales, estéricos u otros que revelan el sitio activo de las enzimas. Con la excepción de calpaínas, todas las enzimas proteasas se sintetizan típicamente como zimógenos. La activación de zimógeno previene la degradación de proteína indeseada que ocurriría si las proteasas siempre estubieran presentes en una forma

activa. Generalmente, las porciones de terminal N que contienen zimógenos (o prosegmentos o proregiones) que bloquean estéricamente el sitio activo de la proteasa y previenen el acceso de sustratos al sitio activo de la proteasa. Los prosegmentos de los zimógenos están en uin intervalo de tamaño desde dos residuos hasta 150 residuos. Durante la secreción de una forma preproenzima, la proenzima (que contiene el prosegmento) es inactiva.

Durante la remoción proteolítica del prosegmento del zimógeno, ya sea autocatalíticamente o por otras proteasas, el sitio activo de la enzima se expone resultando en una proteasa madura, y típicamente, activación. En algunos casos, sin embargo,m también se requieren cofactores adicionales para la activación completa. Por ejemplo, el cambio de pH dispara la activación de enzimas de la familia de cisteína, asártico y metaloproteasa. El pH bajo actúia para incrementar la susceptibilidad del prosegmento como un sustrato durante la conversión del zimógeno o causa un cambio conformaciones en el prosegmento o enzima (Jerala et al. (1998) J Biol. Chem., 273:11498-1 1504). Las enzimas lisosomales, tales como catepsinas de las familias de proteasas de cisteína y aspártica, requieren condiciones ácidas antes de alcanzar la activación completa. Además del pH, otros cofactores incluyen, pero no se limitan a, concentración de sal, agentes

reductores tales como cisteína, DTT y TCEP, iones de metal tales como calcio, calor o temperatura. De esta manera, existen varios mecanismos de conversión de zimógeno y varían entre las familias de proteasa (ver por ejemplo, Khan et al. (1998) Protein Science, 7:815-836; Khan et al. (1999) PNAS, 96: 10968-10975). Por ejemplo, la conversión de zimógeno a la enzima activa a menudo se presenta como un resultado de la proteólisis por autocatálisis o acciones de otras proteasas, cambios en el pH, o el involucramiento de moléculas o iones accesorios, o una combinación o una o más de las condiciones anteriores. El control adicional sobre el tiempo y la ubicación de acción a menudo se alcanza por inhibidores de proteína (Stroud et al. (1977) Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 6:177-93).

a. Serina Proteasas

Las serinas proteasas (SPs), que incluyen enzimas secretadas y enzimas secuestradas en organelos de almacenaje citoplásmico, tienen una variedad de papeles fisiológicos, incluyendo coagulación sanguínea, cicatrización de heridas, digestión, respuestas inmunitarias e invasión y metástasis de tumor. Muchas serinas proteasas degradan componentes de la matriz extracelular (ver Tabla 2 enseguida). Por ejemplo, las proteasas involucradas en la degradación y remodelación de la matriz extracelular (ECM) contribuyen a la remodelación de

tejido, y son necesarias para invasión y metástasis del cáncer.

La actividad de proteasas en la familia de serina proteasa depende de un conjunto de residuos de aminoácido que forman su sitio activo. Uno de los residuos siempre es una serina; por lo tanto su designación como serina proteasas. El mecanismo de desdoblado de una proteína objetivo por una serina proteasa se basa en el ataque nucleofílico del enlace peptídico dirigido por una serina. La serina catalítica forma un intermediario tetrahédrico enlazado covalentemente con el átomo de carbonilo del enlace péptido de escisión de substratos. En muchos casos la propiedad nucleofílica del grupo se mejora por la presencia de una histidina, que se adhiere en un "estado aceptor del protón" por un aspartato. Las cadenas laterales alineadas de serina, histidina y aspartato construyen la triada catalítica común para la mayoría de las serina proteasas.

La mayoría de las serina proteasas existen como zimógenos en la forma precursora, y de esta manera son inactivos. En la forma de zimógeno del sitio activo de proteasa para catalizais se distorsiona comparado con la enzima activa. De hecho, las serina proteasas son la única familia de proteasas quienes tienen diferencias conformaciones en el sitio activo entre el zimógeno y la

forma activa de la proteasa. De esta manera, la triada catalítica existe en el zimógeno, pero un rizo distorcionado de la protenzima obstruye parcialmente la endidura enlazada al sustrato. Como un resultado, el polipéptido de sustrato no enlaza efectivamente, y la proteólisis no se presenta. Sólo después de la activación, durante lo cual la conformación y estructura del zimógeno cambia y el sitio activo se abre, puede presentarse la proteólisis.

Las serina proteasas son activas a pH neutro. La conversión del zimógeno se presenta después de la proteólisis limitada, tal como por desdoblamiento catalítico altamente específico por otra proteasa o por auto-activación. Por ejemplo, la conversión de la protrombina inactiva a la forma activa de la enzima (trombina) se alcanza por desdoblamiento catalítico altamente específico del prosegmento por otra de las enzimas de coagulación (factor Xa). Otras serina proteasas usan mecanismos similares, pero los sitios de desdoblamiento de activación difieren y de esta manera las serina proteasas típicamente se activan por diferentes convertasas.

Las serina proteasas asociadas con gránulo, incluyendo pero no limitado a, granzimas A y B, catepsina G, neutrófilo elastasa, proteinasa 3, y triptasa de masticitos y quimasa requieren de un evento proteolítico doble para la activación.

J21

Estas enzimas se sintetizan como preproenzimas; desdoblan el péptido de señal lo que resulta en una forma de proenzima zimógeno que es inactiva. Las serina proteasas asociadas con gránulo contienen un prodipéptido en la terminal N de la enzima, y también contienen una extensión de terminal carboxi que también deberá removerse de la activación. El prodipéptido previene el plegado de la enzima madura en una formación catalíticamente activa. La activación de las serina proteasas asociadas con gránulo se alcanza por el desdoblado de tanto la extensión carboxi-terminal como el prodipéptido. La catepsina C se ha implicado en el desdoblamiento del prodipéptido en al menos algunas serina proteasa asociada con el gránulo (Kummer et al. (1996) J Biol. Chem., 271 :9281-9286).

b. Cisteína Proteasas

Las cisteína proteasas contienen un par Cys-His en su sitio activo, y su activación catalítica involucra un grupo cisteína sulfhidrilo. La desprotonación de la cisteína sulfhidrilo por un residuo de histidina adyacente se sigue por ataque nucleofílico de la cisteína en el péptido carbonilo carbono. Un tioéster que liga la terminal carboxi nueva a la cisteína tiol es un intermediario de la reacción (comparable con el intermediario acilo-enzima de una serina proteasa). La cisteína proteasa incluye papaína, catepsina,

caspasas, y calpaínas. Los mecanismos de activación de estas familias diferentes de cisteína proteasas difieren.

i. Catepsinas

Las cisteína proteasas tipo papaína, incluyendo catepsinas, son una familia de endo-peptidasas dependientes de tiol relacionados por similitud estructura a la papína. Estas forman una proteína de dos dominio con los dominios etiquetados R y L (para derecho e izquierdo) y rizos desde ambos dominios forman una hendidura de reconocimiento de sustrato. Las catepsinas se sintetizan como zimógenos que contienen un prosegmento; el prosegmento actúa como un prosegmento inhibidor de terminal N. aunque hay alrededor de 25% de secuencia identificada entre las enzimas maduras, los prosegmentos exhiben poca similitud de secuencia. El prosegmento funciona como un inhibidor potente de la enzima madura. El prosegmento también sirve para otras funciones tales como jugar un papel en el plegado y estabilidad de la enzima durante la síntesis y transporte a pH neutro.

Las catepsinas de la familia de cisteína proteasa son enzimas lisosomales y de esta manera se activan óptimamente debajo de pH 7 y se vuelven inactivos arriba de pH 7. Las catepsinas se sintetizan como precursores inactivos (es decir zimógenos), y se activan por la remoción proteolítica del prosegmento. Esto resulta en la generación de enzimas de

cadena sencilla. Generalmente, las enzimas de cadena sencilla pueden procesarse en dos formas de cadena que contienen una cadena pesada y una cadena ligera. Típicamente, las dos cadenas se adhieren juntas por medio de interacciones no covalentes o por medio de puentes disulfuro. Por lo tanto, las catepsinas maduras existen en forma de cadena lateral o en dos cadenas.

La remoción del prosegmento puede facilitarse ya sea por la activación por otras proteasas o por activación autocatalítica a pH ácido (Turk et al. (2001) The EMBO Journal, 20:4629-4633). La dependencia de pH del proceso de conversión de zimógeno se regula por puentes de sal conservados en el prosegmento (por ejemplo, Asp82p y Arg38p y Glu87p y Arg48p en procatepsina L establecidos en SEQ ID NO:62). La disrupción de los puentes de sal por protonación de los grupos carboxilatos al pH inferior rompen el núcleo hidrofónico del prosegmento lo que resulta en la disociación del prosegmento del sitio activo (Khan et al. (1998) Protein Science, 7:815-836). Los residuos que inducen la formaciuón de puentes de sal pueden diferir entre catepsinas. Por ejemplo, la pro-catepsina B usa interacciones de puente de sal alternativas para esta conversión de zimógeno dependiente del pH (Coulombe et al. (1996) EMBO J., 15:5492-5503).

Se requieren condiciones de pH ácido para la actividad

de catepsinas maduras; la conversión de zimógeno por sí misma no es suficiente para la actividad de enzima. Además de este requerimientos para actividad, el pH ácido también estabiliza la enzima. La inactivación y desestabilización de catepsinas a condiciones de pH más altas está causada por la desprotonación de la porción imidazol del sitio activo $-S^-/H^+im-$ ion par, y "sin cremallera" de la estructura a lo largo de la ranura del sitio activo (Dehrmann et al. (1995) Arch. Biochem. Biophys., 324:93-98). Por lo tanto, la mayoría de catepsinas tienen actividad y estabilidad óptima a un pH ácido. Por ejemplo, las catepsinas B, F, H, K, L y V son óptimamente activos én ambientes ácidos y sólo son débiles o no activos a pH neutro (Lutgens et al. (2007) The FASEB J., 21 : 3029-3041). Algunas catepsinas, por ejempo, catepsina L, pierden su actividad rápidamente después de la incubación a un pH neutro. Algunas catepsinas mantienen su actividad enzimática aún después de la incubación a pH neutro, y de esta manera pueden degradar las proteínas de matriz bajo condiciones fisiológicas. Las catepsinas C y S se han encontrado que tienen la estabilidad al pH más alta, mientras las catepsinas K y V exhiben estabilidad al pH intermedio. Las investigaciones *in vitro* han mostrado que la catepsina K pueden degradar las proteínas de fibrilo a pH neutro (Buhling et al. (2004) Eur. Respir. J., 23:620-628).

Catepsina L

La catepsina L (CatL) es una cisteína proteasa de ácido lisosomal que pertenecen a la familia de papaína. El gen L de catepsina humano que codifica una cisteína proteasa de 333 aminoácidos contienen un péptido de señal de 17 aminoácidos, un propéptido de 96 aminoácidos y una región madura de 220 aminoácidos (ver SEQ ID NOS:61 y 62 y acceso al GenBank No. P07711). La catepsina L también incluye variantes alélicas y especies, y otras variantes. Los ejemplos de tales variantes son cualquier de las establecidas en SEQ ID NOS:208 hasta 223 y 234. La catepsina L se sintetiza como una proenzima inactiva, y al igual que otras proteasas, contiene un propéptido que corresponde a los aminoácidos 18-113 de la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:62. El propéptido inhibe la actividad proteolítica de la enzima. El segmento de propéptido también funciona para estabilizar la proenzima de los efectos desnaturante de pH neutro a alcalino (Coulombe et al. (1996) The EMBO J., 15:5492-5503). El desdoblamiento del propéptido se presenta al autoprocesar bajo condiciones ácidas lo que resulta en una enzima madura que es activa y tiene actividad catalítica bajo condiciones ácidas. La catepsina L madura (establecida en la SEQ ID NO:1) puede existir como una forma de cadena sencilla de alrededor de 28 kDa y/o como una forma de dos cadenas de alrededor de

24 y 4 kDa (cadena pesada y ligera, respectivamente). Se conocen las variantes alélicas y de especie de catepsina L. las variantes de especies ejemplares son cualquiera establecida en las SEQ ID NOS:208-223, incluyendo ácidos nucleicos y polipéptido codificado y formas maduras de los mismos que caren de la secuencia de señal y propéptido. Las variantes alélicas ejemplares son cualquiera establecida en la SEQ ID NO:234.

La catepsina L se localiza primariamente para endosomas y lisosomas. La capacidad proteolítica óptima de la catepsina L madura se alcanza a un pH ácido de alrededor de 5.5 y es inactivo a pH neutro (Bohley P et al., "Intracellular Protein Turnover." en S. Holzer and H. Tschcsche (eds.). Biological Functions of Proteinases, pp. 17-34, Berlin: Springer-Verlag. 1979). El pH óptimo de la catepsina L puede estar influenciado por la resistencia iónica, y por lo tanto el pH óptimo difiere entre soluciones amortiguadoras (Dehrmann et al. (1995) Arch. Biochem. Biophys., 324: 93-98). La procatepsina L es estable bajo pH neutro y ligeramente alcalino, condiciones donde la catepsina L madura se inactiva (Jerala et al. (1998) J. Biol. Chem., 273 : 11498- 11504). Por ejemplo, a pH ácido la enzima es más estable, actúa menos en sí misma, pero cataliza actividamente la hidrólisis de sustratos de proteínas. A un pH más cercano al neutro o pH

fisiológico y en presencia de temperatura elevada tal como 37°C, la enzima es altamente inestable debido a que prefiere por sí misma como un sustrato (autocatalisis) contra otros sustratos de proteína. Un agente reductor, si se agrega a una catepsina L activa, puede aumentar estas actividades a pH tanto ácido como fisiológico.

La forma activada de la catepsina L tiene siete residuos de cisteína medios, que incluyen tres cisteínas de disulfindo y 1 cisteína libre (el sitio activo Cys 25 que se conserva en la familia de cisteína proteasa). La presencia de un grupo sulfhidrilo reducido (-SH) del Cys25 se requiere para actividad. Por lo tanto, la presencia de un agente de reducción tal como Cisteína o una forma reducida de glutaiona puede ayudar a mantener el sitio activo de sulfhidrilo en el estado reducido. Alternativamente, o además, el agente reductor puede reducir los disulfuros y ayudar a realizar una conformación de proteóina más favorable (secundaria y terciaria) que induce mejor el enlace y catalisis de sustratos in vivo.

La catepsina L degrada sustratos de proteínas, que incluyen, pero no se limitan a, colágenos, precursor IL-8, precursor de neurotransmisor, pro-encefalina, y depósitos amiloides asociados con cadena ligera de inmunoglobulina (AL) y azocaseína (Barret & Kirschke (1981) Methods Enzymol.,

80:535-561; Mason et al., (1985) Biochem. J., 226:233-241). CatL se inhibe rápidamente por Z-Phe-Ala-CHN2.

ii. Calpaína

La calpaína es una cisteína proteasa citoplásmica dependiente de Ca^{2+} que existe en dos formas predominantes, µ-calpaína (calpaína 1) y m-calpaína (calpaína 2). Los sustratos de calpaína incluyen proteínas citoesqueletales, enzimas de transducción de señal, factores reguladores transcripcionales y proteínas de membrana integral. Entre los componentes ECM, las calpaínas degradan la fibronectina, vitronectina y proteoglianos (Ian M. Clark and Gillian Murphy. "Matrix Proteinases," en Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism, Academic Press (2006), pp. 181-198).

Las calpaínas existen como heterodímeros inactivos (y subunidades ~80 kDa y ~30 kDa), y requieren Ca^{2+} para autocatálisis. La µ-calpaína y m-calpaína difiere en su sensibilidad a Ca^{2+} requerida para la activación; la µ-calpaína es activada como máximo a la mitad a concentracioens de calcio micromolares bajas, que es alrededor de un orden de magnitud inferior que aquellas concentracioens requeridas para activar la m-calpaína (Meyer et al. (1996) Biochem. J, 314:51 1-519). Durante la activación, ambas subunidades de calpaína experimentan autólisis limitada que remueve el prosegmento de terminal N e incrementa la sensibilidad al

calcio. La autólisis por sí misma no es suficiente para activar la calpaína debido a que la proteasa autolizada todavía requiere calcio para desdoblar el sustrato (Meyer et al. (1996) Biochem. J., 314:511-519). De esta manera, la activación sostenida de calpaína requiere la presencia de calcio. Los requerimientos de calcio son considerablemente más altos que concentraciones de Ca^{2+} fisiológicas, que es generalmente 1 µM. Por ejemplo, la µ-calpaína *in vitro* requiere una concentración de calcio de 10-50 µM y la m-calpaína requiere una concentración de calcio de 300-500 µM (Hosfield et al. (1999) The EMBO J., 18:6880-6889). Debido al requerimiento de calcio, la calpaína se regula por flujos de calcio regionales y/o enlace de membrana (Molinari and Carafoli (1997) J Membr. Biol, 43:543-5). El calcio posiblemente induce un cambio de conformación para exponer el sitio activo a proteasa. La calpastatina es un inhibidor celular específico de calpaínas.

c. Proteasas Aspárticas

Las aspartato proteasas incluye algunas proteasas encontradas en lisosomas que han mostrado que degradan componentes ECM. Incluidas entre estos están las catepsinas D y E. para actividad, dos residuos de aspartato participan en la catalisis de ácido/base en el sitio activo. En la reacción inicial, un aspartato acepta un protón de un sitio

activo H_2O, que ataca el carbonil carbono de la ligadura de péptido. Simultáneamente, el otro aspartato dona un protón al oxígeno del grupo péptido carbonilo.

La forma de zimógeno de las aspartato proteasas contienen un prosegmento de termina N cargado positivamente que interactúa con la porción central de la enzima que forman puentes de sal con el segmento cargado negativamente. Debido al posicionamiento del prosegmento y la formación de los puentes de sal, los sustratos se previenen que tengan acceso al sitio activo. La conversión de zimógeno a una enzima activa se presenta por la disrupción de los puentes de sal a pH bajo. La exposición a pH bajo esulta en la protonación de las cadenas laterales de carboxilato de residuos Asp y Glu, lo que resulta en la desestabilización de puentes de sal entre el prosegmento y la enzima madura. Una vez que se remueve, el prosegmento se degrada autocatalíticamente por la enzima activa. La hidrólisis posterior del prosegmento asegura que la activación sea irreversible, y que el prosegmento liberado no actúe como un inhibidor competitivo de la enzima activa. Además, no se requieren otras moléculas accesorio para la conversión (Khan et al. (1998) Protein Science, 7:815-836). Igual que las catepsinas de la familia de cisteína proteasa, sin embargo, las condiciones de pH ácido se requieren para actividad y estabilidad de las

enzimas maduras.

d. Metaloproteasas

Las metaloproteasas (también llamadas proteasas de Zinc) incluyen las enzimas carboxipeptidasas digestivas, varias metaloprotasas de matriz (MMPs) que se secretan por células, ADAMs (un dominio de disintegrina y metaloproteasa), ADAMTS (un dominio de disintegrina y una metaloproteinasa con porciones de trombospondina) y proteasas lisosomales. Estas enzimas, incluyendo ADAMs y MMPs, tienen papeles en el desarrollo embriónico, crecimiento y proliferación celular, respuestas inflamatorias, reparación de heridas, esclerosis múltiple, artritis, y progreso y metástasis de cáncer (Manzetti et al., (2003) J of Computer-Aided Mol. Design, 17: 551). La mayoría de las MMPs (por ejemplo, colagenasa) están involucradas en la degradación de la matriz extracelular, por ejemplo, durante la remodelación de tejido. Por ejemplo, muchas de estas enzimas pueden desdoblar componentes de la membrana base y matriz extracelular.

Las metaloproteasas contienen un ión Zn^{++} en el centro activo de la enzima requerida para actividad catalítica. Una porción enlazada al zinc en el sitio activo de la metaloproteasa incluye dos residuos de histidina cuyas cadenas laterales de imidazol son ligandos al Zn^{++}. Durante la catalización, el Zn^{++} promueve el ataque nucleofílico en el

carbonil carbono por el átomo de oxígeno de una molécula de agua en el sitio activo. Una base de sitio activo (un residuo de glutamato en carboxipeptidasa) facilita esta reacción al extraer un protón del ataque de molécula de agua. Generalmente, estas enzimas tienen una porción enlazada al zinc común (HExxHxxGxxH) en su sitio activo, y una mutación conservadora convierte después el sitio activo. La mutación de cualquiera de las histidinas somete a ablación la actividad catalítica.

La forma de zimógeno de las metaloproteasas contienen un prosegmento de alrededor de 80-100 residuos en longitud. En la forma de zimógeno, los residuos dentro del sitio enlazado al sustrato de la enzima madura y los iones Zn^{++} catalíticos están en la misma posición de conformación como en la forma activa, y no cambian durante la conversión de zimógeno. La enzima se inactiva debido al prosegmento colocado para bloquear el sitio, previniendo de esta manera el acceso a los sustratos. La conversión del zimógeno a la enzima activa resulta del desdoblamiento del prosegmento de la enzima madura. Los mecanismos múltiples son capáces de iniciar los eventos de desdoblamiento, incluyendo acciones por otras proteasas, calor, agentes de mercurio (por ejemplo, acetato 4-amino-fenilmercúrico), agentes que reaccionan a SH, oxígeno reactivo y detergentes (ver por ejemplo, Khan et al (1998)

Protein Science, 7:815-836; Okada et al (1988) Biochem J, 254:731-741; Okada & Nakanashi (1989) FEBS Lett., 249:353-356; Nagase et al. (1990) Biochemistry, 29:5783-5789; Koklitis et al. (1991) Biochem J, 276:217-221; Springman et al. (1990) PNAS, 87:364-8; Murphy et al (1997) Matrix Biol, 15:511-8).

e. Heparanasa

La heparanasa es una enzima glicosilada que está involucrada en el catabolismo de ciertos glicosaminoglicanos. Es una endo-β-glucuronidasa que desdobla el sulfato de heparano en sitios intercadena específicos. La hepranasa es un miembro del clan A de glicosil hidrolasa (GH-A), que comparte un mecanismo catalítico común que involucra dos residuos ácidos conservados, un donador de protones supuestos en Glu^{225} y un nucleófilo en Glu^{343} (Hulett et al (2000) Biochemistry, 39: 15659-15667). La interacción de linfocitos T y B, plaquetas, granulocitos, macrófagos y mastocitos con la matriz extracelular subendotelial (ECM) se asocia con la degradación de sulfato de heparano por actividad de heparanasa.

El cADN de heparanasa humano codifica una proteína que se sintetiza inicialmente como una pre-pro-proteína con una secuencia de señal de péptido que se remueve por peptidasa de señal durante la transubicación en el retículo endoplásmico

(ER). Lo que resulta en una forma de pro-enzima de 65 kDa que se procesa además por desdoblamiento proteolítico que resulta en la excisión de un fragmento de 6 kDa intervenido que genera un polipéptido de 8 kDa y un polipéptido de 50 kDa, que forma un heterodímero. La secuencia de aminoácidos de la heparanasa madura se establece en la SEQ ID NO: 156. La actividad de heparanasa y la localización está estrechamente regulada. Por ejemplo, la enzima es altamente sensible a cambios en el pH local, ejerciendo una actividad enzimática alta bajo condiciones ácidas que se presentan en la vecindad de los tumores y en sitios de inflamación con poca o ninguna actividad a pH fisiológico. De esta manera, el desdoblamiento mediado por heparanasa del andamiaje HS es un proceso dependiente del pH; la actividad enzimática máxima se alcanza a valores de pH en el rango desde 4 hasta 6.8 (Gilat et al. (1995) J Exp. Med., 181 : 1929-1934; Goldshmidt et al. (2003) The FASEB J, 17:1015-1025). A pH fisiológico, la heparanasa exhibe poca actividad. La dependencia de pH asegura que el rompimiento estructural de la ECM se confina a condiciones más ácidas, tales como las que se presentan en la endosoma y en sitio de lesión o inflamación (McKenzie et al. (2003) Biochem. J, 373:423-435).

D. Enzimas activables que degradan matriz (AMDE)

Las enzimas que degradan matriz requieren conversión de

zimógeno para activación por desdoblamiento del prosegmento para generar una enzima madura. Como se discute arriba, muchas enzimas que degradan matriz también requieren la presencia continua de una o más de otras condiciones activantes para la actividad. Tales condiciones activantes ejemplares incluyen, pero no se limitan a, pH, iones de metal, temperatura, agentes de reducción, agentes oxidantes y concentración de sal. Por ejemplo, muchas enzimas requieren valores pH específicos o concentración de iones de metal o concentración de sal o la presencia de un agente de reducción para actividad. En un ejemplo, las enzimas lisosomales requieren condiciones de pH ácidas para actividad. Por ejemplo, las catepsinas de la familia de cisteína y aspártica de proteasas requeren condiciones de pH ácidas para actividad. La heparanasa también es una enzima lisosomal que se acumula en lisosomas para procesamiento normales en el ambiente ácido. Generalmente, el ambiente ácido se proporciona en las lisosomas ácidas donde las proteasas lisosomales se localizan nornalmente. Fuerta de este ambiente, las proteasas lisosomales son inactivas o menos activas y requieren exposición exógena a pH ácido para actividad. En otro ejemplo, las condiciones activantes incluyen concentración de iones de metal. Por ejemplo, las calpaínas requieren concentración suficiente de Ca^{2+} para

actividad. La actividad de tales enzimas es reversible en ausencia de la condición activante.

Al tomar la ventaja del requerimiento para condiciones activant4es exógenas, las enzimas que desgradan la matriz activables pueden hacerse temporalmente activas por una duración limitada durante la administración *in vivo*, por ejemplo a la ECM. Tales enzimas activables que degradan matriz son activas sólo cuando se exponen a condiciones activantes exógena. Ya que la condición activante no se presenta en el sitio de administración y deberá aplicarse exógenamente, la condición activantes se neutralizará o disipará con el tiempo después de la adminsitración in vivo de un activador que siministra la condición activante apropiada. Por lo tanto, la activación de una AMDE es reversible después de la administración in vivo ya que el activador se disipa o se neutraliza de otra manera. Por ejemplo, la activación temporal de una AMDE puede alcanzarse en el ambiente del intestilio de la piel y otros tejidos al administrar la AMDE en presencia de una condición activante exógena (es decir un activador) que no se presenta en el sitio de administración. Típicamente, la condición activante es una que no se presenta en la ECM, antes de la administración de un activador proporciona la condición activante. De esta manera, la exposición de una enzima

activable que degrada la matriz para una condición activante resulta en la activación de la enzima por un tiempo limitado o predeterminado ya que la condición activante se disipa o neutraliza en el ambiente intersticial.

Por lo tanto, se proporcionan en la presente composiciones, combinaciones y recipientes que contienen enzimas activables que degradan matriz que, durante la administración in vivo, permiten la activación de la enzima por un periodo de tiempo limitado o predeterminado durante el cual la enzima puede ejercer su acción biológica. En virtud de la actividad reversible de las enzimas activables, las enzimas se desactivan, por ello controlando la duración de la acción biológica de tales enzimas. Las enzimas activables que degradan matriz se proporcionan en combinaciones y recipientes con un activador que proporcionan la condición activante. Además, la enzima activatable que degrada la matriz y el activador también pueden combinarse o proporcionarse en combinación, tales como en recipientes, con otros agentes tales como cualquiera de uno o más de un antitético, agente alfa adrenérgico o agente dispersante. Las enzimas activables que degradan matriz se proporcionan en una cantidad terapéuticamente efectiva, que cuando se activa, degrada uno o más componentes de la ECM durante la administración, tales como durante administración subcutánea.

Las enzimas activables que degradan matriz resultantes pueden usarse como terapéuticos para tratar enfermedades o afecciones mediadas por ECM.

Cualquier enzima que degrada la matriz, ya sea sintética o aislada de fuentes naturales, tales como aquellas establecidas en la Table 3 o en cualquier otro lugar en la presente, variantes alélicas o de especie u otras variantes de las mismas, o cualquiera conocida por aquellos de experiencia en la técnica se pretende que se usen en composiciones, combinaciones, métodos y aparatos proporcionados en la presente, de manera que la enzima es activable debido al requerimiento de una condición activante. Las enzimas activables que degradan matriz se proporcionan en una forma inactiva ya sea como un zimógeno o como un polipéptido maduro inactivo ya sea en forma de cadena sencilla o de dos cadenas. Por ejemplo, las catepsinas aún en su forma madura son inactivas y requieren condiciones de pH ácidas para estabilidad conformacional. Las enzimas activables que degradan matriz incluyen proteasas lisosomales, tales como las catepsinas de la familia de cisteína y aspártica y heparanasas. Las enzimas activables que degradan matriz ejemplares son cualquiera de las establecidas en cualquiera de SEQ ID NOS:56, 59, 62, 64, 179, 67, 70, 73, 76, 182, 185, 188, 79, 194, 89, 92, 95 y 155 y

formas maduras de las mismas establecidas en SEQ ID NOS:57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93, 96 y 156 o variantes alélicas o variantes de especies u otras variantes de las mismas. Alguien de experiencia en la técnica conoce o identificaría enzimas activables que degradan matriz. Por ejemplo, alguien de experiencia en la técnica usaría ensayos de rutina de activación de enzima, tales como cualquiera de los proporcionados en la presente y conocidos en la técnica, para evaluar el requerimiento de una condición activante exógena para activación sostenida o reversible de cualquier enzima deseada.

Las enzimas activables que degradan matriz pueden modificarse para alterar cualquiera de una o más propiedades o actividades. Por ejemplo, las propiedades o actividades alteradas incluyen, pero no se limitan a, modificación que vuelve la enzima más estable, alterar la especificidad del sustrato y/o conferir sensibilidad a la temperatura para la enzima. Si se desea, la estabilidad de la enzima también puede incrementarse por pegilación o glicosilación de la enzima. La modificación de polipéptidos usando técnicas de ADN recombinantes estándar es de rutina para alguien experto en la técnica. Para los propósitos en la presente, las enzimas que degradan matriz modificadas mantienen una o más actividades de la enzima no modificada y son activables. La

actividad mantenida puede ser 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o más actividad de la enzima no modificada.

En un ejemplo, la enzima que degrada la matriz, por ejemplo, una catepsina, pueden modificarse de tal manera que su prosegmento no es inhibidor. Pueden hacerse modificaciones por reemplazo de aminoácido, sustitución o inserción dentro del prosegmento en sí mismo, o dentro de regiones del sitio activo donde se presentan las interacciones inhibidoras. Por lo tanto, la catepsina podría proporcionarse en una forma de zimógeno donde se presenta la autocatálisis bajo condiciones ácidas; el prosegmento desdoblado de tal enzima modificada no resultaría en la inactivación como se presenta para las las catepsinas tipo natural si se proporciona en la forma de zimógeno.

En otro ejemplo, una enzima activable puede modificarse para alterar su especificidad al sustrato. Por ejemplo, una enzima puede modificarse para tener especificidad incrementada para un sustrato particular. De esta manera, por ejemplo, la catepsina L, que exhibe especificidad al sustrato para colágeno tipo I y tipo IV pueden modificarse de manera que tiene especificidad al sustrato incrementada para colágeno tipo I, y no colágeno tipo IV, y vice versa. Las modificaciones de polipéptidos pueden alcanzarse por técnicas de biología molecular de rutina, y están dentro de la

experiencia de alguien en la técnica. Las enzimas modificadas pueden probarse para su especificidad al sustrato usando ensayos de rutina para desdoblamiento de sustrato tales como se describe en la presente, o conocidos en la técnica. Por ejemplo, el desdoblamiento del sustrato puede evaluarse en péptidos fluorogénicos o en proteínas purificadas. El desdoblamiento puede evaluarse usando ensayos *in vitro* o *in vitro*. Por ejemplo, el desdoblamiento puede evaluarse al incubar la enzima con el sustrato, y luego correr la mezcla en un gel SDS-PAGE. La degradación puede evaluarse por Western Blot o usando teñidos de proteína estándar tales como Azul Coomasie o Reactivos de teñido de plata.

En un ejemplo adicional, la enzima que degrada la matriz pueden modificarse para tener sensibilidad a la temperatura. Por ejemplo, las enzimas que degradan matriz que son activas a temperatura fisiológica (por ejemplo 37 °C) pueden modificarse y las enzimas seleccionadas que son activas a temperaturas más bajas (por ejemplo, menos de 37 °C; por ejemplo a o alrededor de 20 °C, 21 °C, 22 °C, 23 °C, 24 °C, 25 °C, 26 °C, 27 °C, 28 °C, 29 °C o 30 °C), pero que no son activos a temperatura fisiológica. Por lo tanto, tales enzimas modificadas pueden usarse como enzimas activables que degradan matriz donde la condición de activación es temperatura baja. La administración de la enzimas

simultáneamente, intermitentemente, o subsecuentemente con una condición activante proporciona la temperatura fría (por ejemplo solución amortiguadora fría) que resulta en activación de la enzima. La activación de la enzima se controla temporalmente conforme la temperatura *in vitro* regresa a la temperatura fisiológica de 37 °C.

1. Condiciones y Métodos Activantes para Activación de Enzimas activables que degradan matriz

Las enzimas activables que degradan matriz son inactivas en ausencia de una condición activante. Durante la administración *in vitro*, la activación temporal de tales enzimas activables que degradan matriz se alcanza por exposición (antes de o durante la administración subsecuentemente, intermitentemente o simultáneamente) a uno o más activadores específicos que proporcionan una condición activante suficiente para activación de la enzima. Por ejemplo, la activación puede alcanzarse por exposición de enzimas activables que degradan matriz para, por ejemplo, temperatura (por ejemplo frío o calor), pH, sal, a soluciones que contienen concentraciones suficientes de iones de metal (por ejemplo, Ca^{2+}) para activación, a soluciones que contienen concentraciones suficientes de agentes de reducción o agentes de oxidación para activación, u otros métodos como se describe en la presente o conocido para alguien de

experiencia en la técnica. La elección del activador variará dependiendo de la elección de la enzima como se describe en la presente o es conocido para alguien de experiencia en la técnica. Generalmente, una cantidad (por ejemplo concentración, nivel o grado) de activador suficiente para generar una enzima activa se usa. Esta cantidad puede determinarse fácilmente de forma empírica y depende de la enzima seleccionada y aplicación seleccionada.

En virtud de la activación reversible y condicional de enzimas activables, se alcanza la activación temporalmente, por ello se regula la duración de la acción enzimática en los componentes de matriz extracelular (ECM). Esta es una ventaja de los métodos actuales tal como efectos secundarios perjudiciales asociados con activación de enzimas prolongada indeseada puede controlarse. La activación temporal se alcanza debido a que las enzimas activables que degradan matriz requieren exposición contínua a condiciones activantes con objeto de mantenerse activas. Las condiciones activantes son presentadas no normalmente, endógenamente, en cantidades suficientes para activación de una enzima en sitios donde las enzimas activables que degradan matriz se administran *in vitro*. Por ejemplo, el intersticio de piel tienen un pH neutro, y de esta manera una condición activante a pH bajo no se presenta normalmente. En otro ejemplo, el nivel

fisiológico de iones de metal, tales como calcio, en el intersticio de piel, son más bajos que las cantidades efectivas requeridas para activación de algunas enzimas. De esta manera, la desactivación de enzimas puede presentarse durante la reducción de la exposición de la enzima a las condiciones activantes exógenas como puede ocurrir después de la administración *in vitro* de una enzima activable donde la condición activante suministrada exógenamente se disipa gradualmente o se neutraliza.

De esta manera, las condiciones activantes se proporcionan en la presente aquellas que son requeridas para activación de enzimas activables que degradan matriz, pero que son presentadas no normalmente en cantidades suficientes en el sitio de administración. El requerimiento para condiciones activantes para activación de enzimas activables que degradan matriz permite la activación de las enzimas que degradan matriz por un tiempo limitado, hasta que la condición activante se disipa o se neutraliza de tal manera que la enzima se vuelve inactiva o se vuelve inestable y se degrada. La cantidad de tiempo que una enzima se activa puede ser por un tiempo determinado. Por ejemplo, puede proporcionarse un activador que contiene una cantidad de condición activante, tal como la concentración, cantidad efectiva, nivel o grado, que se elige de tal manera que la

enzima se activa por un tiempo establecido bajo el ambiente y condiciones a las que se expone durante la administración *in vitro*. En un ejemplo, donde el pH ácido es la condición activante, la capacidad amortiguadora de una solución amortiguadora ácida puede ajustarse para modular el tiempo de su resistencia a cambios en pH. El tiempo predeterminado al cual un activador activa una enzima que degrada la matriz condicionalmente activable puede determinarse de forma empírica y es una función de la enfermedad a tratarse, el individuo tratado, la elección de la enzima y el activador. Una enzima activable que degrada la matriz puede ser activa después de la administración *in vitro* en presencia de un activador proporcionando una condición activante por o alrededor de 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 40 minutos, 50 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas o más.

Las condiciones activantes ejemplares y activadores y métodos de activación temporal se describen a continuación en la presente. En vista de tal descripción, otras modalidades serán aparentes para alguien de experiencia en la técnica.

a. Condición activante - pH ácido

Las composiciones y métodos para activación condicional de las enzimas que degradan matriz cuya actividad se regula

por pH, y el uso de tales enzimas para tratar enfermedades o afecciones mediadas por ECM son proporcionados en la presente. Tales métodos toman ventaja de proteínas que tienen actividad enzimática sólo a pH ácido, mientras se mantiene inactivo o se vuelve inestable y degrada a pH neutro. Tales proteínas incluyen proteasas lisosomales, que incluyen, pero no se limita a, las catepsinas de las familias de cisteína y aspártica, y también heparanasa. Por ejemplo, las lisosomas, un compartimiento intracelular ácido, que contiene una gran variedad de enzimas hidrolíticas que degradan proteínas y otras sustancias internalizadas por endocitosis. Todas las proteasas intralisosomales, por ejemplo, catepsina L, exhiben un pH ácido óptimo. Tales proteasas ejemplares son cualquiera de las establecidas en cualquiera de las SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93, 96 y 156.

Los métodos de uso de las enzimas que degradan matriz que son activas sólo durante la exposición a ciertas condiciones de pH se usan en la presente para tomar ventaja de pH diferenciales dentro de la piel. Los sistemas epidérmicos humanos mantienen un gradiente de pH dentro de las capas estratificadas de la piel. Las capas exteriores se han reportado que exhiben un pH promedio de 5.5 (W.P. Smith (1994) Cosmetics and Toiletries, 109:41-48). El pH de las

capas sucesivas de la epidérmis se incrementa con la profundidad, alcanzando un pH final cercano al rango fisiológico (alrededor de pH 7.4) en la capa dérmica.

Por lo tanto, se contempla en la presente que las enzimas activables que degradan matriz se empleen de manera que exhiban actividad en condiciones ácidas, pero son sustancialmente inactivas a pH neutro tal como existen en la ECM. Una enzima sustancialmente inactiva es cualquiera que exhibe 10% o menos actividad de la enzima a este pH óptimo, por ejemplo, a o alrededor de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 9.5% o 10% de actividad como se presenta en el pH óptimo de la enzima. Alguien de experiencia en la técnica conoce o puede determinar el pH óptimo de una enzima y puede evaluar las diferencias en actividad a condiciones de pH variables. Por ejemplo, el pH óptimo de catepsina L es o está alrededor de 5.5, pero puede variar dentro de un rango de 4.5 hasta 6 dependiendo de la especie particular de catepsina L, condición de solución amortiguadora o resistencia iónica. La catepsina L es sustancialmente inactiva a o alrededor de pH 7.4 (Dehrmann et al. (1995) Arch. Biochem. Biophys., 324:93-98). En otro ejemplo, el valor de pH óptimo para la actividad de catepsina D es o está alrededor de 3.0 hasta 4.0, y es sustancialmente inactiva a valores de pH a o alrededor de 6.0 o superiores (Rojas-Espinosa et al. (1973) Infection and

Immunity, 8:1000-1008). La catepsina S es una de algunas proteasas lisosomales que es estable a pH 7.0 (Bromme et al. (1993) J Biol. Chem., 268: 4832-4838).

Para los propósitos en la presente, una enzima activable se activa en condiciones de pH a o alrededor de 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6 o 6.5, pero es sustancialmente inactiva a pH neutro. El perfil de actividad de pH puede realizarse en una enzima, y la actividad relativa evaluada, para determinar su pH óptimo bajo varias condiciones (Dehrmann et al. (1995) Arch. Biochem. Biophys., 324:93-98). Se entiende que el pH óptimo puede ser diferente dependiendo del sustrato usado, condiciones de solución amortiguadora, resistencia iónica y especies de enzima. De esta manera, la referencia a pH óptimo en la presente es sólo para ejemplificación. Alguien de experiencia en la técnica puede de forma empírica determinar el pH óptimo de una enzima bajo condiciones específicas. Por ejemplo, las condiciones de solución amortiguadora y resistencias iónicas puede variar para determinar una actividad de enzimas bajo varias condiciones de pH. Las evaluaciones de enzima para determinar los perfiles de actividad de pH pueden realizarse usando sustratos fluorogénicos tales como se describen en la presente y se conocen para alguien de experiencia en la técnica. La elección del sustrato fluorogénico usado variará entre

enzimas, y se conoce para alguien de experiencia en la técnica o puede determinarse de forma empírica.

De esta manera, la capacidad para activar condicionalmente las enzimas que degradan matriz por la administración con una condición activante no se presenta normalmente en el sitio de administración permite la regulación temporal de, y alteración de, los parámetros fisiológicos de órganos y tejidos, tales como el intersticio, que exhiben un pH neutro. Bajo condiciones fisiológicas normales, el pH del intersticio es neutro. De esta manera, las enzimas activables que degradan matriz se activan a pH bajo, tales como enzimas lisosomales descritas en la presente, cuando se presenta en el intersticio normalmente sería catalíticamente inactivo debido a al pH neutro del intersticio. Cuando el pH del intersticio se convierte temporalmente ácido, por ejemplo por la administración de una solución ácida amortiguadora, las enzimas lisosomales con pH ácido óptimo cuando se administran al intersticio se activarán. Cuando el pH del intersiticio regresa a su neutralidad, entonces las enzimas que degradan matriz con pH ácido requerido se inactivan y cesan para ejercer su actividad enzimática.

En consecuencia, se contempla en la presente que las enzimas activables que degradan matriz que son

sustancialmente inactivas a pH neutro pueden administrarse sub-epidérmicamente bajo la piel (es decir por administración subcutánea, intradérmica o intramuscular) donde el pH es neutro. Otras vías de administración de enzimas que degradan matriz condicionalmente activables también se contemplan y pueden determinarse de forma empírica con base en el pH óptimo de la enzima particular de tal manera que la actividad de la enzima se vuelve reversible debido a cambios en las condiciones de pH durante la administración. Otras vías de administración incluyen, pero no se limitan a, rutas de administración oral, tópica y transdérmica.

Ya que el intersticio de la mayoría de los tejidos y órganos exhibe un pH neutro, la acidificación temporal puede alcanzarse por infusión de una solución ácida a un intersticio del tejido u órgano. La solución amortiguadora ácida es una composición que, cuando se administra, disminuye temporalmente el pH del intersticio hasta menos de o alrededor de 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ó 6.5 de tal manera que la enzima activatable que degrada la matriz es activa. El componente ácido de la solución amoriguadora es susceptible a neutralización por el pH neutro del intersticio. Las soluciones amortiguadoras ácidas se conocen para alguien de experiencia en la técnica. Para los propósitos en la presente, el componente ácido de la solución

amoriguadora puede ser un ácido orgánico o inorgánico. Generalmente, la solución es una solución de un ácido débil. Los ácidos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, ácido 2-(N-morfolin)etansulfónico) (MES), ácido acético, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido maléico, ácido glicin-clorhídrico, fosfato cítrico e histidina. El rango de pH efectivo de las soluciones amortiguadoras ácidas se conoce, y por lo tanto, pueden elegirse soluciones amortioguadoras apropiadas con base en el pH óptimo de la enzima seleccionada. Las soluciones amortiguadoras ácidas ejemplares incluyen, pero no se limitan a, solución amortiguadora de acetato, citrato, formiato, glicina, malato, MES, fosfato, piperazina, propionato, piridina y succinato. Por ejemplo, el rango de pH efectivo de la solución amortiguadora de MES es 5.5 hasta 6.7.

El periodo de tiempo requerido para neutralización, y la posterior inactivación de la enzima que degrada la matriz que se activa por ácido, depende de la formulación de la solución amortiguadora ácida. Por ejemplo, periodos de tiempo más cortos resultan si los agentes ácidos y/o amortiguadores en la solución amortiguadora ácida son débiles con relación a la capacidad neutralizante del intersticio; periodos de tiempo más largos resultan si se utiliza un ácido más fuerte o se emplea un agente amortiguador más fuerte en la solución

amortiguadora ácida. Por lo tanto, la resistencia a cambios en el pH depende de la capacidad amortiguadora de la solución amortiguadora particular. Entre más alta la resistencia iónica o concentración de la solución amoriguadora, más alta la capacidad de la solución amoriguadora. De esta manera, en los métodos y composiciones proporcionados en la presente, la regulación temporal de una enzima que degrada la matriz activada a un pH dado puede controlarse además por la capacidad amortiguadora de la solución amoriguadora elegida. Esto se ejemplifica en el Ejemplo 7. La determinación de las soluciones amkortiguadoras deseadas para aplicaciones dadas es de rutina y están dentro del nivel de alguien de experiencia en la técnica.

Típicamente, la solución ácida se infusiona directamente a un sitio donde la degradación de uno o más componentes ECM se desea, por ejemplo, para tratar una enfermedad o afección mediada por ECM. La infusión de la condición activante en la forma de un activador de solución ácida pueden realizarse simultáneamente, secuencialmente o intermitentemente con la administración de una enzima activable que degrada la matriz inactiva. Donde la administración se presenta simultáneamente, la enzima activatable que degrada la matriz y la solución ácida amortiguadora pueden estar en la misma composición o en una separada. Cuando están en la misma

composición, la enzima y la solución ácida amortiguadora pueden proporcionarse en una composición como una mezcla. La activación de la enzima también puede alcanzarse por la adición de la solución ácida a solución o suspensión líquida concentrada o forma liofilizada o en polvo de la enzima antes de la administración. Generalmente, donde una solución o suspensión líquida de una enzima activable que degrada la matriz se proporciona, es una solución o suspensión que, cuando se expone a un activador proporciona la condición activante apropiada, es susceptible a activación de la enzima por la condición activante.

Además, en las combinaciones y métodos proporcionados en la presente, un activador que tiene la condición activante (por ejemplo a la solución ácida amortiguadora) y una enzima activable que degrada la matriz pueden proporcionarse y administrar en combinación con cualquiera de uno o más de otros agentes tales como cualquiera de uno o más de un agonista o agente dispersante del receptor adrenérgico alfa, anestético. Los ejemplos de tales agentes se discuten en la presente enseguida en la Sección titulada "Terapias de Combinación." Los otros agentes pueden administrarse simultáneamente, secuencialmente o intermitentemente con el activador y/o enzima que degrada la matriz.

En un ejemplo de los métodos proporcionados en la

presente, una solución ácida amortiguadora se administra en el intersticio de piel, u otro tejido, donde una afección o enfermedad ECM se presenta. La solución ácida amoriguadora puede elegirse con base en el pH requerido para activación de la enzima que degrada la matriz y la capacidad de la solución amortiguadora deseada para alcanzar activación de duración limitada. Por ejemplo, la catepsina L es una enzima ejemplar para propósito de tratar una enfermedad mediada por colágeno, tal como, por ejemplo celulosis. En consecuencia, la solución amortiguadora ácida se prepararía al pH óptimo de 5.5 para activación de catepsina L. Tal solución amortiguadora ácida ejemplar es MES. La capacidad amortiguadora de la solución ácida también puede determinarse experimentalmente como se desee, por ejemplo, como se establece en el Ejemplo 7. Generalmente, la solución amortiguadora ácida se administra justo antes de o junto con la enzima que degrada la matriz. Por ejemplo, si la enzima que degrada la matriz se proporciona en forma liofilizada, la enzima puede reconstituirse con la solución amortiguadora ácida justo antes de la administración, y la combination de la enzima y activador se administra en conjunto. En presencia de la solución amortiguadora ácida, la enzima se activa después de la administración *in vitro*. Dependiendo de la capacidad amortiguadora de la solución amortiguadora ácida, el pH del

intersticio regresará a neutralidad después de un tiempo limitado o predeterminado, por ello invirtiendo los efectos degradantes de la enzima que degrada la matriz.

En otro ejemplo de los métodos proporcionados en la presente, una combinación de un anestético y vasoconstrictor, por ejemplo, lidocaína/epinefrina, se administra antes de la administración del activador y enzima que degrada la matriz. Generalmente, en los métodos, el agente dispersante, tal como una enzima que degrada el hialuronano, por ejemplo una hialuronidasa, también se administra junto con el anestético y vasoconstrictor, tales como un agonista del receptor adrenérgico alfa.

b. Condición activante - Concentración de Metal de Catión

Se proporcionan en la presente una composición, combinaciones, recipientes y métodos que contienen enzimas activables que degradan matriz que requieren la exposición a un ión de metal apropiado, por ejemplo Ca^{2+}, Mg^{2+} o Zn^{2+}, para activación. Una de tal enzima ejemplar es la calpaína (por ejemplo subunidad grande establecida en SEQ ID NO: 82 (calpaína 1) y SEQ ID NO:85 (calpaína 2) y subunidad pequeña establecida en SEQ ID NO:87, o variantes alélicas o de especies u otras variantes de los mismos), que requieren Ca^{2+} para activación. El ión de metal puede proporcionarse en la

forma de una composición acuosa, por ejemplo, como una sal de calcio. La enzima inactiva puede proporcionarse como una mezcla con un ión de metal, o puede proporcionarse como una composición separada. Si se proporciona como una composición separada, tales como en la forma de una composición líquida concentrada o en forma liofilizada o en polvo, la adición de el ión de metal a la enzima resultará en una enzima activada.

Generalmente, la activación se alcanza al exponer una enzima inactiva a un catión de metal, por ejemplo Ca^{2+}, a una concentración suficiente para activación. Cantidades precisas pueden determinarse de forma empírica o se conocen para aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, la activación *in vitro* de µ-calpaína y m-calpaína requiere concentraciones de 10-50 y 300-500 µM de calcio, respectivamente (Hosfield et al. (1999) The EMBO J., 18: 6880-6889.) Los ensayos para actividad enzimática pueden realizarse para determinar concentraciones óptimas. Típicamente, para los propósitos en la presente, las enzimas activables que degradan matriz incluyen aquellas que requieren concentración suficiente de un ión de metal para la activación a una concentración que excede el nivel fisiológico del ión de metal presente en el intersticio. Para el caso de µ-calpaína y m-calpaína, los niveles de calcio requeridos para la activación exceden los niveles fisiológicos (ver por ejemplo, Patente E.U.A. No.

6,620,592; Hosfield et al. (1999) The EMBO J., 18: 6880-6889.)

En general, la enzima inactiva se empaca o se proporciona de manera que hay iones de metal insuficientes para disparar la activación de enzima. Por lo tanto, donde la enzima inactiva se proporciona como una composición separada del activador de ión de metal, puede ser necesario agregar ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o ácido etilen glicol tetraacético (EGTA) (concentraciones desde alrededor de 5 hasta alrededor de 100 mM o superiores dependiendo de la aplicación) para vincular cualquier Ca2+ u otro ión de metal para prevenir el disparo de la reacción de activación hasta que se desee. La reacción de activación puede entonces dispararse al agregar Ca^{2+} (u otro catión de metal) a una concentración suficiente para vencer los efectos del quelador. Las cantidades precisas pueden determinarse de forma empírica.

Dependiendo de la enzima, la activación temporal puede alcanzarse al descontinuar simplemente la exposición a un ión de metal. Por ejemplo, la activación sostenida de calpaína requiere la presencia de calcio. De esta manera, una forma inactiva de calpaína puede activarse al agregar Ca^{2+}, y la mezcla resultante, ya sea en la misma composición o separada, pueden administrarse al intersticio de un órgano o tejido.

Durante la administración, sin embargo, la concentración efectiva de calcio requerido para continuar la activación no está más disponible; la enzima activante resultante regresará finalmente a su estado inactivo. En otros ejemplos, la regulación temporal de una enzima que requeriere un ión de metal para la activación puede controlarse por la administración de un quelador de metal u otro agente reversible.

c. Condición Activante - Agente Reductor

Se proporcionan en la presente una composición, combinaciones, recipientes y métodos que contienen enzimas activables que degradan matriz que requieren la exposición a un agente reductor que contiene tiol o sin tiol apropiado, por ejemplo, tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) o cisteína, para activación. Una de tal enzima ejemplar es catepsina L, que requieren agente reductor para activación. El agente reductor puede proporcionarse en la forma de una composición acuosa, por ejemplo, como cisteína. La enzima inactiva puede proporcionarse como una mezcla con un agente reductor, o puede proporcionarse como una composición separada. Si se proporciona como una composición separada, tal como en la forma de una composición líquida concentrada o en forma liofilizada o en polvo, la adición del agente reductor a la enzima resultará en una enzima activada. El agente reductor

puede agregarse antes de, simultáneamente, subsecuentemente o intermitentemente durante la administración de la enzima.

Generalmente, la activación se alcanza al exponer una enzima inactiva a un agente reductor, por ejemplo cisteína, a una concentración suficiente para activación. Las cantidades precisas puede determinarse de forma empírica o se conocen para aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, la activación *in vitro* de catepsina L generalmente requiere 1-50 mM de cisteína. Los ensayos para actividad enzimática pueden realizarse para determinar concentraciones óptimas. Típicamente, para los propósitos en la presente, las enzimas activables que degradan matriz incluyen aquellas que requieren concentración suficiente de un agente reductor para la activación a una concentración que excede el nivel fisiológico del agente reductor presente en el intersticio.

En general, la enzima inactiva se empaca o se proporciona de manera que hay una concentración de agente reductor insuficiente para disparar la activación de enzima. La reacción de activación puede entonces dispararse al agregar cisteína (u otro agente reductor) a una concentración suficiente para recuperar la actividad de la enzima. Las cantidades precisas pueden determinarse de forma empírica.

Dependiendo de la enzima, la activación temporal puede alcanzarse al descontinuar simplemente la exposición a agente

reductor. Por ejemplo, la activación sostenida de catepsina L requiere la presencia de cisteína o TCEP. De esta manera, una forma inactiva de catepsina L libre de su prosegmento puede activarse al agregar cisteína, y la mezcla resultante, ya sea en la misma composición o separada, puede administrarse al intersticio de un órgano o tejido. Durante la administración, sin embargo, la concentración efectiva de cisteína requerida para continuar la activación no está más disponible; la enzima activante resultante regresará finalmente a su estado inactivo. En otros ejemplos, la regulación temporal de una enzima que requeriere un agente reductor para la activación puede controlarse por la administración de un agente de inversión tal como glutationa oxidante.

d. Condición Activante - Temperatura

Se proporcionan en la presente mutantes de enzima sensibles a la temperatura (ts) de enzimas que degradan matriz (tsAMDE) que degradan uno o más componentes de la matriz extracelular (ECM) en una manera dependiente de la temperatura. En particular, los mutantes proporcionados en la presente degradan un colágeno. En algunos ejemplos, los mutantes exhiben actividad superior a temperaturas más bajas (por ejemplo 25°C) entonces a temperaturas más altas, por ejemplo, temperaturas fisiológicas (por ejemplo 37°C). En otros ejemplos, los mutantes exhiben actividad superior a

temperaturas fisiológicas que a temperaturas más bajas. De esta manera, la activación del tsAMDE, por ejemplo, tsMMPs, durante la administración al cuerpo, puede controlarse temporalmente y condicionalmente en virtud de los cambios en temperatura. La actividad de la enzima descontrolada puede ser altamente disruptiva a la integridad del tejido. En virtud de la activación condicional de tsAMDE activatable, se alcanza la activación temporalmente, por ello se regula la duración de la acción enzimática en los componentes de matriz extracelular (ECM) para reducir los efectos secundarios perjudiciales asociados con activación de enzimas prolongada indeseada. Esta es una ventaja del actual tsAMDE, por ejemplo tsMMPs, sobnre tratamiento de colagenasa existente para tratar enfermedades o afecciones mediadas por ECM. Por lo tanto, una ventaja de tales mutantes es que su actividad puede regularse, por ello se permite el uso de tsAMDE para tratar enfermedades y/o afecciones de la ECM.

Los mutantes tsAMDEs, por ejemplo tsMMPs, proporcionados en la presente incluyen aquellos que se modifican para ser sensibles a la temperatura, por ejemplo, por sustitución, inserción, o reemplazo de aminoácidos. Generalmente, los tsAMDEs contienen uno o más reemplazos de aminoácidos en su secuencia primaria lo que vuelve la proteína más activa a temperaturas permisibles que a temperaturas no pérsibles. Los

tsAMDEs proporcionados en la presente pueden contener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1 1, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más modificaciones de aminoácidos. En particular, los tsAMDEs proporcionados en la presente contienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 modificaciones de aminoácidos. Los tsAMDEs, por ejemplo tsMMPs, se proporcionan en la presente activables a una temperatura permisible, pero son menos activos o inactivos a otras temperaturas no permisibles. Los tsAMDEs proporcionados en la presente tienen una relación de actividad a una temperatura permisible comparado con una temperatura no permisible que es o está alrededor de 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más. De esta manera, la actividad de los tsAMDEs proporcionados en la presente a la temperatura no permisible es o está alrededor de 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5% o menos de la actividad a una temperatura permisible.

Por ejemplo, los AMDEs que son normalmente activos a temperatura fisiológica (por ejemplo 37°C) se modifican y las enzimas seleccionadas que son activas a temperaturas más bajas (por ejemplo menos de 37°C; por ejemplo a o alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C o 30°C), pero que son menos activos o inactivos a temperatura

fisiológica. Tales enzimas modificadas pueden usarse como enzimas activables que degradan matriz (AMDE) donde la condición de activación es temperatura baja. La activación de la enzima se controla temporalmente conforme la temperatura *in vitro* regresa a la temperatura fisiológica de 37°C. De esta manera, por ejemplo, los tsAMDEs se proporcionan en la presente activos a una temperatura permisible que es o está alrededor de 25°C, pero son menos activos a temperaturas más altas tales como a o alrededor de 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C o 39°C. Los tsAMDEs proporcionados en la presente tienen una relación de actividad a una temperatura permisible baja (por ejemplo menos de 37°C, tales como a o alrededor de 25°C) comparado con una temperatura no permisible de o alrededor de 34°C ó 37°C, por ejemplo, 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C o 39°C, que es o está alrededor de 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más. De esta manera, la actividad de los tsAMDEs proporcionados en la presente a la temperatura no permisible de o alrededor de 34°C ó 37°C es o está alrededor de 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1 %, 0.5% o menos de la actividad en la temperatura permisible a o alrededor de 25°C.

Los tsAMDEs, por ejemplo tsMMPs, proporcionados en la

presente mantienen una o más actividades de enzima tipo natural, por ejemplo, actividad enzimática para desdoblamiento de un componente de ECM tales como colágeno. Por ejemplo, los tsAMDEs proporcionados en la presente mantiene una actividad en la temperatura permisible que es o está alrededor de 30%, 40%, 50%, 60%,70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 140%, 150% o más la actividad de AMDE tipo natural en la temperatura permisible. Generalmente, los tsAMDEs proporcionados en la presente, sin embargo, son menos activos que la enzima tipo natural a la temperatura no permisible más alta, por ejemplo temperatura fisiológica. Por ejemplo, los tsAMDEs proporcionados en la presente exhiben 95%, 90%, 80%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, generalmente 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, o 5% de actividad residual de la enzima tipo natural a temperatura fisiológica (por ejemplo 34 o 37°C).

Donde la condición activante es temperatura, un activador puede proporcionarse que expone los tsAMDEs a la temperatura permisible requerida para activación. La exposición al activador puede ser *in vitro* o *in vitro*. El activador puede exponerse a los tsAMDEs antes de, simultáneamente, subsecuentemente o intermitentemente durante la administración *in vitro*. El activador puede proporcionar

el requisito de frío o calor requerido para activación. Por ejemplo, donde la condición activante es temperatura baja, el activador puede proporcionarse como una solución amortiguadora fría o como un empaque de hielo para aplicarse al sitio de administración. Donde la condición activante es calor, el activador puede proporcionarse como una solución amortiguadora de calentamiento o como un paquete de calor para aplicarse al sitio de administración. La condición activante también puede proporcionarse al almacenar el tsAMDE en la temperatura permisible inmediatamente y justo antes del uso. La duración de la exposición al activador puede ser continua, puede ser por un tiempo determinado, o puede ser intermitente (por ejemplo, si los tsAMDEs son reversibles). De esta manera, el periodo de tiempo que permite la activación es flexible y puede adaptarse a la enzima particular que se usa, la enfermedad o afección a tratarse, el sitio de administración u otros factores. Está dentro del nivel de experiencia del técnico para determinar la duración de la exposición al activador.

En ausencia de la exposición al activador que proporciona la condición activante, el tsAMDE presente a la temperatura no permisible son inactivos o sustancialmente inactivo comparado con la actividad en la temperatura permisible. La condición activante de una temperatura

permisible (por ejemplo temperatura baja) no se presenta normalmente en el sitio de administración que permite la regulación temporal de, y alteración de, los parámetros fisiológicos de órganos y tejidos, tales como el intersticio que exhibe una temperatura fisiológica de aproximadamente 37°C. Bajo condiciones fisiológicas normales, la temperatura del intersticio es aproximadamente 37°C. De esta manera, por ejemplo, los tsAMDEs activos a temperaturas bajas, cuando se presenta en el intersticio normalmente sería catalíticamente inactivo debido a la temperatura fisiológica del intersticio. Cuando la temperatura del intersticio se vuelve temporalmente fría, por ejemplo, por exposición a una solución amortiguadora fría o a un paquete frío administrado en la superficie adyacente, los tsAMDEs cuando se administran al intersticio se activarán. Cuando la temperatura se incrementa y regresa a niveles fisiológicos, entonces los tsAMDEs se vuelven inactivos o sustancialmente inactivos y cesan de ejercer su actividad enzimática. Por lo tanto, al tomar ventaja del requerimiento para condiciones activantes exógenas, los tsAMDEs son activables y pueden hacerse temporalmente activos por una duración limitada durante el uso, tal como durante la administración *in vitro* al cuerpo.

Los tsAMDEs proporcionados en la presente incluyen aquellos que se inactivan irreversiblemente después de la

exposición temperaturas no permisibles. Tales mutantes son activos cuando se expone condiciones de temperatura permisible (por ejemplo 25°C), pero son menos activos o inactivos cuando la temperatura se altera a temperaturas no permisibles (por ejemplo 37°C, tal como la que puede ocurrir durante la administración *in vitro* al cuerpo y la remoción de un activador exógeno (por ejemplo empaque frío)). Por ejemplo, durante el regreso a condiciones permisibles, los polipéptidos tsAMDEs irreversibles proporcionados en la presente exhiben a o alrededor de 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 105%, 110%, 115%, ó 120% la actividad a temperaturas no permisibles. La actividad no es reversible.

También se proporcionan en la presente tsAMDEs que son reversiblemente inactivos después de la exposición a una temperatura no permisible. Tales mutantes son activos cuando se expone a una condición de temperatura permisible, pero son menos activos o inactivos cuando la temperatura se altera a temperaturas no permisibles. Durante la exposición renovada a una condición activante proporciona la temperatura permisible (por ejemplo empaque frío), la actividad de los tsAMDEs se restaura, por ello vuelve la enzima suficientemente activa para degradar uno o más componentes de la ECM. Por ejemplo, durante el regreso a condiciones permisibles desde condiciones no permisibles, los polipéptidos tsAMDEs

reversibles proporcionados en la presente exhiben a o alrededor de 120%, 125%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 200% o más la actividad a temperaturas no permisibles.

Típicamente, los tsAMDEs proporcionados en la presente son zimógenos (que contienen un propéptido) o enzimas procesadas (que carecen de un propéptido), o formas catalíticamente activas de los mismos. Como se discute enseguida, la mayoría de las enzimas, incluyendo MMPs, son zimógenos y requieren un evento de procesamiento inicial para actividad al remover el segmento de propéptido del extremo de terminal N del polipéptido. El agente de procesamiento, tal como una proteasa o agente químico, inicia directamente o indirectamente uno o más eventos de desdoblamiento para generar una enzima activa en virtud de la remoción del segmento de propéptido y/o cambios conformacionales que exponen el sitio activo de la enzima. Por lo tanto, normalmente, durante el procesamiento de una enzima a una forma madura, la enzima es activa. La actividad de una enzima procesada no es reversible, por ello llevando a una degradación descontrolada de la ECM durante la administración de la enzima procesada al cuerpo. Se contempla en la presente que la modificación de la enzima para conferir adicionalmente sensibilidad a la temperatura proporciona un mecanismo para controlar condicionalmente y temporalmente la activación de

la enzima para evitar la activación continuada de la forma procesada.

Cualquier AMDE, ya sea sintética o aislada de fuentes naturales, tales como aquellas establecidas en la Tabla 3 o en otro lugar en la presente, forma de zimógenos de la misma, forma maduras de la misma que carecen del propéptido, y formas catalíticamente activas incluyen polipéptidos que contienen sólo el dominio catalíticamente activo, y variantes alélicas o de especies u otras variantes de los mismos, o cualquiera conocido por aquellos expertos en la técnica pueden modificarse para ser sensibles a la temperatura y se pretende el uso en las composiciones, combinaciones, métodos y aparatos proporcionados en la presente, de manera que la enzima es activable debido al requerimiento de una condición activante de temperatura. Alguien de experiencia en la técnica conoce o identificaría tsAMDEs. Por ejemplo, alguien de experiencia en la técnica usaría técnicas de biología molecular de rutina para introducir mutaciones de aminoácidos en una enzima que degrada la matriz, y prueba para cada uno para activación de enzima bajo temperatura permisible y temperaturas no permisibles para evaluar el requerimiento de una condición activante exógena para activación sostenida o reversible de cualquier enzima deseada. Los ensayos para activación de enzima ejemplares se proporcionan en la

presente y se conocen en la técnica.

Por lo tanto, los tsAMDEs proporcionados en la presente incluyen formas de zimógenos (por ejemplo proenzima), enzimas activas que carecen de propéptido, y polipéptidos que contienen sólo los dominios catalíticamente activos de los mismos de manera que los tsMMPs exhiben actividad enzimática en la temperatura permisible. Por lo tanto, la modificación de la enzima está en una forma activa de los mismos. Los ejemplos de tales tsAMDEs es un tsMMP-1. El tsMMP-1 proporcionado en la presente contiene una o más modificaciones de aminoácidos en su secuencia primaria que corresponde a reemplazos de aminoácidos en un MMP-1 de tipo natural establecido en SEQ ID NO: 327. Las modificaciones ejemplares se describen enseguida. Los mutantes de tsMMP-1 proporcionados en la presente incluyen aquellos que son zimógenos o aquellos que son enzimas activas que carecen de propéptido de manera que tales formas contienen la mutación. El zimógeno o polipéptidos activos proporcionados en la presente incluyen aquellas que son de longitud completa, incluyendo todo o una porción de la ligadura rica en prolina o el dominio de enlace de hemopexina, carece de todo o una porción de ligadura rica en prolina o el dominio de enlace de hemopexina, o polipéptidos que incluyen sólo dominios catalíticamente activos de los mismos (por ejemplo que

171

corresponde a los aminoácidos 81-242 de la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 327) de manera que el tsMMP-1 mantiene la actividad enzimática en la temperatura permisible.

Se entiende que cuando se proporciona en forma de zimógeno, los tsAMDEs son inactivos y que el procesamiento por el agente de procesamiento es requerido para actividad. Generalmente, el procesamiento de la enzima se efectúa antes del uso, tales como antes de la administración *in vitro*. El agente de procesamiento puede aplicarse simultáneamente, intermitentemente o subsecuentemente para exposición de los tsAMDEs a la condición activante (por ejemplo temperatura baja) y administration al cuerpo. Generalmente, el agente de procesamiento se elige de manera que es aceptable para administración a un sujeto. Si se desea, el agente de procesamiento puede purificarse sacando de la enzima, por ejemplo por diálisis u otro método de purificación, antes de la administración. De esta manera, para formas de zimógenos de la enzima, se requieren dos etapas para activación: 1) la exposición al agente de procesamiento; y 2) la exposición a una condición activante. Si está en un zimógeno o forma procesada, la exposición de los tsAMDEs a un activador en la temperatura permisible controla temporalmente la actividad de un tsAMDE.

Los tsAMDEs pueden modificarse además para alterar cualquiera de una o más propiedades o actividades. Por ejemplo, las propiedades o actividades alteradas incluyen, pero no se limitan a, modificación que vuelve la enzima más estable, alterar la especificidad del sustrato y/o incrementar la resistencia a uno o más inhibidores. Por ejemplo, como se describe en otro lugar en la presente, los tsAMDEs pueden modificarse para alterar su especificidad al sustrato. Por ejemplo, una enzima pueden modificarse para tener especificidad incrementada para un sustrato particular. De esta manera, por ejemplo, un tsAMDE, que exhibe especificidad al sustrato para colágeno tipo I y tipo IV pueden modificarse de manera que tiene especificidad al sustrato incrementada para colágeno tipo I, y no colágeno tipo IV, y al contrario. Si se desea, la estabilidad de la enzima también puede incrementarse por pegilación o glicosilación de la enzima. Las modificaciones de polipéptidos pueden alcanzarse por técnicas de biología molecular de rutina, y están dentro de la experiencia de alguien en la técnica. Para los propósitos en la presente, los tsAMDEs modificados mantienen una o más actividades de la enzima tipo natural en la temperatura permisible. La actividad mantenida puede ser 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, o más actividad de

el MMP tipo natural en la temperatura permisible. Las enzimas modificadas pueden probarse para su especificidad al sustrato usando ensayos de rutina para desdoblamiento de sustrato tales como se describe en la presente, o conocidos en la técnica. Por ejemplo, el desdoblamiento del sustrato puede evaluarse en péptidos fluorogénicos o en proteínas purificadas. El desdoblamiento puede evaluarse usando ensayos *in vitro* o *in vitro*. Por ejemplo, el desdoblamiento puede evaluarse al incubar la enzima con el sustrato, y luego correr la mezcla en un gel SDS-PAGE. La degradación puede evaluarse por Western Blot o usando teñidos de proteína estándar tales como Azul Coomasie o Reactivos de teñido de plata.

Los tsAMDEs se proporcionan en la presente como composiciones, combinaciones y recipientes. Los tsAMDEs se proporcionan en una cantidad terapéuticamente efectiva, que cuando se activa, degrada uno o más componentes de la ECM durante la administración, tales como durante la administración sub-epidérmica. Los tsAMDEs resultantes pueden usarse como terapéuticos para tratar enfermedades o afecciones mediadas por ECM.

Por ejemplo, los tsAMDEs se proporcionan en composiciones, combinaciones y/o recipientes con un activador que proporciona la condición activante. En algunos ejemplos,

los tsAMDEs también se proporcionan en composiciones, combinaciones y/o recipientes con el agente de procesamiento. El activador y/o agente de procesamiento pueden estar en la misma composición o en composiciones separadas y en el mismo recipiente o recipientes separados con los tsAMDEs. Además, los tsAMDEs también pueden combinarse o proporcionarse en combinación, tal como en recipientes, con otros agentes tales como cualquiera de uno o más de un anestético, agente alfa-adrenérgico, agente dispersante, o agente terapéutico. Los tsAMDEs pueden proporcionarse en la misma composición o separada como de otros agentes y/o pueden proporcionarse en los mismos recipientes o separados.

Los tsAMDEs pueden proporcionarse como un líquido o en forma liofilizada a una concentración terapéuticamente efectiva. Alternativamente, los tsAMDEs puede proporcionarse como un líquido concentrado, de tal manera que la adición de una cantidad suficiente de activador que resulta en una concentración terapéuticamente efectiva de enzima. La enzimas puede proporcionarse como una solución o suspensión o encapsularse en un vehículo de suministro apropiado, tales como una liposoma, partícula de vidrio, tubo capilar, vehículo de suministro de fármaco, gelatina, gel, comprimido, cápsula, píldora, revestimiento de liberación temporalizada, así como preparación de parche transdérmico e inhaladores de

polvo seco u otro de tales vehículos. El activador típicamente se proporciona como una solución o suspensión líquida para administración en el intersticio ya sea solo o después de la reconstitución de y/o la exposición a los tsAMDEs. En algunos ejemplos, el activador se proporciona exógenamente y se aplica en el sitio de administración. Por ejemplo, un activador puede ser un empaque caliente o frío que puede aplicarse al sitio de administración, por ejemplo la piel, antes de, simultáneamente, subsecuentemente o intermitentemente después de la administración de los tsAMDEs. Como se describe enseguida, los kits que contienen estas combinaciones y también artículos de manufactura, tales como recipientes, también se proporcionan.

De esta manera, cuando se desea, la enzima tsAMDEs se somete a condiciones activantes en las cuales la enzima se expone a un activador para generar una enzima que es activa. La exposición a un activador puede alcanzarse *in vitro* o *in vitro*. Por ejemplo, donde una enzima activable y el activador se proporcionan de forma separada, pueden administrarse juntos o de forma separada. Donde se administra de forma separada, los tsAMDEs pueden administrarse simultáneamente, subsecuentemente o intermitentemente desde el activador. En otro ejemplo, los tsAMDEs, en una forma liofilizada o de líquido concentrado, pueden reconstituirse con el activador

justo antes del uso. En tal ejemplo, la mezcla de los tsAMDEs y el activador se administra en conjunto. Tales métodos de la activación pueden determinarse de forma empírica por alguien de experiencia en la técnica, y pueden diferir dependiendo de la elección de la enzima y activador, y el método de tratamiento y régimen de tratamiento deseado.

La enzima activable que degrada la matriz puede proporcionarse en un artículo o manufactura solo o en combinación con el activador. Por ejemplo, si la enzima se proporciona en combinación con el activador, un artículo de manufactura pueden contener una enzima, ya sea liofilizada o en forma de líquido, en un compartimiento, y un activador en un compartimiento adyacente. Los compartimientos puede ser separados por un miembro de división. Los artículos de manufactura pueden contener adicionalmente el agente de procesamiento. Tales artículos de manufactura se describen en otro lugar en la presente.

Las combinaciones de tsAMDEs y activador también pueden contener además otros agentes, dicutidos en detalle enseguida. Por ejemplo, además del activador y tsMMP, se proporcionan combinaciones que contienen uno o más de un anestético, vasoconstrictor, agente dispersante u otro agente terapéutico.

i. Mutantes de Matriz de Metaloproteasa Sensibles a la

Temperatura

Se proporcionan en la presente polipéptidos tsMMP, por ejemplo polipéptidos tsMMP-1, que son sensibles a la temperatura en virtud de modificaciones en la secuencia primaria del polipéptido comparado con un polipéptido MMP no modificado. El polipéptido tsMMP exhibe actividad enzimática incrementada a una temperatura permisible comparado con la actividad del tsMMP polipéptido a una temperatura no permisible. Por ejemplo, polipéptidos tsMMP proporcionados en la presente exhiben actividad enzimática incrementada a una temperatura baja que es menos de 37°C, por ejemplo, que es a o alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C ó 30°C, en particular a o alrededor de 25°C comparado con una temperatura alta no permisible que es a o alrededor de 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C ó 39°C, en particular a o alrededor de 34°C ó 37°C. Debido a la actividad de polipéptidos tsMMP dependiente de la temperatura, la actividad de MMP puede ser controlada condicionalmente, por ello se regula temporalmente la activación para prevenir la degradación prolongada e indeseada de la ECM. En particular, tales polipéptidos tsMMP pueden ser usados en usos, procesos o métodos para tratar enfermedades o afecciones de la ECM, por ejemplo, para tratar enfermedades o afecciones mediadas por colágeno tales como

celulosis.

Los polipéptidos tsMMP proporcionados en la presente tienen una relación de actividad a una temperatura permisible comparado con una temperatura no permisible que es o está alrededor de 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más. De esta manera, la actividad de polipéptidos tsMMP proporcionados en la presente a la temperatura no permisible es o está alrededor de 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5% o menos de la actividad a una temperatura permisible. Los polipéptidos tsMMPs proporcionados en la presente mantienen una o más actividades de polipéptido MMP tipo natural, por ejemplo, actividad enzimática para desdoblamiento de un componente de ECM tal como colágeno. Típicamente, tal actividad es sustancialmente sin cambio (menos de 1%, 5%, 10%, 20% o 30% de cambio) comparado con una proteína de inicio o tipo natural. En otros ejemplos, la actividad de un polipéptido MMP modificado se incrementa o se reduce como se compara con un polipéptido MMP-1 tipo natural o de partida. La actividad se evalúa en la temperatura permisible y es comparado con la actividad de un polipéptido MMP no modificado, de partida en la temperatura permisible o una temperatura no permisible. Por ejemplo, un

polipéptido tsMMP proporcionadas en la presente mantiene una actividad en la temperatura permisible que es o está alrededor de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 140%, 150% o más la actividad de MMP-1 tipo natural en la temperatura permisible o temperatura no permisible. La actividad puede evaluarse *in vitro*, *ex vivo* o *in vitro* y puede ser comparada con la del polipéptido MMP no modificado, tales como por ejemplo, un polipéptido MMP inactivo establecido en SEQ ID NO: 327 activado por el agente de procesamiento, o cualquier otro polipéptido MMP conocido por alguien de experiencia en la técnica que se usa como el material de partida. Como se discute en otro lugar en la presente, se entiende que la forma inactiva de zimógeno de un MMP o un MMP modificado deberá procesarse hasta una forma activa antes del uso o medición de la actividad.

Las modificaciones en un polipéptido MMP pueden hacerse para cualquier forma de un polipéptido MMP, incluyendo formas inactivas o activas, variantes alélicas y de especies, variantes de empalme, variantes conocidas en la técnica, o polipéptidos MMP híbridos o quiméricos. Por ejemplo, las modificaciones proporcionadas en la presente pueden hacerse en cualquier polipéptido MMP ejemplar establecido en la Tabla 3, incluyendo polipéptidos precursores, formas de proenzima inactivas, forma de zimógenos, formas activas de los mismos y

variantes alélicas o de especies de los mismos. Por ejemplo, un MMP ejemplar es un polipéptido MMP-1 precursor establecido en SEQ ID NO:98, un MMP-1 de pro-enzima inactiva que contienen el propéptido establecido en SEQ ID NO: 327, un polipéptido MMP-1 maduro que carece del propéptido establecido en SEQ ID NO: 99, o cualquier variante de especies, alélica o modificada y fragmentos activos de los mismos que tienen 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ó 99% de identidad de secuencia para cualquiera de los polipéptidos MMP-1 establecidos en SEQ ID NOS: 98-99, 327. Las modificaciones también pueden ser en un polipéptido MMP que carecen de uno o más dominios, de manera que el polipéptido MMP es sensible a la temperatura (es decir contiene la modificación) y mantiene la actividad enzimática. Por ejemplo, las modificaciones pueden ser en un polipéptido MMP que incluye sólo el dominio catalítico (por ejemplo en MMP-1 que corresponde a aminoácidos 81-242 del polipéptido MMP-1 de proenzima establecido en SEQ ID NO:327). Las modificaciones también puede hacerse en un polipéptido MMP que carece de todo o una porción de ligadura rica en prolina (por ejemplo en MMP-1 que corresponde a aminoácidos 243-258 del polipéptido MMP-1 de proenzima establecida en SEQ ID NO: 327) y/o que carecen de todo o una porción del dominio de enlace de hemopexina (por ejemplo en MMP-1 que corresponde

a aminoácidos 259-450 del polipéptido MMP-1 de proenzima establecida en SEQ ID NO: 327). Las variantes alélicas de los polipéptidos MMP-1 incluyen, pero no se limitan a, cualquiera del polipéptido MMP-1 que contiene cualquiera de uno o más variantes de aminoácido establecida en SEQ ID NO: 537. Las variantes de especies ejemplares para modificación en la presente incluyen, pero no se limitan a, cerdo, conejo, bovino, caballo, rata, y ratón, por ejemplo, establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 527-532. Las modificaciones en un polipéptido MMP proporcionadas en la presente para conferir sensibilidad a la temperatura puede hacerse para un polipéptido MMP que también contiene otras modificaciones, tales como aquellas descritas en la técnica, incluyen la modificación de la secuencia primaria y las modificaciones no en la secuencia primaria del polipéptido. Se entiende que modificaciones en una variante alélica o de especies u otra variante incluye la modificación en cualquier forma de la misma tales como una forma activa o inactiva, una forma que incluye sólo el dominio catalítico, o una forma que carece de todo o una porción de ligadura rica en prolina o el dominio de enlace de hemopexina de manera que la forma modificada contienen la modificación sensible a la temperatura y es sensible a la temperatura. Como se discute en la presente enseguida, las modificaciones MMP-1 correspondientes pueden

hacerse a formas similares de otros polipéptidos MMP.

Por lo tanto, los polipéptidos MMP resultantes modificados incluyen aquellos que son proenzimas de zimógeno inactivas y aquellos que son polipéptidos activos. Por ejemplo, cualquier polipéptido modificado proporcionados en la presente que es una proenzima de zimógeno puede activarse por el agente de procesamiento para generar un polipéptido MMP activo. Los agentes de procesamiento incluyen, pero no se limitan a, cualquiera establecido en la Tabla 3A enseguida. La activación de polipéptidos MMP-1 se exhiben típicamente en su forma activa después del desdoblamiento del propéptido y/o procesamiento intermolecular e intramolecular de la enzima para remover el propéptido (ver por ejemplo Visse et al. (2003) Cir. Res., 92:827-839; Khan et al. (1998) Protein Science, 7:815-836; Okada et al. (1988) Biochem J, 254:731-741; Okada & Nakanashi (1989) FEBS Lett., 249:353-356; Nagase et al. (1990) Biochemistry, 29:5783-5789; Koklitis et al. (1991) Biochem J, 276:217-221 ; Springman et al. (1990) PNAS, 87:364-8; Murphy et al. (1997) Matrix Biol., 15:51 1-8).

Tabla 3A. Activadores de Zimógeno	
Compuestos Proteolíticos	
Proteasas	Plasmina
	Calicreína de plasma
	Tripsina-1 (Tripsina I)
	Tripsina-2 (Tripsina II)

	Neutrofil elastasa
	Catepsina G
	Triptasa
	Quimasa
	Proteinasa-3
	Furina
	uPA
	MMPs, incluyendo MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-26, y MT1-MMP
Compuestos No Proeolíticos	
Agentes que modifican tiol	Acetato 4-aminofenilmercúrico (AMPA)
	HgCl2
	N-etilmaleimida
Perturbadores de conformación	Dodecil sulfato de sodio (SDS)
	Agentes caotrópicos
Otros agentes químicos	Glutationa oxidada (GSSG)
	Oxígeno reactivo
	Sales Au(I)
Otras Condiciones Activantes	
	pH ácido
	Calor

Las modificaciones proporcionadas en la presente de un polipéptido de referencia no modificado, de partida incluyen reemplazos de aminoácidos o sustituciones, adiciones o eliminaciones de aminoácidos, o cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, los polipéptidos tsMMP incluyen aquellos

con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más posiciones modificadas. También se proporcionan en la presente polipéptidos tsMMP modificados con dos o más modificaciones comparado con un polipéptido MMP-1 de referencia de partida. Los polipéptidos MMP modificados incluyen aquellos con 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 , 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más posiciones modificadas. Cualquier modificación proporcionada en la presente puede ser combinada con cualquier otra modificación conocida por alguien de experiencia en la técnica de manera que el polipéptido MMP modificado reusltante mantiene su actividad enzimática cuando está en su forma activada de manera que la actividad enzimática es mayor en la temperatura permisible comparada con la temperatura no permisible. Los polipéptidos MMP modificados proporcionados en la presente pueden evaluarse para actividad enzimática bajo varias condiciones (por ejemplo temperaturas permisibles y no permisibles) para identificar aquelloos que mantienen actividad enzimática.

Las modificaciones proporcionadas en la presente pueden hacerse por técnicas de ADN recombinantes estándar tales como las que son de rutina para alguien de experiencia en la técnica. Cualquier método conocido en la técnica para efectuar la mutación de cualquiera de uno o más aminoácidos

en una proteína objetivo pueden emplearse. Los métodos incluyen mutagénesis dirigida al sitio estándar (usando por ejemplo un kit, tal como QuikChange disponible de Stratagene) de moléculas de ácido nucleico codificadas, o por métodos de síntesis de polipéptido de fase sólida.

Otras modificaciones que están o no están en la secuencia primaria del polipéptido también pueden incluirse en un polipéptido MMP modificado, o conjugado del mismo, que incluye, pero no se limita a, la adición de una porción de carbohidrato, la adición de una porción de polietilen glicol (PEG), la adición de un dominio Fc, etc. Por ejemplo, tales modificaciones adicionales pueden hacerse para incrementar la estabilidad de la vida media de la proteína.

1) Modificaciones de tsMMP-1 Ejemplares

Se proporcionan en la presente polipéptidos MMP-1 modificados que contienen una o más modificaciones de aminoácidos en un polipéptido MMP-1 no modificado, de partida. El reemplazo o reemplazos de aminoácidos puede ser en cualquiera de una o más posiciones que corresponde a cualquiera de las siguientes posiciones: 84, 85, 95, 98, 99, 100, 103, 104, 105, 106, 109, 110, 111, 1 12, 118, 123, 124, 126, 147, 150, 151 , 152, 153, 155, 156, 158, 159, 170, 171, 176, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 185, 187, 188, 189, 190, 191 , 192, 194, 195, 197, 198, 206, 207, 208, 210, 21 1, 212,

218, 223, 227, 228, 229, 230, 233, 234, 237, 240, 251, 254, 255, 256, 257 y 258 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de especies u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un polipéptido MMP-1 establecida en SEQ ID NO: 327. Los reemplazos de aminoácidos incluyen reemplazos de aminoácidos a un residuo de aminoácido ácido (D o E); básico (H, K o R); neutro (C, N, Q, T, Y, S, G) o hidrofóbico (F, M, W, I V, L A, P). Por ejemplo, los reemplazos de aminoácidos en las posiciones notadas incluyen reemplazo por residuos de aminoácidos E, H, R, C, Q, T, S, G, M, W, I, V, L , A, P , N, F, D, Y o K. Tales polipéptidos MMP-1 modificados incluyen polipéptidos MMP-1 que son sensibles a la temperatura en virtud de la actividad incrementada a la temperatura permisible de 25°C comparado con temperaturas no permisibles de 34°C ó 37°C.

Por ejemplo, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionadas en la presente pueden incluir polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de uno o más las modificaciones de T84F (es decir reemplazo de T por F en una posición que corresponde a la

posición 84 de un polipéptido MMP-1 establecido en SEQ ID NO:327), E85F, L95K, L951, R98D, I99Q, E100V, E100R, E100S, E100T, E100F, E100I, E100N, T103Y, P104A, P104M, D105A, D105F, D105G, D105I, D105L, D105N, D105R, D105S, D105T, D105W, D105E, L106C, L106S, A109H, D110A, V111R, D112S, A118T, S123V, N124D, T126S, G147P, R150P, R150V, R150D, R150I, R150H, D151G, N152A, N152S, S153T, F155L, F155A, D156H, D156L, D156A, D156W, D156V, D156K, D156T, D156R, D156M, P158T, P158G, P158K, P158N, G159V, G159T, G159M, G159I, G159W, G159L, G159C, P170D, P170A, G171P, G171E, G171D, A176F, A176W, F178T, F178L, D179N, D179V, D179C, E180Y, E180R, E180T, E180F, E180G, E180S, E180N, E180D, E181T, D181L, D181K, D181C, D181G, E182T, E182Q, E182M, E182G, E183G, R183S, T185R, T185Y, T185H, T185G, T185V, T185Q, T185A, T185E, T185D, N187R, N187M, N187W, N187F, N187K, N187I, N187A, N187G, N187C, N187H, F188V, R189N, R189T, R189Q, E190G, E190Y, E190D, Y191V, N192H, N192S, N192D, N192C, H194P, R195C, R195W, R195L, R195G, R195Q, R195A, R195D, R195V, A197C, A197V, A198G, A198L, A198M, G206A, G206S, L207R, L207V, L207I, L207G, S208R, S208L, S210V, S210A, T211L, D212G, D212H, Y218S, F223C, F223E, F223G, F223A, F223S, F223K, F223M, V227C, V227D, V227E, V227L, V227S, V227W, V227G, V227H, V227Q, V227R, Q228P, L229A, L229T, L29I, A230V, D233E, I234A, I234T, I234E, I234Q,

I237L, I237W, I237N, I240S, I240A, I240C, 1251S, 1251W, Q254S, T255H, P256C, K257P, K257T y A258P. Los polipéptidos MMP-1 modificados ejemplares tienen una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 328-526 y formas activas y otras formas de los mismos, y variantes alélicas y de especies de los mismos.

En algunos ejemplos, tales polipéptidos MMP-1 modificados incluyen polipéptidos que tiene un reemplazo o reemplazos de aminoácidos a cualquiera de uno o más posiciones que corresponde a cualquiera de las siguientes posiciones: 95, 100, 103, 105, 150, 151, 153, 155, 156, 159, 171, 176, 179, 180, 181, 182, 185, 187, 190, 191 , 192, 194, 195, 198, 206, 207, 210, 212, 218, 223, 227, 228, 229, 230, 233, 234, 237 y 240 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de especies u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un polipéptido MMP-1 establecida en SEQ ID NO: 327. Por ejemplo, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionadas en la presente incluyen polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de uno o más las modificaciones de

L95K, E100V, T103Y, D105A, D105F, D105G, D105I, D105L, D105N, D105R, D105S, D105T, D105W, R150P, D151G, S153T, F155L, F155A, D156H, D156L, D156A, D156W, D156V, D156K, D156T, D156R, G159V, G159T, G171P, A176F, D179N, E180Y, E180R, E180T, E180F, E181T, D181L, D181K, E182T, E182Q, T185R, T185Y, T185H, T185G, T185V, T185Q, T185A, T185E, N187R, N187M, N187W, N187F, N187K, N187I, N187A, E190G, Y191V, N192H, N192S, N192D, N192C, H194P, R195C, R195W, R195L, R195G, R195Q, R195A, R195D, R195V, A198G, A198L, A198M, G206A, G206S, L207R, L207V, S210V, D212G, Y218S, F223C, F223E, F223G, F223A, F223S, V227C, V227D, V227E, V227L, V227S, V227W, Q228P, L229A, L229T, L229I, A230V, D233E, I234A, I234T, I234E, I234Q, I237L, I240S, I240A, e I240C. Tales polipéptidos MMP-1 modificados exhiben al menos 1.2 veces o más actividad en la temperatura permisible de 25°C comparado con las temperaturas no permisibles de 34°C o 37°C, por ejemplo, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más veces la actividad. Tales polipéptidos MMP-1 modificados ejemplares tienen una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 328, 331-340, 345-352, 354-357, 359, 363, 365, 368, 371, 373-374, 377-378, 380, 382-384, 388-395, 397-398, 401-419, 421-422, 424-426, 428-430, 433, 435, 437-450, 457-459, 462,

465-472, 477-478, 518, y formas activas y otras formas de los mismos, y variantes alélicas y de especies de los mismos.

En otros ejemplos, tales polipéptidos MMP-1 modificados incluyen polipéptidos que tiene un reemplazo o reemplazos de aminoácidos a cualquiera de una o más posiciones que corresponden a cualquiera de las siguientes posiciones: 95, 105, 150, 151, 155, 156, 159, 176, 179, 180, 181, 182, 185, 187, 195, 198, 206, 210, 212, 218, 223, 227, 228, 229, 230, 233, 234, y 240 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de especies u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia para un polipéptido MMP-1 establecida en SEQ ID NO: 327. Por ejemplo, polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de uno o más las modificaciones de L95K, D105A, D105F, D105G, D105I, D105L, D105N, D105R, D105S, D105T, D105W, R150P, D151G, F155A, D156K, D156T, D156L, D156A, D156W, D156V, D156H, D156R, G159V, G159T, A176F, D179N, E180Y, E180T, E180F, D181L, D181K, E182T, E182Q, T185R, T185H, T185Q, T185A, T185E, N187R, N187M, N187F,

N187K, N187I, R195V, A198L, A198M, G206A, G206S, S210V, Y218S, F223E, V227C, V227E, V227W, Q228P, L229T, L229I, D233E, I234A, I234T, I234E, I240S, e I240C. Tales polipéptidos MMP-1 modificados exhiben al menos 1.5 veces o más actividad en la temperatura permisible de 25°C comparado con la temperatura no permisibles de 34°C ó 37°C, por ejemplo, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más veces la actividad. Tales polipéptidos MMP-1 modificados ejemplares tienen una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 328, 331-340, 345-346, 348-352, 534-357, 359, 363, 365, 368, 373-374, 377-378, 382-384, 388-391, 395, 397-398, 401-402, 404, 411, 415-419, 421-422, 430, 433, 437, 439-441, 443-444, 446-449, y formas activas y otras formas de los mismos, y variantes alélicas y de especies de los mismos.

En ejemplos adicionales, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos MMP-1 modificados que son sensibles a la temperatura en la temperatura permisible de 25°C y exhiben al menos 30%, por ejemplo, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 140%, 150% o más actividad a 25°C comparado con MMP-1 tipo natural a 25°C. Tales polipéptidos MMP-1 modificados incluyen polipéptidos que tiene un reemplazo o

reemplazos de aminoácidos en cualquiera de una o más posiciones que corresponde a cualquiera de las siguientes posiciones: 95, 105, 150, 156, 159, 179, 180, 182, 185, 187, 195, 198, 212, 223, 227, 234, y 240 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de especies u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un polipéptido MMP-1 establecida en SEQ ID NO: 327. Por ejemplo, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de uno o más las modificaciones L95K, D105A, D105G, D105I, D105L, D105N, D105S, D105W, D105T, R150P, D156K, D156T, D156V, D156H, D156R, G159V, G159T, D179N, E180Y, E180T, E180F, E182T, T185H, T185Q, T185E, N187M, N187K, N1871, R195V, A198L, F223E, V227E, I234E e I240S. Tales polipéptidos MMP-1 ejemplares modificados tienen una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 328, 332-335, 337-340, 345, 349-352, 355, 359, 363, 368, 373-374, 377, 384, 388-389, 391, 397, 402, 404, 411, 416, 422, 430, 444, 449, o formas activas y otras formas de los mismos, y

variantes alélicas y de especies de los mismos.

En particular, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente tienen un reemplazo o reemplazos de aminoácidos en cualquiera de uno o más posiciones que corresponde a cualquiera de las siguientes posiciones: 95, 105, 150, 156, 159, 179, 180, 182, 185, 187, 198, 227, 234 y 240 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de especies u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un polipéptido MMP-1 establecida en SEQ ID NO: 327. Tales polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de uno o más las modificaciones L95K, D105I, D105N, D105L, D105A, D105G, R150P, D156R, D156H, D156K, D156T, G159V, G159T, D179N, E180T, E180F, E182T, T185Q, N187I, A198L, V227E, I234E e I240S. Más particularmente, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de uno o más de las modificaciones L95K, D105N, R150P, D156K,

D156T, G159V, D179N, E180T, A198L, V227E, e I240S.

Los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen aquellas que exhiben reversible o irreversible (también llamado no reversible) actividad dependiente de la temperatura. En todos los casos, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionadas en la presente exhiben actividad incrementada a una temperatura permisible (por ejemplo 25°C) comparado con temperaturas no permisibles (por ejemplo 34°C ó 37°C.) Para polipéptidos no reversibles, la exposición a la temperatura no permisible antes de, subsecuentemente o intermitentemente de la exposición a la temperatura permisible vuelve al polipéptido irreversiblemente inactivos. De esta manera, un polipéptido MMP-1 modificado que se regresa a condiciones de temperatura permisibles, por ejemplo 25°C, exhiben la misma o similar actividad del polipéptido MMP-1 a temperaturas no permisibles, por ejemplo, 34°C ó 37°C. Por ejemplo, durante el regreso a condiciones permisibles, los polipéptidos MMP-1 modificados irreversibles proporcionados en la presente exhiben o alrededor de 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 105%, 110%, 115%, o 120% la actividad a temperaturas no permisibles. Los polipéptidos MMP-1 modificados no reversibles ejemplares proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tiene una modificación de aminoácido que

corresponde a cualquiera de una o más las modificaciones L95K, D1051, D105L, D105N, D105R, D105W, D151G, F155A, D156K, D156T, D156L, D156A, D156W, D156V, D156H, D156R, G159V, A176F, D179N, D181L, D181K, E182T, E182Q, T185R, N187F, N1871, G206A, G206S, V227C, V227E, Q228E, L229T, D233E, I234A, I234T, I234E, I240S, por ejemplo, cualquiera establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 328, 331- 332, 337-339, 346, 348, 349-352, 354-357, 363, 365, 368, 378, 382-384, 390, 401, 404, 417-418, 430, 433, 439-440, 443-444, 446-447, 449 o formas activas y otras formas de los mismos, y variantes alélicas y de especies de los mismos.

Para polipéptidos reversibles, la exposición a la temperatura no permisible antes de, subsecuentemente o intermitentemente desde la exposición a la temperatura permisible vuelve al polipéptido reversiblemente activo. De esta manera, un polipéptido MMP-1 modificado que que se regresa a condiciones de temperatura permisibles recupera la actividad, y por ello exhibe actividad incrementada en la temperatura permisible comparado con la temperatura no permisible. En tales ejemplos, la actividad recuperada puede ser completa o es parcial. De esta manera, un polipéptido MMP-1 modificado que se regresa a condiciones de temperatura permisibles, por ejemplo 25°C, exhiben una actividad incrementada comparada con la actividad a temperaturas no

permisibles, por ejemplo, 34°C o 37°C. Por ejemplo, durante el regreso a condiciones permisibles, los polipéptidos MMP-1 modificados reversibles proporcionados en la presente exhiben a o alrededor de 120%, 125%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 200% o más la actividad a temperaturas no permisibles. Los polipéptidos MMP-1 modificados no reversibles ejemplares proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tienen una modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de una o más modificaciones D105A, D105F, D105G, D105S, D105T, R150P, G159T, E180Y, E180T, E180F, T185H, T185Q, T185A, T185E, N187R, N187M, N187K, R195V, A198L, A198M, S210V, Y218S, F223E, V227W, L229I e I240C, por ejemplo, cualquiera establecida en cualquiera de SEQ ID NOS: 333-336, 340, 345, 359, 373-374, 377, 388-389, 391, 395, 397-398, 402, 411, 415-416, 419, 421-422, 437, 441, 448, o formas activas y otras formas de los mismos, y variantes alélicas y de especies de los mismos.

2) Combinaciones

Se proporcionan en la presente polipéptidos MMP-1 modificados que contienen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más modificaciones comparados con un polipéptido MMP-1 de partida o de referencia. Los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente pueden contener cualquiera de dos o más

modificaciones proporcionadas anteriormente. Por ejemplo, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente contienen reemplazos de aminoácidos en cualquiera de dos o más posiciones que corresponden a cualquiera de las siguientes posiciones: 84, 85, 95, 98, 99, 100, 103, 104, 105, 106, 109, 110, 111, 112, 118, 123, 124, 126, 147, 150, 151, 152, 153, 155, 156, 158, 159, 170, 171, 176, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 185, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 194, 195, 197, 198, 206, 207, 208, 210, 211, 212, 218, 223, 227, 228, 229, 230, 233, 234, 237, 240, 251, 254, 255, 256, 257 y 258 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de especie u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más identidad de secuencia a un polipéptido MMP-1 establecido en la SEQ ID NO: 327. Generalmente, tales mutantes de combinación son sensibles a la temperatura y exhiben actividad enzimática incrementada a una temperatura permisible comparado con la actividad del polipéptido tsMMP-1 en una temperatura no permisible. Típicamente, los mutantes de combinación también conservan su actividad en la temperatura permisible comparado con los polipéptidos MMP-1 de mutante sencillos únicamente o

comparado con un polipéptido MMP-1 no modificado que no contiene los cambios de aminoácido (por ejemplo, un polipéptido MMP-1 tipo natural establecido en la SEQ ID NO: 327 o formas activas u otras formas del mismo) en la temperatura permisiva o no permisiva.

Los mutantes de combinación MMP-1 ejemplares proporcionados en la presente contienen reemplazos de aminoácidos en cualquiera de las dos o más posiciones que corresponden a cualquiera de las siguientes posiciones: 95, 105, 150, 156, 159, 179, 180, 182, 185, 187, 198, 227, 234 y 240 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 327, o en una posición correspondiente en una variante alélica o de la especie u otra variante de un polipéptido MMP-1 que tiene al menos o al menos alrededor de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más identidad de secuencia a un polipéptido MMP-1 establecida en la SEQ ID NO: 327. Por ejemplo, los polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tienen modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de dos o más modificaciones L95K, D105I, D105N, D105L, D105A, D105G, R150P, D156R, D156H, D156K, D156T, G159V, G159T, D179N, E180T, E180F, E182T, T185Q, N1871, A198L, V227E, I234E y I240S. Más

particularmente, polipéptidos MMP-1 modificados proporcionados en la presente incluyen polipéptidos que tienen modificación de aminoácido que corresponde a cualquiera de dos o más modificaciones L95K, D105N, R150P, D156K, D156T, G159V, D179N, E180T, A198L, V227E, y I240S. Se entiende que al menos dos diferentes posiciones se modifican en los mutantes de combinación proporcionados en la presente. Los polipéptidos mutantes de combinación MMP-1 ejemplares se proporcionan en la presente establecidos en la Tabla 27 en el Ejemplo 29.

3) Modificaciones Adicionales

Cualquier MMP modificada, por ejemplo cualquier MMP-1 modificado, polipéptido proporcionados en la presente también pueden contener una o más de otras modificaciones descritas en la técnica. Las modificaciones adicionales pueden incluir, por ejemplo, cualquier sustitución de aminoácido, eliminación o inserción conocida en la técnica. Además que contienen una modificación descrita anteriormente, cualquier polipéptido MMP-1 modificado proporcionado en la presente puede contener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más modificaciones adicionales, de manera que los polipéptidos MMP-1 resultantes exhiben actividad incrementada en la temperatura permisible (por ejemplo 25°C) comparado con la temperatura no permisible (por ejemplo 34°C

o 37°C) y mantiene la actividad de MMP-1 tipo natural en la temperatura permisiva o no permisiva. Las modificaciones adicionales pueden conferir propiedades adicionales a la enzima, por ejemplo, estabilidad incrementada, vida media incrementada y/o resistencia incrementada a inhibidores, por ejemplo, TIMP. Las modificaciones adicionales incluyen modificaciones a la secuencia primaria del polipéptido, así como otra modificación tal como PEGilación y glicosilación del polipéptido. Generalmente, tales polipéptidos incluyen una o más modificaciones proporcionadas en la presente y exhiben actividad incrementada en la temperatura más baja que una temperatura más alta. Las modificaciones ejemplares que se pueden incluir en un polipéptido proporcionado en la presente incluyen, pero no se limitan a, modificaciones T4P, Q10P, R30M, R30S, T96R, A114V, F166C, I172V, D181H, R189T, E200A, G214E, D232N, D233G, R243S, Q254P, T286A, I298T, E314G, F315S, V374M, R386Q, S387T, G391S, y T432A de un polipéptido establecido en la SEQ ID NO: 327.

4) Otras MMPs

Las metaloproteasas de matriz son polipéptidos altamente homólogos y exhiben especificidades similares para componentes de matriz extracelular. Las secuencias ejemplares de los MMP se establecen en la Tabla 3, por ejemplo, cualquiera establecido en las SEQ ID NOS: 1, 711, 714, 717,

720, 723, 726, 729, 732, 735, 738, 741, 744, 747, 750, 753, 756, 759, 762, 765, 768, 771, 774 o 777 o forma de zimógenos, formas activas u otras formas del mismo, o variantes alélicas o de especies de los mismos. La Figura 1 proporciona una alineación de la forma de zimógeno de polipéptidos MMP ejemplares. De esta manera, cualquiera de las modificaciones proporcionadas en la presente en un MMP-1 se puede hacer en cualquier otro polipéptido MMP. Por lo tanto, con base en la descripción en la presente, cualquier MMP, especie, variante alélica u otra variante, se puede hacer temporalmente activo (reversible o irreversible) en virtud de la actividad a una temperatura permisible (generalmente una temperatura inferior) comparado con una temperatura no permisible (generalmente a temperatura más alta). Tales mutantes tsMMP se pueden usar por alguien de experiencia en la técnica y usar en composiciones, procesos o métodos para el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por ECM.

Está dentro del nivel de alguien de experiencia en la técnica alinear diversos MMPs a MMP-1 (por ejemplo establecido en la SEQ ID NO: 327) e identificar los residuos correspondientes. Cualquiera de las modificaciones proporcionadas en la presente se pueden hacer en cualquier otro MMP en el residuo correspondiente. Alguien de experiencia en la técnica puede probar la actividad del

polipéptido modificado resultante para sensibilidad a la temperatura a una temperatura permisible comparado con una temperatura no permisible. En particular, se entiende que diferencias de aminoácidos conservadoras en una posición correspondiente en un MMP son funcionalmente invariantes. De esta manera, donde un residuo en MMP-1 alinea con un residuo conservador a ello en otro MMP, se entiende que tal residuo se contempla para la modificación en la presente. Por ejemplo, la posición 95 en un MMP-1 establecido en la SEQ ID NO: 327 es una leucina (L). La alineación de la SEQ ID NO: 327 con otros MMP muestra que la posición 95 en otros MMP es un residuo de leucina, isoleucina (I) o valina (V) (ver Figura 1). Cada uno de L, I y V son residuos conservadores.

En particular, se proporcionan en la presente polipéptidos MMP modificados que se modifican por uno o más reemplazo de aminoácidos para conferir sensibilidad a la temperatura al efectuar una modificación MMP-1 correspondiente en un residuo correspondiente en un MMP. La Figura 2 describe residuos de aminoácidos ejemplares para modificación. Se entiende que estos residuos identificados son sólo ejemplares y están dentro del nivel de alguien de experiencia en la técnica para llevar a cabo la modificación de un MMP en otros residuos de aminoácido u otros residuos correspondientes MMP-1 para conferir sensibilidad a la

temperatura. Las modificaciones ejemplares proporcionadas en la presente incluyen la modificación de cualquier MMP, por ejemplo, un MMP-8, MMP-13, MMP-18, MMP-2, MMP-9, MMP-3, MMP-10, MMP-11, MMP-7, MMP-26 y MMP-12, en cualquiera de una o más posiciones que corresponden a cualquiera de las siguientes posiciones: 95, 105, 151, 156, 159, 176, 179, 180, 181, 182, 185, 195, 198, 206, 210, 212, 218, 223, 228, 229, 233, 234, y 240 de un polipéptido MMP-1 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 327. La modificación incluye cualquiera de una o más de las modificaciones proporcionadas en la presente arriba en la posición correspondiente a la posición recitada en MMP-1. Por ejemplo, el residuo 95 en un polipéptido MMP-1 establecido en la SEQ ID NO: 327 corresponde al residuo 113 en un polipéptido MMP-8 establecido en la SEQ ID NO: 101. De esta manera, se proporcionan en la presente polipéptidos MMP-8 modificados que tienen una modificación de aminoácido L113K de un polipéptido MMP-8 no modificado que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 101. Las modificaciones similares se proporcionan en la presente con base en su descripción.

Cualquier polipéptido MMP modificado proporcionado en la presente también puede contener uno o más de otras modificaciones descritas en la técnica. Las modificaciones

adicionales pueden incluir, por ejemplo, cualquier sustitución de aminoácido, eliminación o inserción conocida en la técnica. Además que contienen una modificación descrita anteriormente, cualquier polipéptido MMP modificado proporcionado en la presente puede contener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más modificaciones adicionales, de manera que los polipéptidos MMP resultantes exhiben actividad incrementada en la temperatura permisible (por ejemplo 25°C) comparado con la temperatura no permisible (por ejemplo 34°C o 37°C) y mantienen la actividad de MMP tipo natural en la temperatura permisiva o no permisiva. Las modificaciones adicionales pueden conferir propiedades adicionales a la enzima, por ejemplo, estabilidad incrementada, vida media incrementada y/o resistencia incrementada a inhibidores, por ejemplo, TIMP. Las modificaciones adicionales incluyen modificaciones a la secuencia primaria del polipéptido, así como otra modificación tal como PEGilación y glicosilación del polipéptido. Generalmente, tales polipéptidos incluyen una o más modificaciones proporcionadas en la presente y exhiben actividad incrementada en la temperatura más baja que una temperatura más alta. Las modificaciones ejemplares que se pueden incluir en un polipéptido proporcionado en la presente incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de las

modificaciones establecidas en la Tabla 3B, abajo.

Tabla 3B. Modificaciones ejemplares en los MMP

MMP	SEQ ID NO	Modificaciones de Aminoácidos
MMP-8	101	S3C; T32I; K87E; E154G; D193V; S229T; N246Y; A436V; K460T
MMP-13	104	H2L; A8V; F75S; D89H; D390G; I427T
MMP-2	110	A27S; R101H; D210Y; A228T; F239L; E404K; A447V; T498M; V620I; V621L; S644I
MMP-9	113	A20V; N38S; E82K; N127K; L187F; R239H; T258I; Q279R; F571V; P574R; R668Q
MMP-3	116	K45E; H113P; R248W
MMP-10	119	L4V; V8G; R53K; G65R; E142Q; F226L; G282E; L440F; H475L
MMP-11	122	V38A; E44K; P61L; S86P; D166N; F182S; Q323H
MMP-7	125	C7W; R77R; S115T; G137D; P241L
MMP-26	128	K43E; S46L; I260M
MMP-12	131	N357S; F468L; G469R
MMP-19	146	R103C; P245S; P488T; T491M

2. Combinaciones de Enzimas que Degradan matriz y Activador

Las combinaciones de una enzima activable que degrada la matriz y activador, suficiente para la activación de la enzima que degrada la matriz, se proporcionan en la presente. Para los propósitos en la presente, la enzima activable que degrada la matriz se proporciona en una forma inactiva. Generalmente, las composiciones de la enzima activable que degrada la matriz puede proporcionarse separada del activador. Las composiciones pueden proporcionarse de forma separada en el mismo recipiente o en recipientes separados. Generalmente, Cuando se envasa por si misma, la enzima se proporciona de manera que hay condiciones activantes

insuficientes presentes para hacer la enzima activa.

La enzima que degrada la matriz se puede proporcionar como un líquido o en forma liofilizada en una concentración terapéuticamente efectiva. Alternativamente, la enzima que degrada la matriz se puede proporcionar como un líquido concentrado, tal que la adición de una cantidad suficiente de resultados del activador en una concentración terapéuticamente efectiva de enzima. Las enzimas se pueden proporcionar como una solución o suspensión o encapsulada en un vehículo de liberación adecuado, tal como un liposoma, partícula de vidrio, tubo capilar, vehículo de liberación de fármaco, gelatina, comprimido, cápsula, píldora, capa de tiempo de liberación, así como preparación de parche transdérmico y inhaladores de polvo seco o cualquier otro vehículo. El activador típicamente se proporciona como una solución de líquido o suspensión para administración en el intersticio ya sea solo o después de la reconstitución de y/o exposición a la enzima que degrada la matriz. Como se describe en la Sección F abajo, los kits que contienen estas combinaciones y también artículos de fabricación, tales como recipientes, también se proporcionan.

De esta manera, cuando se desee, la enzima activable que degrada la matriz se somete a condiciones de activación en las cuales la enzima se expone a un activador para generar

una enzima activa. La exposición a un activador se puede lograr in vitro o in vivo. Por ejemplo, donde una enzima activable y activador se proporcionan por separado, se pueden administrar juntos o de forma separada. Donde se administran de forma separada, la enzima que degrada la matriz condicionalmente activable se pueden administrar simultáneamente, posteriormente o intermitentemente del activador. En otro ejemplo, la enzima que degrada la matriz, en una forma líquida concentrada o liofilizada, se puede reconstituir con el activador justo antes de usar. En tal ejemplo, la mezcla de la enzima que degrada la matriz y el activador se administran juntos. Tales métodos de activación se pueden determinar empíricamente por alguien de experiencia en la técnica, y puede diferir dependiendo de la elección de la enzima y el activador, y el método de tratamiento y régimen de tratamiento deseados.

La enzima activable que degrada la matriz se puede proporcionar en un artículo o fabricado solo o en combinación con el activador. Por ejemplo, si la enzima se proporciona en combinación con el activador, un artículo de fabricación puede contener una enzima, ya sea liofilizada o en forma líquida, en un compartimiento, y un activador en un compartimiento adyacente. Los compartimientos se pueden separar por un miembro de división. Tales artículos de

fabricación se describen en otra parte en la presente.

Las combinaciones de enzima que degrada la matriz y activador también pueden además contener otros agentes, discutidos en detalle a continuación. Por ejemplo, además del activador y la enzima que degrada la matriz, las combinaciones se proporcionan conteniendo uno o más de un anestésico, vasoconstrictor o agente dispersante.

E. Métodos para Producir Ácidos Nucleicos Que Codifican Enzimas que Degradan matriz y Polipéptidos Del mismo

Los polipéptidos de enzimas que degradan matriz establecidos en la presente, se pueden obtener por métodos bien conocidos en la técnica por purificación de proteína y expresión de proteína recombinante. Cualquier método conocido por aquellos de experiencia en la técnica para identificación de ácidos nucleicos que codifican genes deseados se puede usar. Cualquier método disponible en la técnica se puede usar para obtener un clon de ADN genómico o cADN de longitud completa (esto es, que abarca la región de codificación completa) que codifica una enzima que degrada la matriz deseada, tal como de una célula o fuente de tejido. Las enzimas que degradan matriz modificada o variante, se puede fabricar por ingeniería de un polipéptido tipo natural, tal como por mutagénesis dirigida al sitio.

Los polipéptidos se pueden clonar o aislar usando

cualquiera de los métodos disponibles conocidos en la técnica para clonar y aislar moléculas de ácido nucleico. Tales métodos incluyen amplificación PCR de ácidos nucleicos y separación por exclusión de colecciones, que incluyen separación por exclusión de hibridización de ácido nucleico, separación por exclusión basada en anticuerpo y separación por exclusión basada en actividad.

Los métodos para amplificación de ácidos nucleicos se pueden usar para aislar moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido deseado, incluyendo por ejemplo, métodos de reacción de cadena de polimerasa (PCR). Un ácido nucleico que contiene material se puede usar como un material de partida del cual se puede aislar una molécula de ácido nucleico que codifica polipéptido deseado. Por ejemplo, Preparaciones de ADN y mARN, extractos de célula, extractos de tejido, muestras de fluido (por ejemplo, sangre, suero, saliva), las muestras de sujetos saludables y/o enfermos se pueden usar en métodos de amplificación. Las colecciones de ácido nucleico también se pueden usar como una fuente de material de partida. Los cebadores se pueden diseñar para amplificar un polipéptido deseado. Por ejemplo, los cebadores se pueden diseñar basados en secuencias expresadas de las cuales un polipéptido deseado se genera. Los cebadores se pueden diseñar basados en retro-traducción de una secuencia

de aminoácido de polipéptido. Las moléculas de ácido nucleico generadas por amplificación se pueden procesar por secuencia y confirmar para codificar un polipéptido deseado.

Las secuencias de nucleótido adicionales se pueden unir a una molécula de ácido nucleico que codifica polipéptido, incluyendo secuencias de ligadura que contienen sitios de endonucleasa de restricción para el propósito de clonar el gen sintético en un vector, por ejemplo, un vector de expresión de proteína o un vector diseñado para la amplificación de las secuencias de ADN que codifican la proteína núcleo. Además, las secuencias de nucleótido adicionales que especifican elementos ADN funcionales se pueden ligar operativamente a una molécula de ácido nucleico que codifica polipéptido. Los ejemplos de tales secuencias incluyen, pero no se limitan a, secuencias de promotor diseñadas para facilitar la expresión de proteína intracelular, y las secuencias de secreción, por ejemplo secuencias de señal heteróloga, diseñadas para facilitar la secreción de proteína. Tales secuencias se conocen por aquellos de experiencia en la técnica. Por ejemplo, las secuencias de señal heteróloga ejemplares incluyen, pero no se limitan a, secuencia de señal heteróloga IgG kappa humana establecida en la SEQ ID NO:2. Las secuencias de residuos de nucleótido adicionales tales como secuencias de bases que

especifican regiones que enlazan proteína también se pueden ligar a moléculas de ácido nucleico que codifican enzima. Tales regiones incluyen, pero no se limitan a, secuencias de residuos que facilitan o codifican proteínas que facilitan la absorción de una enzima en células objetivo específicas, o de otra manera alteran farmacocinéticos de un producto de un gen sintético. Por ejemplo, las enzimas se pueden ligar a porciones PEG.

Además, las etiquetas u otras porciones se pueden agregar, por ejemplo, para ayudar en la detección o purificación de afinidad del polipéptido. Por ejemplo, las secuencias de residuos de nucleótido adicionales tales como secuencias de bases que especifican una etiqueta epítopo u otro marcador detectable también se pueden ligar a moléculas de ácido nucleico que codifican enzima. Ejemplar de tales secuencias incluyen secuencias de ácido nucleico que codifican una etiqueta His (por ejemplo, 6xHis, HHHHHH; SEQ ID NO:235) o Etiqueta Flag (DYKDDDDK; SEQ ID NO:236).

Los ácidos nucleicos identificados y aislados se pueden luego insertar en un vector de clonación adecuado. Un gran número de sistemas hospederos de vector conocidos en la técnica se puede usar. Posibles vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos o virus modificados, pero el sistema de vector debe ser compatible con la célula hospedera usada.

Tales vectores incluyen, pero no se limitan a, bacteriófagos tales como derivados de lambda, o plásmidos tales como derivados de plásmido pCMV4, pBR322 o pUC o el vector Bluescript (Stratagene, La Jolla, CA). Otros vectores de expresión incluyen el vector de expresión HZ24 ejemplificado en la presente. La inserción en un vector de clonación puede, por ejemplo, realizarse al ligar el fragmento de ADN en un vector de clonación que tiene terminales cohesivas complementarias. La inserción se puede efectuar usando vectores de clonación TOPO (Invitrogen, Carlsbad, CA). Si los sitios de restricción complementarios usados para fragmentar el ADN no se presentan en el vector de clonación, los extremos de las moléculas ADN se pueden modificar enzimáticamente. Alternativamente, cualquier sitio deseado se puede producir al ligar secuencias de nucleótido (ligaduras) en las terminales de ADN; estas ligaduras ligadas pueden contener oligonucleótidos químicamente sintetizados específicos que codifican secuencias de reconocimiento de endonucleasa de restricción. En un método alternativo, el vector desdoblado y el gen de proteína se puede modificar por cola homopolimérica. Las moléculas recombinantes se pueden introducir en células hospederas por medio, por ejemplo, de transformación, transfección, infección, electroporación y sonoporación, de modo que muchas copias de la secuencia de

gen se generan.

En modalidades específicas, la transformación de células hospederas con moléculas de ADN recombinante que incorporan el gen de proteína aislado, cADN, o secuencia de ADN sintetizado permiten la generación de copias múltiples del gen. De esta manera, el gen puede obtenerse en grandes cantidades por transformantes de crecimiento, que aísla las moléculas de ADN recombinante de los transformantes y, cuando sea necesario, recuperar el gen insertado del ADN recombinante aislado.

1. Vectores y células

Para expresión recombinante de una o más de las proteínas deseadas, tales como cualquiera descrita en la presente, el ácido nucleico que contiene todo o una porción de la secuencia de nucleótido que codifica la proteína se puede insertar en un vector de expresión adecuado, esto es, un vector que contiene los elementos necesarios para la transcripción y traducción de la proteína insertada que codifica la secuencia. Las señales de transcripción y de traducción necesarias también se pueden suministrar por el promotor nativo para genes de enzima, y/o sus regiones que flanquean.

También se proporcionan vectores que contienen un ácido nucleico que codifica la enzima. Las células que contienen

los vectores también se proporcionan. Las células incluyen células eucarióticas y procarióticas, y los vectores son los adecuados para usar en la presente.

Se proporcionan las células eucarióticas y procarióticas, que incluyen células endoteliales, que contienen los vectores. Tales células incluyen células bacterianas, células de levadura, células de hongos, Archea, células de plantas, células de insecto y células de animal. Las células se usan para producir una proteína de los mismos al crecer las células descritas anteriormente bajo condiciones por las cuales la proteína codificada se expresa por la célula, y recupera la proteína expresada. Para propósitos en la presente, por ejemplo, la enzima se puede secretar en el medio.

Se proporcionan vectores que contienen una secuencia de nucleótidos que codifican el polipéptido de proenzima acoplado a la secuencia de señal nativa o heteróloga, así como múltiples copias de los mismos. Los vectores se pueden seleccionar para expresión de la proteína de enzima en la célula o de tal manera la proteína de enzima se expresa como una proteína secretada. La forma de proenzima (esto es,. zimógeno) de la enzima se puede purificar para usar como una enzima activable en la presente. Alternativamente, sobre la secreción el prosegmento se puede desdoblar catalíticamente o

autocatalíticamente para generar una enzima madura. Si es necesario, la enzima se puede purificar de tal manera que el prosegmento se remueve de la preparación. Tales formas maduras, si están inactivas, también se pueden usar en la presente como enzima activable ya sea en una cadena sencilla o forma de dos cadenas.

Una variedad de sistemas de vector hospedero se puede usar para expresar la proteína que codifica la secuencia. Estos incluyen pero no se limitan a sistemas de célula de mamífero infectada con virus (por ejemplo, virus de la vacuna, adenovirus y otros virus); sistemas de célula de insecto infectada con virus (por ejemplo, baculovirus); microorganismos tales como levadura que contiene vectores de levadura; o bacterias transformadas con bateriófago, ADN, ADN de plásmido, o ADN cósmido. Los elementos de expresión de vectores varían en sus fortalezas y especificidades. Dependiendo del sistema de vector hospedero usado, cualquiera de un número de elementos de transcripción y traducción adecuados se puede usar.

Cualquiera de los métodos conocidos por aquellos de experiencia en la técnica para la inserción de fragmentos de ADN en un vector se pueden usar para construir vectores de expresión que contienen un gen quimérico que contiene señales de control de transcripción/traducción adecuadas y secuencias

que codifican proteína. Estos métodos pueden incluir ADN recombinante in vitro y técnicas sintéticas y recombinantes in vivo (recombinación genética). La expresión de secuencias de ácido nucleico que codifican proteína, o dominios, derivados, fragmentos u homólogos de los mismos, se puede regular por una segunda secuencia de ácido nucleico de manera que los genes o fragmentos de los mismos se expresan en un hospedero transformado con las moléculas de ADN recombinante. Por ejemplo, la expresión de las proteínas se pueden controlar por cualquier promotor/aumentador conocido en la técnica. En una modalidad específica, el promotor no es nativo a los genes para una proteína deseada. Los promotores que se pueden usar incluyen pero no se limitan a el promotor temprano SV40 (Bernoist and Chambon, Nature 290:304-310 (1981)), el promotor contenido en la repetición de terminal larga 3' de virus de sarcoma Rous (Yamamoto et al. Cell 22:787-797 (1980)), el promotor de herpes timidina cinasa (Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1441 -1445 (1981)), las secuencias reguladoras del gen de metalotioneina (Brinster et al., Nature 296:39-42 (1982)); vectores de expresión procarióticos tales como el promotor β-lactamasa (Jay et al, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:5543) o el promotor tac (DeBoer et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:21-25 (1983)); ver también "Useful Proteins from

Recombinant Bacteria": in Scientific American 242:79-94 (1980)); vectores de expresión de planta que contienen el promotor de sintetasa de nopalina (Herrar-Estrella et al., Nature 303: 209-213 (1984)) o el promotor de ARN de virus 35S de mosaico de coliflor (Gardner et al., Nucleic Acids Res. 9:2871 (1981)), y el promotor de la carboxilasa de bisfosfato de ribulosa de enzima fotosintética (Herrera-Estrella et al., Nature 370:115-120 (1984)); elementos promotores de levadura y otros hongos tales como el promotor Gal4, el promotor de deshidrogenasa de alcohol, el promotor de cinasa de fosfoglicerol, el promotor de fosfatasa alcalina, y las siguientes regiones de control transcripcional de animal que exhiben especificidad de tejido y se han usado en animales transgénicos: la región de control de gen de elastasa I que es activa en células acinares pancreáticas (Swift et al., Cell 35:639-646 (1984); Ornitz et al, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409 (1986); MacDonald, Hepatology 7:425-515 (1987)); las región de control de gen de insulina que es activa en células beta pancreáticas (Hanahan et al, Nature 375:115-122 (1985)), la región de control de gen de inmunoglobulina que es activa en células linfoides (Grosschedl et al, Cell 35:647-658 (1984); Adams et al, Nature 375:533-538 (1985); Alexander et al, Mol. Cell Biol. 7:1436-1444 (1987)), la región de control de virus de tumor

mamario de ratón que es activa en células madre linfoide, de testículos, de mama (Leder et al, Cell 45:485-495 (1986)), la región de control de gen de albúmina que es activa en el hígado (Pinckert et al, Genes and Devel 7:268-276 (1987)), la región de control de gen de alfa-fetoproteína que es activa en el hígado (Krumlauf et al, Mol Cell. Biol 5:1639-1648 (1985); Hammer et al, Science 235:53-58 1987)), la región de control de gen de alfa-1 antitripsina que es activa en el hígado (Kelsey et al, Genes and Devel 7: 161-171 (1987)), región de control de gen de beta globina que es activa en células mieloides (Magram et al, Nature 375:338-340 (1985); Kollias et al, Cell 46:89-94 (1986)), la región de control de gen de proteína de mielina básica que es activa en las células de oligodendrocito del cerebro (Readhead et al, Cell 48:703-712 (1987)), la región de control de gen de 2 cadenas ligeras de miosina que es activa en músculo esqueletal (Shani, Nature 374:283-286 (1985)), y la región de control de gen de hormona de liberación gonadotrófica que es activa en ganodotrofas del hipotálamo (Mason et al, Science 234:1372-1378 (1986)).

En una modalidad específica, un vector se usa que contiene un promotor operativamente ligado a ácidos nucleicos que codifican una proteína deseada, o un dominio, fragmento, derivado u homólogo, de los mismos, uno o más orígenes de

replicación, y opcionalmente, uno o más marcadores seleccionables (por ejemplo, un gen de resistencia al antibiótico). Los vectores de plásmido ejemplares para la transformación de células *E. coli*, incluyen, por ejemplo, los vectores de expresión pQE (disponibles de Qiagen, Valencia, CA; ver también literatura publicada por Qiagen que describe el sistema). Los vectores pQE tienen un promotor T5 de fago (reconocido por polimerasa de ARN *E. coli*) y un módulo de represión de operador lac doble para proporcionar extremadamente regulada, expresión de alto nivel de proteínas recombinantes en *E. coli*, un sitio de enlace ribosomal sintético (RBS II) para traducción eficiente, una secuencia que codifica etiqueta 6XHis, terminadores transcripcionales t_0 y T1, origen ColE1 de replicación, y un gen de beta lactamasa para conferir resistencia a la ampicilina. Los vectores pQE permiten la colocación de una etiqueta 6xHis en ya sea la terminal N o C de la proteína recombinante. Tales plásmidos incluyen pQE 32, pQE 30, y pQE 31 que proporcionan múltiples sitios de clonación para todos los tres marcos de lectura y proporcionan la expresión de proteínas etiquetadas 6xHis de terminal N. Otros vectores de plásmido ejemplares para la transformación de células *E. coli*, incluyen, por ejemplo, los vectores de expresión pET (ver, Patente de E.U.A. 4,952,496; disponible de Novagen, Madison, WI; ver,

también literatura publicada por Novagen que describe el sistema). Tales plásmidos incluyen pET 11a, que contienen el promotor T71ac, terminador T7, el operador lac *E. coli* inducible, y el gen represor lac; pET 12a-c, que contiene el promotor T7, terminador T7, y la señal de secreción ompT de *E. coli*; y pET 15b y pET19b (NOVAGEN, Madison, WI), que contiene una secuencia líder His-Tag™ para usar en la purificación con una columna His y un sitio de desdoblamiento de trombina que permite el desdoblamiento después de la purificación sobre la columna, la región de promotor T7-lac y el terminador T7.

Ejemplar de un vector para expresión celular de mamífero es el vector de expresión HZ24. El vector de expresión HZ24 se derivó de la estructura de vector pCI (Promega). Esto contiene ADN que codifica el gen de resistencia a beta lactama (AmpR), un origen F1 de replicación, una región de aumentador/promotor temprano inmediato de Citomegalovirus (CMV), y una señal de poliadenilación tardía SV40 (SV40). El vector de expresión también tiene un sitio de entrada de ribosoma interno (IRES) del virus ECMV (Clontech) y el gen de reductasa de dihidrofolato de ratón (DHFR).

2. Expresión

Las enzimas que degradan matriz se pueden producir por cualquier método conocido por aquellos de experiencia en la

técnica incluyendo métodos in vivo e in vitro. Las proteínas deseadas se pueden expresar en cualquier organismo adecuado para producir las cantidades requeridas y formas de las proteínas, tales como por ejemplo, necesarios para la administración y tratamiento. Los hospederos de expresión incluyen organismos procarióticos y eucarióticos tales como *E. coli*, levadura, plantas, células de insecto, células de mamífero, incluyendo líneas de célula humana y animales transgénicos. Los hospederos de expresión pueden diferir en sus niveles de producción de proteína así como los tipos de modificaciones post-traduccionales que se presentan en las proteínas expresadas. La elección de hospedero de expresión se puede hacer con base en estos y otros factores, tales como consideraciones reglamentarias y de seguridad, costos de producción y la necesidad y métodos para producción.

Muchos vectores de expresión están disponibles y son conocidos por aquellos de experiencia en la técnica y se pueden usar para expresión de proteínas. La elección de vector de expresión se verá influido por la elección de sistema de expresión hospedero. En general, los vectores de expresión pueden incluir promotores transcripcionales y opcionalmente aumentadores, señales de transcripción, y señales de terminación transcripcional y traduccional. Los vectores de expresión que se usan para transformación estable

típicamente tienen un marcador seleccionable que permite la selección y mantenimiento de las células transformadas. En algunos casos, un origen de replicación se puede usar para amplificar el número de copia del vector.

Las enzimas que degradan matriz también se pueden utilizar o expresar como fusiones de proteína. Por ejemplo, una fusión de enzima se puede generar para agregar funcionalidad adicional a una enzima. Los ejemplos de proteínas de fusión de enzima incluyen, pero no se limitan a, fusiones de una secuencia de señal, una etiqueta tal como para localización, por ejemplo, una etiqueta his6 o una etiqueta myc, o una etiqueta para purificación, por ejemplo, una fusión GST, y una secuencia para dirigir la secreción de proteína y/o asociación de membrana.

Generalmente, las enzimas que degradan matriz se expresan en una forma de zimógeno inactivo. La conversión de zimógeno se puede lograr por la exposición a otras proteasas o a autocatálisis para generar una enzima madura. Cualquier forma de una enzima se contempla en la presente, siempre y cuando se inactive en la ausencia de un activador.

a. Células Procarióticas

Las Procariotas, especialmente *E. coli*, proporciona un sistema para producir grandes cantidades de proteínas. La transformación de *E. coli* es de técnica simple y rápida bien

conocida por aquellos de experiencia en la técnica. Los vectores de expresión para *E. coli* pueden contener promotores inducibles, tales promotores son útiles para inducir altos niveles de expresión de proteína y para proteínas de expresión que inhiben alguna toxicidad a las células hospederas. Los ejemplos de promotores inducibles incluyen el promotor lac, el promotor trp, el promotor tac híbrido, los promotores de ARN T7 y SP6 y el promotor λPL regulado por temperatura.

Las proteínas, tales como cualquiera proporcionada en la presente, se pueden expresar en el medio ambiente citoplásmico de *E. coli*. El citoplasma es un ambiente de reducción y para algunas moléculas, esto puede resultar en la formación de cuerpos de inclusión insolubles. Los agentes de reducción tales como ditiotreitol y β-mercaptoetanol y desnaturalizantes, tales como guanidina-HCl y urea se pueden usar para re-solubilizar las proteínas. Un enfoque alternativo es la expresión de proteínas en el espacio periplásmico de bacterias que proporciona un medio ambiente de oxidación y tipo chaperonina e isomerasas de disulfuro y pueden llevar a la producción de proteína soluble. Típicamente, una secuencia líder se fusiona a la proteína a expresarse que dirige la proteína al periplasma. El líder luego se remueve por peptidasas de señal dentro del

periplasma. Los ejemplos de las secuencias líder dirigidas periplásmicas incluyen el líder pelB del gen de liasa pectato y el líder derivado del gen de fosfatasa alcalina. En algunos casos, la expresión periplásmica permite la salida de la proteína expresada en el medio de cultivo. La secreción de proteínas permite la purificación rápida y sencilla del sobrenadante de cultivo. Las proteínas que no se secretan se pueden obtener del periplasma por lisis osmótica. Similar a la expresión citoplásmica, en algunos casos las proteínas se pueden volver insolubles y desnaturalizantes y los agentes de reducción se pueden usar para facilitar la solubilización y replegamiento. La temperatura de inducción y crecimiento también pueden influenciar los niveles de expresión y solubilidad, típicamente las temperaturas entre 25°C y 37°C se usan. Típicamente, la bacteria produce proteínas aglicosiladas. De esta manera, si las proteínas requieren glicosilación para funcionar, la glicosilación se puede agregar in vitro después de la purificación de células hospederas.

b. Células de Levadura

Las levaduras tales como *Saccharomyces cerevisae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis* y *Pichia pastoris* son hospederos de expresión de levadura bien conocidos que se pueden usar para la producción

de proteínas, tales como cualquiera de las descritas en la presente. La levadura se puede transformar con vectores de replicación episomal o por integración cromosomal estable por recombinación homóloga. Típicamente, los promotores inducibles se usan para regular la expresión de gen. Los ejemplos de tales promotores incluyen GAL1, GAL7 y GAL5 y promotores de metalotioneina, tales como CUP1, AOX1 u otro *Pichia* u otro promotor de levadura. Los vectores de expresión frecuentemente incluyen un marcador seleccionable tal como LEU2, TRP1, HIS3 y URA3 para selección y mantenimiento del ADN transformado. Las proteínas expresadas en levadura son frecuentemente solubles. La co-expresión con chaperoninas tal como Bip e isomerasa de disulfuro de proteína puede mejorar los niveles de expresión y la solubilidad. Adicionalmente, las proteínas expresadas en levadura se pueden dirigir para secreción usando fusiones de péptido de señal de secreción tales como la levadura que aparea la señal de secreción de factor tipo alfa de *Saccharomyces cerevisae* y las fusiones con proteínas de superficie de célula de levadura tales como el receptor de adhesión de apareamiento Aga2p o la glucoamilasa *Arxula adeninivorans*. Un sitio de desdoblamiento de proteasa tal como para la proteasa Kex-2, se puede fabricar por ingeniería para remover las secuencias fusionadas de los polipéptidos expresados a medida que sale

la trayectoria de secreción. La levadura también es capaz de la glicosilación en las porciones Asn-X-Ser/Thr.

c. Células de Insecto

Las células de insecto, particularmente usando expresión de baculovirus, son útiles para polipéptidos de expresión tales como enzimas que degradan matriz. Las células de insecto expresan altos niveles de proteína y son capaces de la mayoría de las modificaciones post-traduccionales usadas por eucariotas superiores. El baculovirus tiene una gama de hospederos restrictivos que mejoran la seguridad y reducen las preocupaciones reguladoras de la expresión eucariótica. Los vectores de expresión típicos usan un promotor para la expresión de alto nivel tal como el promotor de polihedrina de baculovirus. Los sistemas de baculovirus comúnmente usados incluyen los baculovirus tales como virus de polihedrosis nuclear *Autographa californica* (AcNPV), y el virus de polihedrosis nuclear *Bombyx mori* (BmNPV) y una línea de célula de insecto tal como Sf9 derivada de *Spodoptera frugiperda*, *Pseudaletia unipuncta* (A7S) y *Danaus plexippus* (DpN1). Para la expresión de alto nivel, la secuencia de nucleótido de la molécula a expresarse se fusiona inmediatamente cadena debajo del codón de iniciación de polihedrina del virus. Las señales de secreción de mamífero se procesan exactamente en las células de insecto y se pueden

usar para secretar la proteína expresada en el medio de cultivo. Además, las líneas de célula *Pseudaletia unipuncta* (A7S) y *Danaus plexippus* (DpN1) producen proteínas con patrones de glicosilación similares a los sistemas de célula de mamífero.

Un sistema de expresión alternativo en células de insecto es el uso de células transformadas establemente. Las líneas de célula tales como las células Schneider 2 (S2) y Kc (*Drosophila melanogaster*) y las células C7 (*Aedes albopictus*) se pueden usar para expresión. El promotor de metalotioneina *Drosophila* se puede usar para inducir altos niveles de expresión en la presencia de inducción de metal pesado con cadmio o cobre. Los vectores de expresión se mantienen típicamente por el uso de marcadores seleccionables tales como neomicina e higromicina.

d. Células de Mamífero

Los sistemas de expresión de mamíferos se pueden usar para expresar proteínas que incluyen enzimas que degradan matriz. Los constructos de expresión se pueden transferir a las células de mamífero por infección viral tal como adenovirus o por transferencia directa de ADN tal como liposomas, fosfato de calcio, dextrano DEAE y por medios físicos tales como electroporación y microinyección. Los vectores de expresión para células de mamífero típicamente

incluyen un sitio de tapón de mARN, una caja de TATA, una secuencia de iniciación traduccional (secuencia de consenso Kozak) y elementos de poliadenilación. Los elementos IRES también se pueden agregar para permitir expresión bicistrónica con otro gen, tal como un marcador seleccionable. Tales vectores frecuentemente incluyen aumentadores de promotor traduccional para expresión de alto nivel, por ejemplo el aumentador de promotor SV40, el promotor de citomegalovirus humano (CMV) y la repetición terminal larga de virus de sarcoma Rous (RSV). Estos aumentadores de promotor son activos en muchos tipos de célula. Los promotores de tejido y tipo celular y regiones de aumentador también se pueden usar para la expresión. Las regiones de promotor/aumentador ejemplares incluyen, pero no se limitan a, aquellas de genes tales como elastasa I, insulina, inmunoglobulina, virus de tumor de mama de ratón, albumina, fetoproteína alfa, antitripsina alfa 1, globina beta, proteína básica de mielina, cadena 2 ligera de miosina, y control de gen de hormona de liberación gonadotrópica. Los marcadores seleccionables se pueden usar para seleccionar por y mantener células con el constructo de expresión. Los ejemplos de genes de marcador seleccionable incluyen, pero no se limitan a, fosfotransferasa de higromicina B, deaminasa de adenosina, transferasa de fosforibosilo de xantina-guanina,

fosfotransferasa de aminoglicósido, reductasa de dihidrofolato (DHFR) y cinasa de timidina. Por ejemplo, la expresión se puede realizar en la presencia de metotrexato para seleccionar solamente aquellas células que expresan el gen DHFR. La fusión con moléculas de señalización de superficie celular tales como TCR-ζ y $Fc_{\epsilon}RI$-γ pueden dirigir la expresión de las proteínas en un estado activo en la superficie de célula.

Muchas líneas celulares están disponibles para expresión de mamífero que incluyen células de ratón, rata, humano, mono, pollo y hámster. Las líneas celulares ejemplares incluyen pero no se limitan a CHO, Balb/3T3, HeLa, MT2, NSO de ratón (son secreción) y otras líneas de célula de mieloma, hibridoma y líneas de célula de heterohibridoma, linfocitos, fibroblastos, Sp2/0, COS, NIH3T3, HEK293, 293S, 2B8, y células HKB. Las líneas celulares también están disponibles adaptadas a medio libre de suero que facilita la purificación de proteína secretadas del medio de cultivo celular. Los ejemplos incluyen células CHO-S (Invitrogen, Carlsbad, CA, cat # 11619-012) y la línea celular EBNA-I libre de suero (Pham et al, (2003) Biotechnol. Bioeng. 84:332-42.). Las líneas celulares también están disponibles para adaptarse a crecer en medios especiales optimizados para expresión máxima. Por ejemplo, las células DG44 CHO se adaptan para

crecer en cultivo de suspensión en un medio libre de producto animal, químicamente definido.

e. Plantas

Las células de plantas transgénicas y plantas se pueden usar para expresar proteínas tales como cualquiera de las descritas en la presente. Los constructos de expresión se transfieren típicamente a plantas usando transferencia de ADN directa tal como bombardeo de micropartículas y transferencia mediada por PEG en los protoplastos, y con transformación mediada por agrobacteria. Los vectores de expresión pueden incluir promotor y secuencias de aumentador, elementos de terminación transcripcional y elementos de control traduccional. Los vectores de expresión y las técnicas de transformación se dividen usualmente entre hospederos de dicotiledónea, tales como *Arabidopsis* y tabaco, y hospederos de monocotiledónea, tales como maíz y arroz. Los ejemplos de promotores de planta usados para expresión incluyen el promotor de virus de mosaico de coliflor, el promotor de sintetasa de nopalina, el promotor de carboxilasa de bifosfato de ribosa y la ubiquitina y promotores UBQ3. Los marcadores seleccionables tales como higromicina, isomerasa de fosfomanosa y fosfotransferasa de neomicina se usan frecuentemente para facilitar la selección y mantenimiento de células transformadas. Las células de plantas transformadas

se pueden mantener en cultivo como células, agregadas (tejido de callo) o regeneradas en todas las plantas. Las células de plantas transgénicas también pueden incluir algas producidas por ingeniería para producir enzimas que degradan matriz. Debido a que las plantas tienen diferentes patrones de glicosilación que las células de mamífero, esto puede influenciar la elección de proteína producida en estos hospederos.

3. Técnicas de Purificación

El método para purificación de polipéptidos, que incluyen enzimas que degradan matriz u otras proteínas, de las células hospederas dependerá de la elección de células hospederas y los sistemas de expresión. Para moléculas secretadas, las proteínas se purifican generalmente del medio de cultivo después de remover las células. Para expresión intracelular, las células se pueden lisar y las proteínas purificar del extracto. Cuando los organismos transgénicos tales como plantas transgénicas y animales se usan para la expresión, los tejidos u órganos se pueden usar como material de partida para hacer un extracto celular lisado. Adicionalmente, la producción animal transgénica puede incluir la producción de polipéptidos en leche o huevos, que se puede colectar, y si es necesario, las proteínas se pueden extraer y además purificar usando métodos estándar en la

técnica.

Generalmente, las enzimas que degradan matriz se expresan y purifican para estar en una forma inactiva (forma de zimógeno) para activación posterior como se describe en los sistemas y métodos proporcionados en la presente. En algunas aplicaciones, las enzimas que degradan matriz son inactivas en su forma madura en la ausencia de un activador como se describe en la presente. Por lo tanto, después de la expresión, las formas maduras se pueden generar por autocatálisis para remover el prosegmento. Para muchas enzimas, el autocatálisis requiere la presencia del activador. Si es necesario, las etapas de purificación adicional se pueden realizar para remover el prosegmento de la preparación purificada. En algunas circunstancias, tales como para usar como controles, las enzimas expresadas que degradan matriz se pueden purificar en una forma activa, por autocatálisis para remover el prosegmento o por adición de un activador. En tales ejemplos, la autoactivación puede ocurrir durante el proceso de purificación, o por incubación a temperatura ambiente durante 24-72 horas. La velocidad y grado de activación depende de la concentración de proteína y la enzima específica, de tal manera que por ejemplo, una muestra más diluida puede necesitar que se incube a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo más largo.

La activación se puede vigilar por SDS-PAGE (por ejemplo, un cambio de 3 kilodalton) y por actividad de enzima (desdoblamiento de un substrato fluorogénico). Donde una enzima activa se desea, típicamente, una enzima se permite que alcance >75% de activación antes de la purificación.

Las proteínas, tales como enzimas que degradan matriz, se pueden purificar usando técnicas de purificación de proteína estándar conocidas en la técnica que incluyen pero no se limitan a, SDS-PAGE, cromatografía de tamaño de fracción y tamaño de exclusión, precipitación de sulfato de amonio y cromatografía de intercambio iónico, tal como intercambio de anión. Las técnicas de purificación de afinidad también se pueden utilizar para mejorar la eficacia y pureza de las preparaciones. Por ejemplo, anticuerpos, receptores y otras moléculas que enlazan enzimas que degradan matriz se pueden usar en la purificación de afinidad. Los constructos de expresión también se pueden fabricar por ingeniería para agregar una etiqueta de afinidad a una proteína tal como un epítopo myc, fusión GST o FHs6 y afinidad purificada con anticuerpo myc, la resina de glutationa y resina Ni, respectivamente. La pureza se puede evaluar por cualquier método conocido en la técnica que incluye electroforesis de gel y tinción y técnicas espectrofotométricas.

F. Preparación, Formulación y Administración de Enzimas activables que degradan matriz

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente contienen enzimas activables que degradan matriz proporcionadas en una forma inactiva. También se proporcionan composiciones que contienen un activador. Los compuestos se pueden formular en preparaciones farmacéuticas adecuadas tales como soluciones, suspensiones, geles, comprimidos, comprimidos dispersables, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida o elíxires, para administración oral, parental, así como preparación de parche transdérmico e inhaladores de polvo seco. Típicamente, los compuestos se formulan en composiciones farmacéuticas usando técnicas y procedimientos bien conocidos en la técnica (ver por ejemplo, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Fourth Edition, 1985, 126).

Una enzima que degrada la matriz seleccionada se incluye en una cantidad suficiente que, cuando se activa, ejerce un efecto terapéuticamente útil en la ausencia de efectos secundarios no deseados en el paciente tratado. La composición que contiene la enzima activable que degrada la matriz puede incluir un portador farmacéuticamente aceptable. La concentración terapéuticamente efectiva se puede determinar empíricamente al probar los compuestos en sistemas

conocidos in vitro e in vivo, tales como los ensayos proporcionados en la presente. La concentración de un enzima que degrada la matriz seleccionada en la composición depende de la absorción, inactivación y velocidades de excreción del complejo, las características fisicoquímicas del complejo, el horario de dosificación, y cantidad administrada así como otros factores conocidos por aquellos de experiencia en la técnica. Por ejemplo, se entiende que la dosificación precisa y duración de tratamiento es una función del tejido que se trata y se puede determinar empíricamente usando protocolos de las pruebas conocidas o por extrapolación de datos de prueba in vivo o in vitro. Cabe mencionar que las concentraciones y valores de dosificación también pueden variar con la edad del individuo tratado. Se debe entender además que para muchos sujetos en particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar con el tiempo de acuerdo con la necesidad del individuo y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las formulaciones, y que los rangos de concentración establecidos en la presente se ejemplifican solamente y no se pretende que limiten el alcance de los mismos. La cantidad de una enzima que degrada la matriz seleccionada a administrarse para el tratamiento de una enfermedad o afección, por ejemplo una enfermedad mediada por

ECM o afección tal como celulitis o linfoedema, se puede determinar por técnicas clínicas estándar. Además, los ensayos in vitro y modelos animales se pueden emplear para ayudar a identificar rangos de dosificación óptima. La dosificación precisa, que se puede determinar empíricamente, puede depender de la enzima en particular, la vía de administración, el tipo de enfermedad a tratarse y la gravedad de la enfermedad. Las dosificaciones ejemplares van desde o alrededor de 10 µg hasta 100 mg, particularmente 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg, o 2 mg hasta 4 mg. La dosificación en particular y formulación de los mismos depende de la indicación y del individuo. Si es necesaria la dosificación se puede determinar empíricamente. Típicamente la dosificación se administra para indicaciones descritas en la presente en un volumen de 1-100 ml, particularmente, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml volúmenes después de la reconstitución, tal como por adición de un activador. Típicamente, tales dosificaciones son desde o alrededor de 100 µg hasta 50 mg, generalmente 1 mg hasta 5 mg, en un volumen final 10-50 ml.

Un activador típicamente seleccionado se proporciona como una solución amortiguada en una cantidad que, cuando se expone a la enzima que degrada la matriz, activa la enzima

que degrada la matriz. Típicamente, la cantidad de activador en la solución amortiguadora es una que temporalmente altera las cantidades fisiológicas de tal activador presente en el intersticio a un nivel suficiente para activar temporalmente la enzima que degrada la matriz seleccionada activable. Por ejemplo, donde el pH ácido es la condición de activación, el activador en la forma de una composición de solución amortiguadora ácida contiene al menos un ácido, que cuando se administra a la ECM, juntos o separados de la enzima que degrada la matriz, temporalmente disminuye el pH de la ECM por debajo del pH fisiológico, esto es, por debajo de la neutralidad. Como se describe en otra parte en la presente, la solución amortiguadora ácida es una que tiene un pH efectivo en el rango dentro del pH óptimo de la enzima seleccionada. La neutralización de la solución amortiguadora ácida ocurrirá durante la administración debido al medio ambiente del pH neutral del intersticio, y es una función de la capacidad amortiguadora. Otras soluciones amortiguadas también se contemplan en la presente dependiendo de la enzima que degrada la matriz seleccionada activable y activador elegido. Por ejemplo, las soluciones amortiguadoras se pueden preparar en diversas temperaturas, o con diversas cantidades de sal, agente de reducción, o iones de metal. La solución de activador amortiguada que contiene la condición de activación

de bajo pH también puede contener un portador farmacéuticamente aceptable o excipiente.

Una enzima que degrada la matriz se puede administrar de una vez, o se puede dividir en un número de dosis más pequeñas a administrarse en intervalos de tiempo. Las enzimas que degradan matriz seleccionadas se pueden administrar en una o más doses durante el curso de un tiempo de tratamiento por ejemplo durante varias horas, días, semanas, o meses. En algunos casos, la administración continua es útil. Se entiende que la dosificación precisa y el curso de administración depende de los métodos y sistema de activación contemplado. Por ejemplo, la enzima que degrada la matriz se puede administrar junta o separada del activador. Típicamente, si se administran juntos, el activador se expone a la enzima que degrada la matriz justo antes de usar, por ejemplo, por reconstitución de un polvo liofilizado. En otras presentaciones, el activador puede ser un componente de la formulación de AMDE o se puede mezclar con una forma de dosificación basada en líquido de la AMDE. También, la AMDE se puede diluir con un diluyente apropiado antes de mezclar el activador. Si se administra de forma separada, la composición de enzima que degrada la matriz se puede administrar secuencialmente, simultáneamente o intermitentemente de la preparación del activador.

También, se entiende que la dosificación precisa y la duración de tratamiento es una función de la enfermedad que se trata y se puede determinar empíricamente usando protocolos de las pruebas conocidas o por extrapolación de datos de prueba in vivo o in vitro. Cabe mencionar que las concentraciones y valores de dosificación también pueden variar con la severidad de la condición para ser aliviado. Se debe entender además que para muchos sujetos en particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar con el tiempo de acuerdo con la necesidad del individuo y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los rangos de concentración establecidos en la presente se ejemplifican solamente y no se pretende que limiten el alcance o uso de las composiciones y combinaciones que las contiene. Las composiciones se pueden administrar cada hora, diariamente, semanalmente, mensualmente, anualmente o una vez. Generalmente, los regímenes de dosificación se eligen para limitar la toxicidad. Cabe señalar que el médico tratante sabría cómo y cuándo terminal, interrumpir o ajustar la terapia para bajar la dosificación debido a la toxicidad, o disfunciones de médula ósea, hígado o riñón u otro tejido. A la inversa, el médico tratante también sabría cómo y cuándo ajustar el tratamiento a niveles más altos si la respuesta

clínica no es adecuada (descartar efectos secundarios tóxicos).

Las composiciones farmacéuticamente aceptables se preparan en vista de aprobaciones para una agencia reguladora u otra agencia preparada de acuerdo con generalmente farmacopea reconocida para usar en animales y en humanos. Las composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsión, geles, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, y formulaciones de liberación sostenida. Una composición se puede formular como un supositorio, con aglutinantes tradicionales y portadores tales como triglicéridos. La formulación oral puede incluir portadores estándares tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, y otros de tales agentes. La formulación debe adaptarse al modo de administración.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluir portadores tales como un diluyente, adyuvante, excipiente, o vehículo con el cual una enzima o activador se administra. Los ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin. Tales composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto, generalmente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de portador

con el fin de proporcionar la forma para la administración adecuada al paciente. Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, que incluyen aquellos de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuate, aceite de soya, aceite mineral, y aceite de ajonjolí. El agua es un portador típico cuando la composición farmacéutica se administra intravenosamente. Las soluciones salinas y dextrosa acuosa y soluciones de glicerol también se pueden emplear como portadores líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Las composiciones pueden contener junto con un ingrediente activo: un diluyente tal como salina, lactosa, sacarosa, dextrosa, lactato de Ringers, difosfato de calcio, o carboximetilcelulosa; un lubricante, tal como estearato de magnesio, estearato de calcio y talco; y un aglutinante tal como almidón, gomas naturales, tales como gelatina de goma acacia, glucosa, melazas, polvinilpirrolidina, celulosas y derivados de los mismos, povidona, crospovidones y otros de tales aglutinantes conocidos por aquellos de experiencia en la técnica. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, manosa, trehalosa, manitol, sorbitol, gelatina, malta, arroz, flúor, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche descremada en polvo,

glicerol, propilen glicol, agua, y etanol. Una composición, si se desea, también puede contener menores cantidades de agentes humectantes o emulsificantes, o agentes amortiguadores de pH, por ejemplo, acetato, citrato de sodio, maleato, glicinato, histidina, succinato, lactato, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato de trietanolamina de sodio, oleato de trietanolamina, poli etilen glicol y otros de tales agentes. Otros excipientes en la formulación pueden incluir agentes de oxidación o de reducción tales como cisteina, glutationa oxidada o cisteina, glutationa reducida; tensoactivos tales como polisorbato 80, polisorbato 20, pluronic (F68), o conservadores. Como se observa, para propósitos en la presente, agentes de amortiguación ácidos se pueden proporcionar como activadores, que generalmente se proporcionan en combinaciones separadas de la enzima que degrada la matriz hasta que se usa.

Los agentes de reducción pueden aumentar la actividad de enzimas que degradan matriz, y por lo tanto se pueden proporcionar en formulaciones para la administración. Por ejemplo, un agente de reducción se requiere para probar la actividad de enzima usando un sustrato de péptido fluorogénico (ver por ejemplo, Ejemplo 25). También, un agente de reducción aumenta la actividad de catepsina L para sustratos tales como colágeno, HSA y una composición PH20

designada rHuPH20 (ver por ejemplo, Ejemplo 26). Los agentes de reducción ejemplares incluyen, pero no se limitan a, cisteina o TCEP (tris(2-carboxietil)fosfina). Generalmente, un agente de reducción no se incluye en una formulación líquida para almacenamiento de larga duración debido a que esto puede aumentar la auto degradación y hacer la formulación menos estable. Se contempla en la presente que un agente de reducción se agrega a una forma de dosificación líquida o se agrega para reconstituir una forma liofilizada de una enzima antes de usar, generalmente inmediatamente antes de usar. Por ejemplo, una enzima liofilizada, tal como catepsina L, se puede reconstituir con un diluyente que contiene un agente de reducción. Alternativamente, una enzima se puede formular como una enzima liofilizada que contiene un agente de reducción presente en la formulación, siempre y cuando la proteína resultante mantenga la estabilidad de uno a dos años. En tal formulación, la enzima liofilizada se reconstituye en un diluyente adecuado sin agente de reducción. La cantidad de agente de reducción se puede determinar empíricamente y es una función del agente de reducción en particular. Las cantidades ejemplares para administración de dosificación sencilla son desde alrededor de 1 mM hasta 30 mM, por ejemplo, 1 mM, 2 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM o 30 mM.

Las formulaciones se proporcionan para administración a humanos y animales en formas de dosificación unitaria, tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, soluciones parenterales estériles o suspensiones, y soluciones orales o suspensiones, y emulsiones de agua de aceite que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos farmacéuticamente terapéuticamente activos y derivados de los mismos se formulan típicamente y se administran en formas de dosificación unitaria o formas de dosificación múltiple. Cada dosificación de unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto terapéuticamente activo suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el portador farmacéutico requerido, vehículo o diluyente. Los ejemplos de formas de dosificación unitaria incluyen ampolletas, viales y jeringas y comprimidos individualmente envasados o cápsulas. Las formas de dosificación unitaria se pueden administrar en fracciones o múltiplos de los mismos. Una forma de dosificación múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitaria idénticas envasadas en un recipiente sencillo a administrarse en forma de dosificación unitaria segregada. Los ejemplos de formas de dosis múltiple incluyen viales, botellas de comprimidos o cápsulas o botellas de

pintas o galones. Por lo tanto, la forma de dosificación múltiple es un múltiplo de dosis unitarias que no se segregan en los envases. Generalmente, las formas de dosificación o composiciones que contienen ingrediente activo en el rango de 0.005% hasta 100% con el equilibrio hecho de portador no tóxico se pueden preparar.

Las composiciones se pueden formular para la administración por cualquier vía conocida por aquellos de experiencia en la técnica que incluyen administración intramuscular, intravenosa, intradermal, intralesional, intraperitoneal por inyección, subcutánea, sub-epidermal, epidural, nasal, oral, vaginal, rectal, tópica, local, ótica, por inhalación, bucal (por ejemplo, sublingual), y transdérmico o cualquier vía. La administración puede ser local, tópica o sistémica dependiendo del lugar de tratamiento. La administración local a un área que necesita de tratamiento se puede lograr por, por ejemplo, pero no se limita a, infusión local durante la cirugía, la aplicación tópica, por ejemplo, en conjunto con un apósito después de la cirugía, por inyección, por medio de un catéter, or medio de un supositorio, o por medio de un implante. Las composiciones también se pueden administrar con otros agentes biológicamente activos, ya sea secuencialmente, intermitentemente o en la misma composición. La

administración también puede incluir sistemas de liberación controlada que incluyen formulaciones de liberación controlada y dispositivos de liberación controlada, tal como por medio de una bomba.

La vía más adecuada en cualquier caso dado depende de una variedad de factores, tales como la naturaleza de la enfermedad, el progreso de la enfermedad, la severidad de la enfermedad la composición en particular que se usa. Para propósitos en la presente, se desea que las enzimas que degradan matriz y el activador se administra de modo que alcanzan el intersticio de la piel o tejidos. De esta manera, la administración directa bajo la piel, tal como por métodos de administración sub-epidermal, se contempla. Estos incluyen, por ejemplo, vías de administración subcutánea, intradermal e intramuscular. De esta manera, en un ejemplo, la administración local se puede lograr por inyección, tales como de una jeringa u otro artículo de fabricación que contiene un dispositivo de inyección tal como una aguja. Otros modos de administración también se contemplan. La composición farmacéutica se puede formular en formas de dosificación adecuada para cada vía de administración.

En un ejemplo, la preparación farmacéutica puede ser en forma líquida, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones. Si se proporciona en forma líquida, la

preparación farmacéutica de una enzima activable que degrada la matriz se puede proporcionar como una preparación concentrada para diluirse a una concentración terapéuticamente efectiva sobre la adición del activador. El activador se puede agregar a la preparación antes de la administración, o el activador se puede agregar simultáneamente, intermitentemente o secuencialmente con la enzima que degrada la preparación de matriz. Tales preparaciones líquidas se pueden preparar por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsificantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres aceitosos, o aceites vegetales fraccionados); y conservadores (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico).

En otro ejemplo, las preparaciones farmacéuticas se pueden presentar en forma liofilizada para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de usar. Por ejemplo, las preparaciones farmacéuticas de enzimas que degradan matriz se puede reconstituir con una solución que contiene un activador adecuado. La reconstitución de la preparación produce una mezcla que contiene una cantidad terapéuticamente

efectiva de enzima que degrada la matriz en un activador adecuado, que se pueden administrar juntos usando cualquier vía de administración deseada.

Los métodos de administración se pueden emplear para disminuir la exposición de enzimas que degradan matriz seleccionadas a procesos de degradación, tales como degradación proteolítica e intervención inmunológica por medio de respuestas antigénicas e inmunogénicas. Los ejemplos de tales métodos incluyen administración local en el sitio de tratamiento. La pegilación de terapéuticos se ha reportado para incrementar la resistencia a proteolisis, incrementar la vida media de plasma, y disminuir la antigenicidad e inmunogenicidad. Los ejemplos de metodologías de pegilación son conocidos en la técnica (ver por ejemplo, Lu and Felix, Int. J. Peptide Protein Res., 43: 127-138, 1994; Lu and Felix, Peptide Res., 6: 142-6, 1993; Felix et al., Int. J. Peptide Res., 46: 253-64, 1995; Benhar et al., J. Biol. Chem., 269: 13398-404, 1994; Brumeanu et al., J Immunol., 154: 3088-95, 1995; ver también, Caliceti et al. (2003) Adv. Drug Deliv. Rev. 55(10): 1261-77 and Molineux (2003) Pharmacotherapy 23 (8 Pt 2):3S-8S). La pegilación también se puede usar en el suministro de moléculas de ácido nucleico in vivo. Por ejemplo, la pegilación de adenovirus puede aumentar la estabilidad y transferencia de genes (ver, por ejemplo,

Cheng et al. (2003) Pharm. Res. 20(9): 1444-51).

1. Inyectables, soluciones y emulsiones

La administración parenteral, generalmente caracterizada por la inyección, ya sea subcutáneamente, intramuscularmente o intradermalmente se contempla en la presente. Los inyectables se pueden preparar en formas convencionales, ya sea como soluciones líquidas o suspensiones, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas a administrarse pueden también contener un activador en la forma de un solvente tal como agentes amortiguadores de pH, agentes de reducción u oxidación, sales de iónes de metal, u otras de tales soluciones amortiguadoras. Las composiciones farmacéuticas también pueden contener otras menores cantidades de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsificantes, agentes amortiguadores de pH, estabilizadores, aumentadores de solubilidad, y otros de tales agentes, tales como por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas. La implantación de un sistema de liberación lenta o liberación sostenida, de manera que un nivel constante de dosificación se mantiene (ver, por ejemplo,

Patente de E.U.A. No. 3,710,795) también se contempla en la presente. El porcentaje de compuesto activo contenido en tales composiciones parenterales es altamente dependiente de la naturaleza específica de los mismos, así como la actividad del compuesto y las necesidades del sujeto.

La administración parenteral de las composiciones generalmente incluye vías sub-epidérmicas de administración tales como administraciones intradermal, subcutánea e intramuscular. Si se desea, la administración intravenosa también se contempla. Los inyectables se diseñan para administración local y sistémica. Para propósitos en la presente, la administración local se desea para administración directa al intersticio afectado. Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones estériles listo para inyección, productos solubles secos estériles, tales como polvos liofilizados, listos para combinarse con un solvente justo antes de usar, que incluyen comprimidos hipodérmicos, suspensiones estériles lastas para inyección, productos insolubles secos estériles listos para combinarse con un vehículo justo antes de usar y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser ya sea acuosas o no acuosas. Si se administra intravenosamente, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica o solución salina amortiguada con fosfato (PBS), y soluciones que

contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilen glicol, y polipropilen glicol y mezclas de los mismos.

Los portadores farmacéuticamente aceptables usados en preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, soluciones amortiguadoras, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersantes, agentes emulsificantes, agentes de secuestro o quelantes, aminoácidos, péptidos y otras sustancias farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de vehículos acuosos incluyen Inyección de Cloruro de Sodio, Inyección Ringers, Inyección de Dextrosa Isotónica, Inyección de Agua Estéril, Inyección de Dextrosa y Ringers Lactado. Los vehículos parenterales no acuosos incluyen aceites fijos de origen vegetal, aceite de algodón, aceite de maíz, aceite de ajonjolí y aceite de cacahuate. Los agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas y fungistáticas se pueden agregar a preparaciones parenterales envasadas en recipientes de dosis múltiple, que incluyen fenoles o cresoles, mercuriales, alcohol de bencilo, clorobutanol, parabenos tales como ésteres de ácido de metil- y propil-p-hidroxibenzoico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de benzetonio. Los agentes isotónicos incluyen cloruro de sodio y dextrosa.

Las soluciones amortiguadoras incluyen fosfato y citrato. Los antioxidantes incluyen bisulfato de sodio. Los anestésicos locales incluyen clorohidrato de procaina. Los agentes de suspensión y dispersantes incluyen carboximetilceluosa de sodio, hidroxipropil metilcelulosa y polivinilpirrolidona. Los agentes emulsificantes incluyen Polisorbato 80 (TWEEN 80), polisorbato 20 (TWEEN 20), pluronic (F68). Un agente de secuestro o quelante de iones de metal incluyen EDTA. Los portadores farmacéuticos también incluyen alcohol de etilo, polietilen glicol y propilen glicol para productos miscibles en agua e hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para ajuste de pH.

La concentración del compuesto farmacéuticamente activo se ajusta de manera que una inyección proporciona una cantidad efectiva para producir el efecto farmacológico deseado. La dosis exacta depende de la edad, peso y condición del paciente o animal como se conoce en la técnica. Las preparaciones parenterales de dosis unitaria se envasan en una ampolleta, un vial o una jeringa con una aguja. El volumen de solución líquida o preparación en polvo reconstituida, que contiene el compuesto farmacéuticamente activo, es una función de la enfermedad a tratarse y el artículo en particular de fabricación elegida para el envase. Por ejemplo, para el tratamiento de celulitis, se contempla

que para inyección parenteral el volumen inyectado es ó está alrededor de 10 hasta 50 mililitros. Generalmente, este volumen representa el volumen de activador y la enzima que degrada la matriz donde los dos se administran juntos. De esta manera, en un ejemplo, un recipiente doble o jeringa de cámara doble se proporciona conteniendo una preparación de enzima liofilizada separada de un segundo compartimiento que contiene 10 hasta 50 mililitros de activador. Después de la reconstitución de la enzima con el activador, la mezcla se puede administrar. Todas las preparaciones para la administración parenteral deben ser estériles, como se conoce y practica en la técnica. La formulación inyectable se puede almacenar bajo condiciones adecuadas tales como en o alrededor de -80°C, -40°C, -20°C, 2-8°C, 15°C, temperatura ambiente o temperatura ambiente controlada.

Polvos Liofilizados

Son de interés en la presente polvos liofilizados, que se pueden reconstituir para la administración como soluciones, emulsiones y otras mezclas. También se pueden reconstituir y formular como sólidos o geles.

El polvo estéril, liofilizado se prepara al disolver un compuesto de enzima inactiva en una solución amortiguadora. La solución amortiguadora puede contener un excipiente que mejora la estabilidad u otro componente farmacológico del

polvo o solución reconstituida, preparada del polvo. La filtración estéril posterior de la solución después de la liofilización bajo condiciones estándar conocidas por aquellos de experiencia en la técnica proporciona la formulación deseada. Brevemente, el polvo liofilizado se prepara al disolver un excipiente, tal como dextrosa, sorbital, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa, manosa, sorbitol, trehalosa, manitol, sorbitol, almidón de hidroxietilo u otro agente adecuado, en una solución amortiguadora adecuada, tal como citrato, fosfato de sodio o potasio u otras soluciones amortiguadoras conocidas por aquellos de experiencia en la técnica. Otros excipientes que se pueden agregar incluyen aminoácidos tales como glicina, alanina, prolina, aminas tales como betainas, trimetil amina N-óxido, y sales de amonio, sodio o magnesio. Entonces, una enzima seleccionada se agrega a la mezcla resultante, y se agita hasta que esto se disuelve. La mezcla resultante se filtra estéril o se trata para remover partículas y para asegurar la esterilidad, y repartir en viales para liofilización. Cada vial contendrá una dosificación sencilla (1 mg - 1 g, generalmente 1-100 mg, tal como 1-5 mg) o dosificaciones múltiples del compuesto. El polvo liofilizado se puede almacenar bajo condiciones adecuadas, tales como a alrededor de 4°C a temperatura

ambiente.

La reconstitución de este polvo liofilizado con una solución amortiguadora proporciona una formulación para usar en la administración parenteral. La solución elegida para reconstitución puede ser cualquier solución amortiguadora, pero típicamente es una solución amortiguadora que contiene el activador. El activador se elige como una función de la enzima a ser reconstituida. Por ejemplo, una preparación liofilizada de catepsina L es reconstituida con una solución amortiguadora ácida a alrededor de pH 5.5. Para reconstitución alrededor de 1 µg-20 mg, preferiblemente 10 µg-1 mg, más preferiblemente alrededor de 100 µg se agrega por mL de solución amortiguadora u otro portador adecuado. La cantidad precisa depende de la indicación tratada y compuesto seleccionado. Tal cantidad se puede determinar empíricamente.

2. Administración tópica

Las mezclas tópicas se preparan como se describe para la administración local y sistémica. La mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsiones o similares y se formulan como cremas, geles, ungüentos, emulsiones, soluciones, elíxires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, rociadores, supositorios, vendajes, parches dermales o cualquiera de otras formulaciones adecuadas para administración tópica.

Los compuestos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden formular como aerosoles para aplicación tópica, tales como por inhalación (ver, por ejemplo, Patente de E.U.A. Nos. 4,044,126; 4,414,209; y 4,364,923, que describe aerosoles para suministro de un esteroide útil para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, particularmente asma). Estas formulaciones para administración al tracto respiratorio pueden ser en la forma de un aerosol o solución para un nebulizador, o como un polvo microfino para insuflación, solo o en combinación con un portador inerte tal como lactosa. En tal caso, las partículas de la formulación serán típicamente de diámetros de menos que 50 micrones, preferiblemente menos que 10 micrones.

Los compuestos se pueden formular para aplicación local o tópica, tal como para aplicación tópica a la piel y membranas mucosas, tales como en el ojo, en la forma de geles, cremas, y lociones y para aplicación al ojo o para aplicación intracisternal o intraespinal. La administración tópica se contempla para suministro transdérmico y también para administración a los ojos o mucosa, o para terapias de inhalación. Las soluciones nasales del compuesto activo solo o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables también se pueden administrar.

Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica se proporcionan. Estas se pueden proporcionar en cualquier formato adecuado, tal como parches discretos adaptados para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor por un periodo prolongado de tiempo. Tales parches contienen el compuesto activo en solución acuosa opcionalmente amortiguada de, por ejemplo, concentración 0.1 hasta 0.2M con respecto al compuesto activo. Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica también se pueden suministrar por iontoforesis (ver, por ejemplo, Pharmaceutical Research 3(6), 318 (1986)) y típicamente toman la forma de una solución acuosa opcionalmente amortiguada del compuesto activo.

3. Composiciones para otras vías de administración

Dependiendo de la condición tratada otras vías de administración, tales como aplicación tópica, parches transdérmicoes, administración oral y rectal también se contemplan en la presente. Por ejemplo, formas de dosificación farmacéuticas para administración rectal son supositorios rectales, cápsulas y comprimidos para efecto sistémico. Los supositorios rectales incluyen cuerpos sólidos para inserción en el recto que se funden o suavizan en la temperatura corporal liberando uno o más ingredientes farmacológicamente o terapéuticamente activos. Las sustancias

farmacéuticamente aceptables utilizadas en los supositorios rectales son bases o vehículos y agentes para elevar el punto de fusión. Los ejemplos de bases incluyen manteca de cacao (aceite de teobroma), glicerina-gelatina, carbocera (polietilen glicol) y mezclas adeucadas de mono-, di- y triglicéridos de ácidos grasos. Las combinaciones de las diversas bases se pueden usar. Los agentes para elevar el punto de fusión de los supositorios incluyen esperma de ballena y cera. Los supositorios rectales se pueden preparar ya sea por el método comprimido o por moldeo. El peso típico de un supositorio rectal es alrededor de 2 hasta 3 gm. Los comprimidos y cápsulas para administración rectal se fabrican usando la misma sustancia farmacéuticamente aceptable y por los mismos métodos como para formulaciones para administración oral.

Las formulaciones adecuadas para administración rectal se pueden proporcionar como supositorios de dosis unitaria. Estos se pueden preparar al mezclar el compuesto activo con uno o más portadores sólidos convencionales, por ejemplo, manteca de cacao, y luego formando la mezcla resultante.

Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos o cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como

agentes de enlace (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinil pirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa); rellenadores (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o fosfato de hidrógeno de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa o glicolato de almidón de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, sulfato de laurilo de sodio). Los comprimidos se pueden recubrir por métodos bien conocidos en la técnica.

Las formulaciones adecuadas para administración bucal (sublingual) incluyen, por ejemplo, pastillas que contienen el compuesto activo en una base de sabor, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto; y pastillas que contienen el compuesto en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

Las composiciones farmacéuticas también se pueden administrar por formulaciones de liberación controlada y/o dispositivos de suministro (ver, por ejemplo, en Patentes de E.U.A. Nos. 3,536,809; 3,598,123; 3,630,200; 3,845,770; 3,847,770; 3,916,899; 4,008,719; 4,687,610; 4,769,027; 5,059,595; 5,073,543; 5,120,548; 5,354,566; 5,591 ,767; 5,639,476; 5,674,533 y 5,733,566).

Diversos sistemas de liberación se conocen y se pueden usar para administrar enzimas que degradan matriz

seleccionadas, tales como pero no se limitan a, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar el compuesto, endocitosis mediada por receptor, y suministro de moléculas de ácido nucleico que codifican enzimas que degradan matriz seleccionadas tales como sistemas de suministro de retrovirus.

Por lo tanto, en ciertas modalidades, liposomas y/o nanopartículas también se pueden emplear con administración de enzimas que degradan matriz. Los liposomas se forman de fosfolípidos que se dispersan en un medio acuoso y forman espontáneamente vesículas bicapa concéntricas multilamelares (también llamadas vesículas multilamelares (MLVs)). Las MLV generalmente tienen diámetros desde 25 nm hasta 4 µm. Típicamente, liposomas también se preparan conteniendo colesterol para estabilizar las nanopartículas. La sonicación de los MLV resulta en la formación de pequeñas vesículas unilamelares (SUV) con diámetros en el rango de 200 hasta 500 angstroms que contiene una solución acuosa en el núcleo.

Los fosfolípidos pueden formar una variedad de estructuras diferentes a liposomas cuando se dispersa en agua, dependiendo de la relación molar de lípido a agua. En relaciones bajas, la forma de liposomas. Las características físicas de liposomas dependen del pH, la fuerza iónica y la

presencia de cationes divalentes. Los liposomas pueden mostrar baja permeabilidad para sustancias iónicas y polares, pero a temperaturas elevadas experimenta una transición de fase que marcadamente altera su permeabilidad. La transición de fase implica un cambio de una estructura ordenada, estrechamente envasada, conocida como el estado de gel, a una estructura menos ordenada, libremente envasada, conocida como el estado líquido. Esto ocurre en una temperatura de transición de fase caracterítica y resulta en un incremento en la permeabilidad a iones, azúcares y fármacos.

Los liposomas interactúan con células por medio de diferentes mecanismos: endocitosis por células fagocíticas del sistema reticuloendotelial tal como macrófagos y neutrófilos; adsorción a la superficie celular, ya sea por fuerzas hidrofóbicas o electroestáticas débiles no específicas, o por interacciones específicas con componentes de superficie celular; la fusión con la membrana de célula de plasma por inserción de la bicapa de lípido del liposoma en la membrana de plasma, con liberación simultánea de contenidos liposomales en el citoplasma; y por transferencia de lípidos liposomales a membranas celulares o subcelulares, o vice versa, sin ninguna asociación de los contenidos de liposoma. Variando la formulación de liposoma puede alterar que mecanismo opera, aunque más de uno puede funcionar al

mismo tiempo. Las nanocápsulas pueden generalmente atrapar compuestos en una forma estable y reproductiva. Para evitar efectos secundarios debido a sobrecarga polimérica intracelular, tales partículas ultrafinas (tamaño alrededor de 0.1 µm) se deben diseñar usando polímeros capaces de degradarse in vivo. Las nanopartículas biodegradables polialquil-cianoacrilato que cumplen estos requisitos se contemplan para usar en la presente, y tales partículas se pueden hacer fácilmente.

4. Terapias de Combinación

Cualquiera de las enzimas activables que degradan matriz y combinaciones activadoras descritas en este documento se pueden co-formular o co-administrar adicionalmente junto con, antes de, intermitentemente con, o subsecuente a, otros agentes o procedimientos terapéuticos o farmacológicos. Estos agentes incluyen, pero no se limitan a, otros productos biológicos, compuestos de moléculas pequeñas, agentes dispersantes, anestésicos, vasoconstrictores y cirugía, y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, para cualquier enfermedad o condición, que incluye todas aquellas ejemplificadas anteriormente, por lo cual otros agentes y tratamientos son disponibles, la enzima degradante de matriz activable y la combinación activadora seleccionada para estas

enfermedades y condiciones se pueden usar en combinación con las mismas. En otro ejemplo, un anestésico local, por ejemplo, lidocaína se puede administrar para proporcionar alivio del dolor. En algunos ejemplos, el anestésico se puede proporcionar en combinación con un vasoconstrictor para incrementar la duración de los efectos anestésicos. Cualquiera de los agentes farmacológicos proporcionados en este documento se puede combinar con un agente de dispersión que facilita el acceso dentro del tejido de los agentes farmacológicos, por ejemplo, después de la administración subcutánea. Estas sustancias son conocidas en el campo e incluyen, por ejemplo, enzimas de glicosaminoglicanasa solubles tales como las enzimas degradante de hialuronano, por ejemplo, miembros de la familia de la glicoproteína de hialuronidasa (véase, *por ejemplo*, Las Publicaciones de E.U.A. Nos. 20050260186 y 20060104968).

Las composiciones de las enzimas activables que degradan matriz proporcionadas en este documento se pueden co-formular o co-administrar con una anestesia local. Por ejemplo, donde el pH se proporciona como la condición de activación, la administración de una anestesia local se desea para minimizar el dolor asociado con la exposición a pH ácido. Las anestesias incluyen formulaciones de fármacos anestésicos locales de acción rápida y de larga duración. Las

formulaciones de fármacos anestésicos locales de acción rápida contienen lidocaína o un fármaco anestésico local relacionado disuelto en solución salina u otro vehículo de inyección adecuado. Típicamente, la anestesia local con anestésicos locales de acción rápida duran aproximadamente 20-30 minutos. Los anestésicos ejemplares incluyen, por ejemplo, anestésicos locales no de inhalación tales como ambucainas; amoxecainas; amilocainas; aptocainas; articainas; benoxinatos; alcoholes bencílicos; benzocaínas; betoxicainas; bifenaminas; bucricainas; bumecainas; bupivacainas; butacainas; butambenos; butanilicainas; carbizocainas; cloroprocaina; clibucainas; clodacainas; cocainas; dexivacainas; diamocainas; dibucainas; dicloninas; elucainas; etidocainas; euprocinas; fexicainas; fomocainas; heptacainas; hexilcainas; hidroxiprocainas; hidroxitetracainas; isobutambenos; cetocainas; leucinocainas; lidocainas; mepivacainas; meprilcainas; octocainas; ortocainas; oxetacainas; oxibuprocainas; fenacainas; pinolcainas; piperocainas; piridocainas; polidocanoles; pramocainas; prilocainas; procainas; propanocainas; propipocainas; propoxicainas; proximetacainas; pirrocainas; quatacainas; quinisocainas; risocainas; rodocainas; ropivacainea; alcoholes salicílicos; suicainas; tetracainas; trapencainas; y trimecainas; así como también varios otros anestésicos no

de inhalación tales como alfaxalonas; amolanonas; etoxadroles; fentanilos; cetaminas; levoxadroles; metiturales; metohexitales; midazolamas; minaxolonas; propanididos; propoxatos; pramoxinas; propofoles; remifentanilos; sufentanilos; tiletaminas; y zolamina. La cantidad efectiva de la formulación variará dependiendo del paciente particular, enfermedad que se trata, vía de administración y otras consideraciones. Estas dosificaciones se pueden determinar empíricamente.

Debido a la vida media corta de los anestésicos locales, es frecuentemente deseable co-administrar o co-formular estos anestésicos con un vasoconstrictor. Ejemplos de vasoconstrictores incluyen agonistas del receptor adrenérgico alfa que incluye catecolaminas y derivados de catecolamina. Ejemplos particulares incluyen, pero no se limitan a, levonordefrina, epinefrina y norepinefrina. Por ejemplo, una formulación anestésica local tal como lidocaína, se puede formular para contener bajas concentraciones de epinefrina u otro agonista del receptor adrenérgico tal como levonordefrina. La combinación de anestésicos locales con agonistas del receptor adrenérgico es común en las preparaciones farmacéuticas (véase por ejemplo, las Patentes de E.U.A. Nos. 7,261,889 y 5,976,556). El vasoconstrictor es necesario para incrementar la vida media de los anestésicos.

El vasoconstrictor, tal como epinefrina, estimula los receptores adrenérgicos alfa en los vasos sanguíneos en el tejido inyectado. Esto tiene el efecto de construcción de los vasos sanguíneos en el tejido. La construcción del vaso sanguínea causa que el anestésico local permanezca en el tejido mucho más tiempo, dando por resultado un gran incremento en la duración del efecto anestésico.

Generalmente, un vasoconstrictor se usa en este documento en combinación con un anestésico. El agente anestésico y el vasoconstrictor se pueden administrar juntos como parte de una sola composición farmacéutica o como parte de composiciones farmacéuticas separadas siempre y cuando el vasoconstrictor actúe para reducir los vasos sanguíneos en la vecindad y el agente anestésico se ha administrado para dar por resultado una prolongación de la anestesia. En un ejemplo, el agente anestésico y vasoconstrictor se administran juntos en solución. Además, el agente anestésico y el vasoconstrictor se pueden formular juntos o separados de la enzima degradante de matriz activable y activador. Se prefieren formulaciones solas. El agente anestésico y el vasoconstrictor se pueden administrar por inyección, por infiltración o por administración tópica, por ejemplo, como parte de un gel o pasta. Típicamente, el agente anestésico y el vasoconstrictor se administran por inyección directamente

dentro del sitio que se anestesia, por ejemplo, mediante la administración subcutánea. La cantidad efectiva en la formulación variará dependiendo del paciente particular, enfermedad que se trata, vía de administración y otras consideraciones. Estas dosificaciones se pueden determinar empíricamente. Por ejemplo, las cantidades ejemplares de lidocaína están o son aproximadamente 10 mg a 1000 mg, 100 mg a 500 mg, 200 mg a 400 mg, 20 mg a 60 mg, o 30 mg a 50 mg. La dosificación de lidocaína administrada variará dependiendo del individuo y la vía de administración. La epinefrina se puede administrar en cantidades tales como, por ejemplo, 10 µg a 5 mg, 50 µg a 1 mg, 50 µg a 500 µg, 50 µg a 250 µg, 100 µg a 500 µg, 200 µg a 400 µg, 1 mg a 5 mg o 2 mg a 4 mg. Típicamente, la epinefrina se puede combinar con lidocaína en una dilución de 1:100,000 a 1:200,000, lo cual significa que 100 ml de anestésico contiene 0.5 a 1 mg de epinefrina. Los volúmenes administrados se pueden ajustar dependiendo de la enfermedad que se trata y la vía de administración. Se contempla en este documento que 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml, típicamente 10-50 ml de una formulación de anestésico/vasoconstrictor se puede administrar subcutáneamente para el tratamiento de una enfermedad o condición mediada por ECM tal como celulitis. La administración puede ser subsecuente, simultánea o

intermitentemente con la administración de una enzima degradante de matriz activable y activador.

Las composiciones de las enzimas activables que degradan matriz proporcionadas en este documento también se pueden co-formular o co-administrar con un agente de dispersión. El agente de dispersión también se puede co-formular o co-administrar con otros agentes farmacológicos, tales como anestésicos, vasoconstrictores, u otros agentes biológicos. Ejemplares de los agentes de dispersión son las glicosaminoglicanasas, tales como las enzimas degradantes de hialuronano, por ejemplo, hialuronidasas, que abren los canales en el espacio intersticial a través de la degradación de los glicosaminoglicanos. Estos canales pueden permanecer relativamente abiertos durante un período de 24-48 horas dependiendo de la dosis y formulación. Estos canales se pueden usar para facilitar la difusión de moléculas exógenamente agregadas tales como fluidos, moléculas pequeñas, proteínas (tales como enzimas degradantes de matriz), ácidos nucleicos y vectores de terapia génica y otras moléculas menores que aproximadamente 500 nm en tamaño. Además, se piensa que la formación de estos canales puede facilitar el flujo de fluido de volumen dentro de un espacio intersticial, el cual puede a su vez promover la dispersión o movimiento de un soluto (tal como una molécula detectable u

otro agente de diagnóstico, un anestésico u otro agente modificador de tejido, un agente farmacológico o agente farmacéuticamente efectivo, o un cosmético u otro agente estético) que se lleva efectivamente por el fluido en un proceso algunas veces referido como "transporte convectivo" o simplemente convección. Este transporte convectivo puede exceder sustancialmente la velocidad y efectos acumulativos de difusión molecular y de esta manera puede causar el agente terapéutico y otra molécula administrada se perfusiona más rápida y efectivamente a un tejido. Adicionalmente, cuando un agente, tal como una enzima degradante de matriz, anestésico u otro agente, se co-formula o co-administra con una glicosaminoglicanasa y ambos se inyectan en un sito local relativamente confinado, tal como un sitio de administración parenteral no intravenosa (por ejemplo, intradérmica, subcutánea, intramuscular, o dentro o alrededor de otros tejidos internos, órganos u otros espacios relativamente confinados dentro del cuerpo), luego, el fluido asociado con la dosis administrada puede proporcionar tanto una fuerza de accionamiento local (es decir presión hidrostática) así como también impedancia más baja al flujo (al abrir canales dentro de la matriz intersticial), ambos de los cuales podrían incrementar el flujo del fluido, y con el transporte convectivo del agente terapéutico u otra molécula contenida

dentro del fluido. Como resultado, el uso de glicosaminoglicanasas puede tener utilidad sustancial para mejorar la biodisponibilidad así como también manipular otras características farmacocinéticas y/o farmacodinámicas de los agentes co-formulados o co-administrados, tales como enzimas degradantes de matriz.

a. Enzimas Degradantes de Hialuronano

Ejemplos de las glicosaminoglicanasas son las enzimas degradantes de hialuronano. Las enzimas degradantes de hialuronano incluyen cualquier enzima que degrade el hialuronano. Las enzimas degradantes de hialuronano ejemplares incluyen, pero no se limitan a hialuronidasas y condroitinasas particulares y liasas que tienen la capacidad de escisar el hialuronano. Ejemplares de las enzimas degradantes de hialuronano en las composiciones, combinaciones y métodos proporcionados en este documento son las enzimas degradantes de hialuronano solubles. Por ejemplo, ejemplares de las glicosaminoglicanasas son las hialuronidasas. Las enzimas degradantes de hialuronano, tales como hialuronidasas, son una familia de enzima que degrada el ácido hialurónico. Al catalizar la hidrólisis del ácido hialurónico, un constituyente principal de la barrera intersticial, la hialuronidasa disminuye la viscosidad del ácido hialurónico, incrementando en consecuencia la

permeabilidad del tejido.

El hialuronano, también llamado ácido hialurónico o hialuronato, es un glicosaminoglicano no sulfatado que se distribuye ampliamente por todo los tejidos conjuntivos, epiteliales y neurales. El hialuronano es un componente esencial de la matriz extracelular y un constituyente principal de la barrera intersticial. Al catalizar la hidrólisis del hialuronano, las enzimas degradantes de hialuronano disminuyen la viscosidad del hialuronano, incrementando en consecuencia la permeabilidad del tejido e incrementando la velocidad de absorción de los fluidos administrados parenteralmente. Como tal, las enzimas degradantes de hialuronano, tales como hialuronidasas, se han usado, por ejemplo, como agentes de difusión o dispersión en conjunción con otros agentes, fármacos y proteínas para mejorar su dispersión y suministro.

Las enzimas degradantes de hialuronano actúan para degradar el hialuronano al escisar los polímeros de hialuronano, los cuales se componen de unidades de disacáridos de repetición, ácido D-glucurónico (GlcA) y N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc), enlazados juntos por la vía de los enlaces glicosídicos β-1 → 4 y β-1→ 3 alternantes. Las cadenas de hialuronano pueden alcanzar aproximadamente 25,000 repeticiones de disacáridos o más en longitud y polímeros de

hialuronano pueden variar en tamaño de aproximadamente 5,000 a 20,000,000 Da in vivo. Por consiguiente, las enzimas degradantes de hialuronano para los usos y métodos proporcionados incluyen cualquier enzima que tenga la capacidad de catalizar la escisión de una cadena de disacáridos de hialuronano o polímero. En algunos ejemplos la enzima degradante de hialuronano escisa el enlace glicosídico β-1→ 4 en la cadena de hialuronano o polímero. En otros ejemplos, la enzima degradante de hialuronano cataliza la escisión del enlace glicosídico β- 1→ 3 en la cadena de hialuronano o polímero.

i. Hialuronidasas

Existen tres clases generales de hialuronidasas: hialuronidasas de tipo de mamífero, (EC 3.2.1.35) las cuales son endo-beta-N-acetilhexosaminidasas con tetrasacáridos y hexasacáridos como los productos finales principales; Hialuronidasas bacterianas (EC 4.2.99.1), degradan el hialuronano y, y a varios grados, los sulfatos de condroitina (CS) y sulfatos de dermatan (DS), los cuales son endo-beta-N-acetilhexosaminidasas que operan por una reacción de eliminación beta que produce principalmente productos finales de disacárido; e Hialuronidasas (EC 3.2.1.36) de sanguijuelas, otros parásitos, y crustáceos que son endo-beta-glucuronidasas que generan productos finales de

tetrasacárido y hexasacárido a través de la hidrólisis del enlace β-1-3.

1) Hialuronidasas de tipo de mamífero

Las hialuronidasas de tipo de mamífero tienen actividades tanto hidrolíticas como transglicosidasa, y pueden degradar el hialuronano y los sulfatos de condroitina (CS), generalmente C4-S y C6-S. Las hialuronidasas de este tipo incluyen, pero no se limitan a, hialuronidasas de vacas (bovino) (SEQ ID NOS:237, 266 y 272 y BH55 (Patentes de E.U.A. Nos. 5,747,027 y 5,827,721), oveja (ovis aries) (SEQ ID NO:252, 267, 271 y 272), avispa chaqueta amarilla (SEQ ID NOS:238 y 239), abeja de la miel (SEQ ID NO:240), avispón cara blanca (SEQ ID NO:241), avispa de papel (SEQ ID NO:242), ratón (SEQ ID NOS:243-245, 257), cerdo (SEQ ID NOS:246, 247), rata (SEQ ID NOS:248-250, 256), conejo (SEQ ID NO:251), orangután (SEQ ID NO:253), mono cynomolgus (SEQ ID NO:254), cobayo (SEQ ID NO:255), e hialuronidasas humanas. Ejemplares de las hialuronidasas en las composiciones, combinaciones y métodos proporcionados en este documento son las hialuronidasas solubles.

Existen seis genes similares a la hialuronidasa en el genoma humano, HYAL1 (SEQ ID NO:262), HYAL2 (SEQ ID NO: 263), HYAL3 (SEQ ID NO:264), HYAL4 (SEQ ID NO:265) y PH20/SPAM1 (SEQ ID NO:232). Entre las hialuronidasas, la PH20 es la

enzima activa neutra prototípica, mientras que las otras no exhiben actividad catalítica hacia el hialuronano o cualquiera de los substratos conocidos, o son activos únicamente bajo condiciones de pH. Las enzimas similares a hialuronidasa también se pueden caracterizar por aquellas que se fijan generalmente a la membrana plasmática por la vía de un ancla de inositol de glicosilfosfatidilo tal como la HYAL2 humana y PH20 humana (Danilkovitch-Miagkova, y colaboradores (2003) Proc Natl Acad Sci EUA. 100(8):4580-5), y aquellas que son generalmente solubles tales como la HYAL1 humana (Frost y colaboradores, (1997) Biochem Biophys Res Commun. 236(1):10-5). La glicosilación enlazada a N de algunas hialuronidasas puede ser muy importante para su actividad y estabilidad catalítica. Al alterar el tipo de modificación de glicano una glicoproteína puede tener efectos notables sobre una antigenicidad de la proteína, plegamiento estructural, solubilidad, y estabilidad, muchas enzimas no se cree que requieran glicosilación para la actividad enzimática óptima. Las hialuronidasas son, por lo tanto, únicas en este aspecto, en que la remoción de la glicosilación enlazada a N puede dar por resultado inactivación casi completa de la actividad de la hialuronidasa. Para estas hialuronidasas, la presencia de los glicanos enlazados a N es crítica para generar una enzima activa.

Por consiguiente, las hialuronidasas de mamífero se pueden subdividir adicionalmente en aquellas que son activas neutras, encontradas predominantemente en extractos de testículos, y activas ácidas, encontradas predominantemente en órganos tal como el hígado. Las hialuronidasas activas neutras ejemplares incluyen PH20, que incluye pero no se limita a, PH20 derivadas de diferentes especies tales como ovino (SEQ ID NO:267), bovino (SEQ ID NO:266) y humano (SEQ ID NO:232).

La PH20 humana (también conocida como proteína de superficie del espermatozoide PH20) se implica naturalmente en la adhesión del espermatozoide-óvulo y ayuda a la penetración por el espermatozoide de la capa de la célula del cumulus al digerir el ácido hialurónico. El transcripto PH20 ARNm (que corresponde los nucleótidos 1058-2503 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO:224) se traduce normalmente para generar una proteína precursora de 509 aminoácidos que contiene una secuencia de señal de 35 aminoácidos en la N-terminal (posiciones de residuos de aminoácidos 1-35) y una ancla GPI de 19 aminoácidos en la C-terminal (que corresponde a los residuos de aminoácidos 491-509). La secuencia de precursores se expone en SEQ ID NO:232. Un transcripto de ARNm que contiene una mutación de C a T en la posición de nucleótidos 2188 de la secuencia de aminoácidos expuesta en

SEQ ID NO:224 también existe y es una mutación silenciosa que da por resultado el producto traducido expuesto en SEQ ID NO: 232. El PH20 maduro es, por lo tanto, un polipéptido de 474 aminoácidos expuesto en SEQ ID NO:233). Existen sitios de glicosilación enlazada a N potenciales requeridos para la actividad de las hialuronidasas en N82, N166, N235, N254, N368, N393, N490 de PH20 humano ejemplificado en SEQ ID NO: 232. Los enlaces de disulfuro se forman entre los residuos de cisteína C60 y C351 y entre C224 y C238 (que corresponden a los aminoácidos expuestos en SEQ ID NO:232) para formar el dominio de hialuronidasa de núcleo. Sin embargo, las cisteínas adicionales son requeridas en la carboxi terminal para la actividad catalítica enzimática neutra tal que los aminoácidos 36 a 464 de SEQ ID NO:232 contiene aluminio de hialuronidasa PH20 humano mínimamente activo.

El PH20 bovino es un polipéptido precursor de 553 aminoácidos (SEQ ID NO:266). La alineación del PH20 bovino con el PH20 humano muestra únicamente homología débil, con múltiples espacios que existen desde el aminoácido 470 hasta el carboxi-terminal respectivo debido a la ausencia de un ancla GPI en el polipéptido bovino (véase *por ejemplo*, Frost GI (2007) *Expert Opin. Drug. Deliv.* 4: 427-440). No se predice un ancla GPI clara en otras especies PH20 además de los humanos. Por ejemplo, los polipéptidos PH20 producidos de

277

ovino y bovino existen como formas solubles. Aunque el PH20 bovino existe adherido muy sueltamente a la membrana plasmática, no se ancla por la vía de un ancla sensible de fosfolipasa (Lalancette y colaboradores. (2001) *Biol Reprod.* 65(2):628-36). Esta característica única de las hialuronidasa bovina ha permitido el uso de la enzima de hialuronidasa de testículos de bovino solubles como un extracto para el uso clínico (Wydase[MR], Hyalase[MR]).

2) Hialuronidasas Bacterianas

Las hialuronidasas bacterianas (EC 4.2.2.1 o EC 4.2.99.1) degradan el hialuronano y, a varios grados, los sulfatos de condroitina y sulfatos de dermatano. Las liasas de hialuronano aisladas de bacterias difieren de las hialuronidasas (de otras fuentes, por ejemplo, hialuronoglucosaminidasas, EC 3.2.1.35) por su modo de acción. Son endo-β-N-acetilhexosaminidasas que catalizan una reacción de eliminación, antes que de hidrólisis, del enlace glicosídico β1 → 4 entre la N-acetil-beta-D-glucosamina y residuos de ácido D-glucurónico en el hialuronano, produciendo tetra y hexasacáridos de 3-(4-desoxi-β-D-gluc-4-enuronosil)-N-acetil-D-glucosamina, y productos finales de disacárido. La reacción da por resultado la formación de oligosacáridos con residuos de ácido hexurónico insaturado en sus extremos no de reducción.

Las hialuronidasas ejemplares de bacterias para el uso en sus composiciones, combinaciones y métodos por proporcionados incluyen, pero no se limitan a, enzimas degradantes de hialuronano en microorganismos, que incluyen cepas de *Arthrobacter*, *Bdellovibrio*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Peptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, y *Streptomyces*. Ejemplos particulares de estas enzimas incluyen, pero no se limitan *Arthrobacter sp.* (cepa FB24) (SEQ ID NO:275), *Bdellovibrio bacteriovorus* (SEQ ID NO:276), *Propionibacterium acnes* (SEQ ID NO:277), *Streptococcus agalactiae* ((SEQ ID NO:278); 18RS21 (SEQ ID NO:279); serotipo Ia (SEQ ID NO:280); serotipo III (SEQ ID NO:281), *Staphylococcus aureus* (cepa COL (SEQ ID NO:282); cepa MRSA252 (SEQ ID NOS:283 y 284); cepa MSSA476 (SEQ ID NO:285); cepa NCTC 8325 (SEQ ID NO:286); cepa de RF122 de bovino (SEQ ID NOS:287 y 288); cepa USA300 (SEQ ID NO:289), *Streptococcus pneumoniae* ((SEQ ID NO:290); cepa ATCC BAA-255 / R6 (SEQ ID NO:291); serotipo 2, cepa D39 / NCTC 7466 (SEQ ID NO:292), *Streptococcus pyogenes* (serotipo M1) (SEQ ID NO:293); serotupo M2, cepa MGAS 10270 (SEQ ID NO:294); serotipo M4, cepa MGAS 10750 (SEQ ID NO:295); serotipo M6 (SEQ ID NO:296); serotipo M1 2, cepa MGAS2096 (SEQ ID NOS:297 y 298); serotipo M 12, cepa MGAS9429 (SEQ ID NO:299); serotipo M28 (SEQ ID NO:300); *Streptococcus suis* (SEQ ID

NOS:301-303); *Vibrio fischeri* (cepa ATCC 700601/ ES114 (SEQ ID NO:304)), y la enzima de hialuronidasa *Streptomyces hyaluronolyticus*, la cual es específica para el ácido hialurónico y no escisa la condroitina o el sulfato de condroitina (Ohya, T. y Kaneko, Y. (1970) *Biochim. Biophys. Acta* 198:607).

3) Hialuronidasas de sanguijuelas, otros parásitos y crustáceos

Las hialuronidasas de sanguijuelas, otros parásitos y crustáceos (EC 3.2.1.36) son endo-β- glucuronidasas que generan productos finales de tetra y hexasacáridos. Estas enzimas catalizan la hidrólisis de los enlaces β1 → 3 entre el β-D-glucuronato y los residuos de N-acetil-D-glucosamina en el hialuronato. Las hialuronidasas ejemplares de sanguijuelas incluyen, pero no se limitan a, hialuronidasa de Hirudinidae (*por ejemplo, Hirudo medicinalis*), Erpobdellidae (*por ejemplo, Nephelopsis obscura* y *Erpobdella punctata*), Glossiphoniidae (*por ejemplo, Desserobdella picta, Helobdella stagnalis, Glossiphonia complanata, Placobdella ornata* y *Theromyzon sp.*) y Haemopidae (*Haemopis marmorata*) (Hovingh y colaboradores. (1999) *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 124(3):319-26). Una hialuronidasa ejemplar de bacterias que tiene el mismo mecanismo de acción como la hialuronidasa de sanguijuela es aquella de la cianobacteria, *Synechococcus*

sp. (cepa RCC307, SEQ ID NO:305).

ii. Otras enzimas degradantes de hialuronano

Además de la familia de hialuronidasa, otras enzimas degradantes de hialuronano se pueden usar en conjunción con las enzimas activables que degradan matriz en las composiciones, combinaciones y métodos proporcionados. Por ejemplo, las enzimas, que incluyen condroitinasas y liasas particulares, que tienen la capacidad de escisar el hialuronano se pueden emplear. Las condroitinasas ejemplares que pueden degradar el hialuronano incluyen, pero no se limitan a, condroitina ABC liasa (también conocida como condroitinasa ABC), condroitina AC liasa (también conocida como sulfato de condroitina liasa o sulfato de condroitina eliminasa) y condroitina C liasa. Los métodos para la producción y purificación de estas enzimas para el uso en las composiciones, combinaciones, y métodos proporcionados son conocidos en el campo (*por ejemplo*, patente de E.U.A. No. 6,054,569; Yamagata, y colaboradores. (1968) *J. Biol. Chem.* 243(7): 1523-1535; Yang y colaboradores. (1985) *J. Biol. Chem.* 160(30):1849-1857).

La condroitina ABC liasa contiene dos enzimas, sulfato de condroitina ABC endoliasa (EC 4.2.2.20) y sulfato de condroitina ABC exoliasa (EC 4.2.2.21) (Hamai y colaboradores. (1997) *J Biol Chem.* 272(14):9123-30), los

cuales degradan una variedad de glicosaminoglicanos del tipo de sulfato de condroitina y sulfato de dermatano. El sulfato de condroitina, proteoglicano de sulfato de condroitina y sulfato de dermatano son los substratos preferidos para el sulfato de condroitina ABC endoliasa, pero la enzima también puede actuar sobre el hialuronano a una velocidad más lenta. La sulfato de condroitina ABC endoliasa degrada una variedad de glicosaminoglicanos del tipo de sulfato de condroitina y sulfato de dermatano, produciendo una mezcla de oligosacáridos Δ4-insaturados de diferentes tamaños que se degradan finalmente a tetra- y disacáridos Δ4-insaturados. La sulfato de condroitina ABC exoliasa tiene la misma especificidad de substrato pero remueve los residuos de polisacáridos de los extremos no de reducción de ambos sulfatos de condroitina polimérica y sus fragmentos de oligosacáridos producidos por la sulfato de condroitina ABC endoliasa (Hamai, A. y colaboradores. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:9123-9130). Una sulfato de condroitina ABC endoliasas ejemplares y sulfato de condroitina ABC exoliasas incluyen pero no se limitan a, aquellas de *Proteus vulgaris* y *Flavobacterium heparinum* (el sulfato de condroitina ABC endoliasa de *Proteus vulgaris* se expone en SEQ ID NO: 306 (Sato y colaboradores. (1994) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41(1):39-46).

La condroitina AC liasa (EC 4.2.2.5) es activa en los sulfatos de condroitina A y C, condroitina y ácido hialurónico, pero no es activa en el sulfato de dermatano (sulfato de condroitina B). Las enzimas de condroitinasa AC ejemplares de las bacterias incluyen pero no se limitan a, aquellas de *Flavobacterium heparinum* y *Victivallis vadensis*, expuestas en SEQ ID NOS:307 y 308, respectivamente, y *Arthrobacter aurescens* (Tkalec y colaboradores. (2000) *Applied and Environmental Microbiology* 66(1):29-35; Ernest y colaboradores. (1995) *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 30(5):387-444).

La condroitinasa C escisa el sulfato de condroitina C produciendo tetrasacáridos más un disacárido sulfatado-6 insaturado (delta Di-6S). También escisa el ácido hialurónico que produce disacárido no sulfatado insaturado (delta Di-OS). Las enzimas de condroitinasa C ejemplares de las bacterias incluyen, peo no se limitan a, aquellas de *Streptococcus* y *Flavobacterium* (Hibi y colaboradores. (1989) *FEMS-Microbiol-Lett.* 48(2):121-4; Michelacci y colaboradores. (1976) *J. Biol. Chem.* 251:1 154-8; Tsuda y colaboradores (1999) *Eur. J. Biochem.* 262: 127-133).

iii. Enzimas degradantes solubles de hialuronano

Las enzimas degradantes de hialuronano solubles, que incluyen hialuronidasas solubles se pueden usar en los

métodos, combinaciones o composiciones proporcionadas en este documento para la coadministración o co-formulación con las enzimas degradantes de matriz, activadores, anestésicos, vasoconstrictores, otros agentes farmacológicos o terapéuticos, o combinaciones de los mismos, para permitir la difusión dentro de los tejidos. Las enzimas degradantes de hialuronano solubles incluyen cualquiera de las enzimas degradantes de hialuronano que existen en forma soluble, que incluyen, pero no se limitan a hialuronidasas tales como PH20 bovina y PH20 ovina, variantes alélicas de las mismas y otras variantes. También se incluyen entre las enzimas degradantes de hialuronano solubles cualquiera de las enzimas degradantes de hialuronano que se han modificado para ser solubles. Por ejemplo, las enzimas degradantes de hialuronano que contienen un ancla GPI se pueden hacer solubles mediante el truncamiento de y remoción de todo o una porción del ancla GPI. En un ejemplo, la PH20 de hialuronidasa humana, la cual se ancla a la membrana normalmente por la vía de un ancla GPI, se puede hacer soluble mediante el truncamiento de y remoción de todo o una porción del ancla GPI en la C-terminal.

Las enzimas degradantes de hialuronano solubles también incluyen hialuronidasas activas neutras y activas ácidas. Dependiendo de los factores, tales como, pero no se limitan

a, el nivel deseado de actividad de la enzima después de la administración y/o sitio de administración, se pueden seleccionar hialuronidasas activas neutras y activas ácidas. En un ejemplo particular, la enzima degradante de hialuronano para el uso de las composiciones, combinaciones y métodos es una hialuronidasa activa neutra soluble.

Ejemplar de una hialuronidasa soluble es la PH20 de cualquier especie, tal como cualquiera expuesta en cualquiera de SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251 , 267, 255, 257, 271-274, o formas truncadas de las mismas que carecen todo o una porción del ancla GPI C-terminal, siempre y cuando la hialuronidasa sea soluble y retenga una actividad de hialuronidasa. También se incluyen entre las hialuronidasas solubles variantes alélicas u otras variantes de cualquiera de SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251 , 267, 255, 257, 271-274, o formas truncadas de las mismas. Las variantes alélicas y otros variantes son conocidas por una persona de experiencia en el campo, e incluyen polipéptidos que tienen 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% o más de identidad de secuencia para cualquiera de SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274, o formas truncadas de las mismas.

Típicamente, para el uso en las composiciones, combinaciones y métodos en este documento, se usa una PH20 humana soluble. Aunque la PH20 de otros animales se puede

usar, estas preparaciones son potencialmente inmunogénicas, puesto que son proteínas de animal. Por ejemplo, una proporción significativa de pacientes demuestran sensibilización previa secundaria a alimentos ingeridos, y puesto que estos son proteínas de animal, todos los pacientes tienen un riesgo de sensibilización subsecuente. De esta manera, las preparaciones no humanas pueden no ser adecuadas para el uso crónico. Si las preparaciones no humanas se desean, se contempla en este documento que estos polipéptidos se pueden preparar para tener inmunogenicidad reducida. Estas modificaciones están dentro del nivel de una persona experta en el campo y pueden incluir, por ejemplo, la remoción y/o reemplazo de uno o más epítopos antigénicos sobre la molécula.

Las enzimas degradantes de hialuronano, que incluyen hialuronidasas (por ejemplo, PH20), usadas en los métodos en este documento se pueden producir recombinantemente o se pueden purificar o purificar parcialmente de fuentes naturales, tales como, por ejemplo, de extractos de testículos. Los métodos para la producción de proteínas recombinantes, que incluyen enzimas degradantes de hialuronano recombinantes, se proporcionan en cualquier lugar en este documento y son bien conocidas en el campo.

1) PH20 Humano Soluble

Por ejemplo, las formas solubles de PH20 humano recombinante se han producido y se pueden usar en los métodos descritos en este documento para la co-administración o co-formulación con las enzimas degradantes de matriz, activadores, anestésicos, vasoconstrictores, otros agentes farmacológicos terapéuticos, o combinaciones de los mismos, para permitir la difusión dentro de los tejidos. La producción de estas formas solubles de PH20 se describe en la solicitud relacionada Nos. De Serie 11/065,716 y 11/238,171, y en los Ejemplo s 12-15 posteriormente. Las formas solubles incluyen, pero no se limitan a, cualquiera que tenga truncaciones C-terminal para generar polipéptidos que contienen un aminoácido a 347, 372, 394, 413, 430, 447, 467, 477, 478, 479, 480, 481, 482 y 483 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO:232. Cuando se expresa en las células de mamífero, la secuencia de señal N-terminal de 35 aminoácidos se escisa durante el procesamiento, y se secreta la forma madura de la proteína. De esta manera, los polipéptidos solubles maduros contienen 36 a 347, 372, 394, 413, 430, 447, 467, 477, 478, 479, 480, 481, 482 y 483 aminoácidos de SEQ ID NO:232. Los mutantes de supresión que determinan en la posición 477 a 483 de aminoácidos (que corresponde al polipéptido precursor expuesto en SEQ ID NO:232) exhiben actividad de hialuronidasa

secretada más alta que la forma anclada a GPI de longitud completa. Por consiguiente las formas solubles incluyen, pero no se limitan a, cualquiera que tenga truncaciones C-terminal para generar los polipéptidos que contienen un aminoácido a 442, 443, 444, 445, 446 y 447 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de SEQ ID NOS 226-231, respectivamente, o variantes alélicas o especies u otras variantes de las mismas. Generalmente las formas solubles de PH20 se producen usando sistemas de expresión de proteínas que facilita la N-glicosilación correcta para asegurar que el polipéptido retenga la actividad, puesto que la glicosilación es importen para la actividad catalítica y estabilidad de las hialuronidasas. Estas células incluyen, por ejemplo células de ovario de Hámster Chino (CHO) (*por ejemplo* DG44 CHO).

2) rHuPH20

Las formas solubles recombinantes del PH20 humano se han generado y se pueden producir y purificar usando los métodos descritos en este documento. La generación de estas formas solubles de PH20 recombinante se describen en la Solicitud relacionada Nos de Serie 11/065,716 y 11/238,171, y en los Ejemplos 12-15 posteriormente. Ejemplares de este polipéptido son aquellos generados de una molécula de ácido nucleico que codifica 1-482 aminoácidos expuestos en SEQ ID NO:225. La generación, producción y purificación de este PH20 se

describe en los Ejemplos 12-15 posteriormente. El rHuPH20 purificado resultante puede ser heterogéneo debido a las peptidasas presentes en el medio de cultivo en la producción y purificación. Como se produce en el medio de cultivo existe heterogeneidad en la C-terminal de modo que el producto, llamado rHuPH20, incluye una mezcla de especies que pueden incluir cualquiera de una o más de SEQ ID NOS. 226-231 en varias abundancias. Generalmente las formas solubles de PH20, al como rHuPH20, se producen usando los sistemas de expresión de proteínas que facilitan la N-glicosilación correcta para asegurar que el polipéptido retenga la actividad, puesto que la glicosilación es importante para la actividad catalítica y la estabilidad de las hialuronidasas. Estas células incluyen, por ejemplo células de Ovario de Hámster Chino (CHO) (*por ejemplo* células DG44 CHO).

Las enzimas degradantes de hialuronano, tal como cualquier hialuronidasa, en particular un PH20 soluble tal como rHuPH20, se puede administrar por cualquiera vía adecuada como se describe en otra parte en este documento. Típicamente, la administración es mediante administración parenteral, tal como mediante administración intradérmica, intramuscular, subcutánea o intravascular. Los compuestos proporciona en este documento se pueden formular para la administración parenteral mediante inyección, por ejemplo,

mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para la inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampolletas o en envases de múltiples dosis, con un conservador adicionado. Las composiciones pueden ser suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para la reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, aguas sin pirógeno estéril u otros solventes, antes del uso. Por ejemplo, se proporcionan en este documento formulaciones parenterales que contienen una cantidad efectiva de PH20 soluble, tal como 10 Unidades a 500,000 Unidades, 100 Unidades a 100,000 Unidades, 500 Unidades a 50,000 Unidades, 1000 Unidades a 10,000 Unidades, 5000 Unidades a 7500 Unidades, 5000 Unidades a 50,000 Unidades, o 1,000 Unidades a 10,000 Unidades, generalmente 10,000 a 50,000 Unidades, in una solución o suspensión estabilizada o una forma liofilizada las formulaciones se pueden proporcionar en formas de dosis unitaria tales como, pero no se limitan a, ampolleta, jeringas y tabletas o cápsulas individualmente empaquetadas. El agente de dispersión se puede administrar solo, o con otros agentes farmacológicamente efectivos en un

volumen típicamente 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml, típicamente 10-50 ml.

En un ejemplo de una terapia de combinación, se contempla en este documento un anestésico, vasoconstrictor y agente de dispersión se co-administran o co-formulan con una enzima degradante de matriz activable y activador que se administra subsecuentemente, simultáneamente o intermitentemente con los mismos. Una formulación ejemplar es una que contiene lidocaína, epinefrina y un PH20 soluble, por ejemplo, un PH20 soluble expuesto en SEQ ID NO:226. El PH20 soluble se puede mezclar directamente con lidocaína (Xilocaína), y opcionalmente con epinefrina. La formulación se puede preparar en una forma de dosificación unitaria, tal como en una jeringa. Por ejemplo, la formulación de lidocaína/epinefrina/PH20 soluble se puede proporcionar en un volumen, tal como 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml, típicamente 10-50 ml, empaquetada en una jeringa para el uso.

En las terapias de combinación, los otros agentes farmacológicos, tal como una formulación de lidocaína/epinefrina/PH20 soluble, se puede co-administrar junto con o en proximidad temporal cercana a la administración de una enzima degradante de matriz activable (y activador). Típicamente se prefiere que el anestésico y/o

agente de dispersión se administren poco antes (*por ejemplo* 5 a 60 minutos antes) o, por conveniencia máxima, junto con el agente farmacológico. Como se apreciará por aquellas personas expertas en el campo, la proximidad deseada de la co-administración depende en parte significativa en las vidas medias efectivas de los agentes en la configuración del tejido particular, y la enfermedad particular que se trata, y se puede utilizar fácilmente al someter a prueba los efectos de la administración de los agentes en tiempos variantes en modelos adecuados, tal como en modelos animal adecuados.

iv. Modificaciones de enzimas degradantes del hialuronano para mejorar sus propiedades farmacocinéticas

Las enzimas degradantes de hialuronano se pueden modificar para mejorar sus propiedades farmacocinéticas, tal como al incrementar su vida media *in vivo* y/o actividades. Las modificación de las enzimas degradantes de hialuronano para el uso en las composiciones, combinaciones y/o métodos proporcionados pueden incluir unir, directa o indirectamente por la vía de un enlazador, tal como covalentemente o mediante otro enlace adecuado, un polímero, tal como dextrano, un polietilenglicol (pegilación (PEG)) o porción de sialilo, u otro de estos polímeros, tal como polímeros naturales o de azúcar.

La pegilación de los agentes terapéuticos se sabe que

incrementa la resistencia a la proteólisis, incrementa la vida media plasmática, y disminuye la antigenicidad de inmunogenicidad. La unión covalente u otra estable (conjugación) de las moléculas poliméricas, tal como la porción de polietilenglicol (PEG), a la enzima degradante de hialuronano puede impartir de esta manera propiedades benéficas a la composición de enzima-polímero resultante. Estas propiedades incluyen biocompatibilidad mejorada, extensión de la vida media de la proteína (y actividad enzimática) en la sangre, células y/u otros tejidos dentro de un sujeto, protección efectiva de la proteína de las proteasas y la hidrólisis, biodistribución mejorada, farmacocinética y/o farmacodinámica mejorada, y solubilidad al agua incrementada.

Los polímeros ejemplares que se pueden conjugar a la enzima degradante de hialuronano, incluyen homopolímeros naturales y sintéticos, tales como polioles (es decir poli-OH), poliaminas (es decir poli-NH2) y ácidos policarboxílicos (es decir poli-COOH), y heteropolímeros adicionales es decir polímeros que comprenden uno o más grupos de acoplamiento diferentes por ejemplo un grupo hidroxilo y grupos amina. Ejemplos de moléculas poliméricas adecuadas incluyen moléculas poliméricas seleccionadas de entre óxidos de polialquileno (PAO), tal como polialquilenglicoles (PAG), que

incluyen polipropilenglicoles (PEG), metoxipolietilenglicoles (mPEG) y polipropilenglicoles, éteres PEG-glicidílicos (Epox-PEG), PEG-oxicarbonilimidazol (CDI-PEG) polietilenglicoles ramificados (PEGs), alcohol polivinílico (PVA), policarboxilatos, polivinilpirrolidona, ácidos poli-D,L-amino, anhídrido de ácido polietilen-co-maleico, anhídrido de ácido poliestiren-co-maleico, dextranos que incluyen carboximetil-dextranos, heparina, albúmina homóloga, celulosas, que incluyen metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa, hidrolisados de quitosan, almidones tales como almidones de hidroxietilo y almidones de hidroxipropilo, glicógeno, agarosas y derivados de los mismos, goma de guar, pululan, inulina, goma de xantano, carragenano, pectina, hidrolisados de ácido algínico y biopolímeros.

Típicamente, los polímeros son óxidos de polialquileno (PAO), tal como óxidos de polietileno, tal como PEG, típicamente mPEG, los cuales en comparación con los polisacáridos tales como dextrano, pululan y los similares, tienen pocos grupos reactivos capaces de la reticulación. Típicamente, los polímeros son moléculas poliméricas no tóxicas tal como (m)polietilenglicol (mPEG) el cual se puede conjugar covalentemente a la enzima degradante de hialuronano

(*por ejemplo*, a los grupos de unión sobre la superficie de la proteína) usando una química relativamente simple.

Las moléculas poliméricas adecuadas para la unión a la enzima degradante de hialuronano incluyen pero no se limitan a, polietilenglicol (PEG) y derivados de PEG tales como metoxi-polietilenglicoles (mPEG), éteres PEG-glicidílicos (Epox-PEG), PEG-oxicarbonilimidazol (CDI-PEG), PEGs ramificados, y óxido de polietileno (PEO) (véase *por ejemplo* Roberts y colaboradores., Advanced Drug Delivery Review 2002, 54: 459-476; Harris y Zalipsky, S (eds.) "Polyethylene glycol), Chemistry and Biological Applications" ACS Symposium Series 680, 1997; Mehvar y colaboradores., *J. Pharm. Pharmaceut. Sci*, 3(1):125-136, 2000; Harris, Nature Reviews 2:215 et seq. (2003); y Tsubery, *J Biol. Chem* 279(37):381 18-24, 2004). La molécula polimérica puede ser de un peso molecular que varía típicamente de aproximadamente 3 kDa a aproximadamente 60 kDa. En algunas modalidades la molécula polimérica que se conjuga a una proteína, tal como rHuPH20, tiene un peso molecular de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 o más de 60 kDa.

Varios métodos para modificar polipéptidos la unir (conjugar) covalentemente un PEG o derivado de EG (es decir "PEGilación") se conocen en el campo (véase *por ejemplo*, Patentes de E.U.A. Nos. 5,672,662 y U.S. 6,737,505; y

Publicaciones de E.U.A. Nos. 2006/0104968 y 2004/0235734). Las técnicas para la PEGilación incluyen, pero no se limitan a, enlazadores especializados y químicas de acoplamiento (véase *por ejemplo*, Harris, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54:459-476, 2002), unión de porciones de PEG múltiples a un solo sitio de conjugación (tal como por la vía del uso de PEGs ramificados; véase *por ejemplo*, Veronese y colaboradores, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:177-180, 2002), PEGilación específica de sitio y/o mono-PEGilación (véase *por ejemplo*, Chapman y colaboradores., *Nature Biotech.* 17:780-783, 1999), y PEGilación enzimática dirigida al sitio (véase *por ejemplo*, Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54:487-504, 2002) (véase, también, por ejemplo, Lu y Felix (1994) *Int. J. Peptide Protein Res.* 43: 127-138; Lu y Felix (1993) Peptide Res. 6:142-6, 1993; Felix y colaboradores. (1995) *Int. J. Peptide Res.* 46:253-64; Benhar y colaboradores. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:13398-404; Brumeanu y colaboradores. (1995) *J Immunol.* 154:3088-95; véase también, Caliceti y colaboradores. (2003) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55(10): 1261-77 y Molineux (2003) Pharmacotherapy 23 (8 Pt2):3S-8S). Los métodos y técnicas descritos en el campo pueden producir proteínas que tienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más de 10 PEG o derivados de PEG unidos a una sola molécula de proteína (véase *por ejemplo*, Publicación de E.U.A. No. 2006/0104968).

Se han descrito numerosos reactivos para la PEGilación en el campo. Estos reactivos incluyen, pero no se limitan a, PEG activado con N-hidroxisuccinimidilo (NHS), succinimidil mPEG, mPEG2-N-hidroxisuccinimida, mPEG succinimidil-alfa-metilbutanoato, mPEG succinimidil-propionato, mPEG succinimidil-butanoato, éster succimidílico de ácido mPEG carboximetil-3-hidroxibutanoico, PEG-succinimidil-propionato homobifuncional, PEG propionaldehído homobifuncional, PEG butiraldehído homobifuncional, PEG maleimida, PEG hidrazida, PEG de p-nitrofenil-carbonato, mPEG-benzotriazol-carbonato, propionaldehído PEG, mPEG butrialdehído, mPEG2 butiraldehído ramificado, mPEG acetilo, mPEG piperidona, mPEG metilcetona, mPEG "sin enlace" maleimida, mPEG vinil-sulfona, mPEG tiol, mPEG ortopiridiltioéster, disulfuro de mPEG ortopiridilo, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, vinilsulfona PEG-NHS, acrilato PEG-NHS, fluoresceína PEG-NHS, y biotina PEG-NHS (véase *por ejemplo*, Monfardini y colaboradores., *Bioconjugate Chem.* 6:62-69, 1995; Veronese y colaboradores., J. Bioactive Compatible Polymers 12:197-207, 1997; U.S. 5,672,662; U.S. 5,932,462; U.S. 6,495,659; U.S. 6,737,505; U.S. 4,002,531; U.S. 4,179,337; U.S. 5,122,614; U.S. 5,183,550; U.S. 5,324,844; U.S. 5,446,090; U.S. 5,612,460; U.S. 5,643,575; U.S. 5,766,581; U.S. 5,795, 569; U.S. 5,808,096; U.S. 5,900,461; U.S. 5,919,455; U.S. 5,985,263; U.S. 5,990,237; U.S.

6,113,906; U.S. 6,214,966; U.S. 6,258,351; U.S. 6,340,742; U.S. 6,413,507; U.S. 6,420,339; U.S. 6,437,025; U.S. 6,448,369; U.S. 6,461 ,802; U.S. 6,828,401; U.S. 6,858,736; U.S. 2001/0021763; U.S. 2001/0044526; U.S. 2001/0046481; U.S. 2002/0052430; U.S. 2002/0072573; U.S. 2002/0156047; U.S. 2003/0114647; U.S. 2003/0143596; U.S. 2003/0158333; U.S. 2003/0220447; U.S. 2004/0013637; US 2004/0235734; U.S. 2005/000360; U.S. 2005/01 14037; U.S. 2005/0171328; U.S. 2005/0209416; EP 01064951; EP 0822199; WO 00176640; WO 0002017; WO 0249673; WO 9428024; y WO 0187925).

En un ejemplo, la enzima degradante de hialuronano para el uso en los métodos, composiciones, y combinaciones proporcionadas es una hialuronidasa soluble que está PEGilada. En un ejemplo particular, la hialuronidasa soluble es una hialuronidasa PH20 PEGilada. En otro ejemplo particular, la hialuronidasa soluble es rHuPH20 PEGylado.

G. Empaquetamiento y Artículos de Manufactura de las Enzimas activables que degradan matriz

Las composiciones farmacéuticas de las enzimas degradantes de matriz seleccionadas o ácidos nucleicos que codifican las enzimas degradantes de matriz seleccionadas, o un derivado o variante de las mismas se puede empacar como artículos de manufactura que contienen material de empaquetamiento, una composición farmacéutica que es efectiva

para tratar la enfermedad o desorden, y una etiqueta que indica la enzima degradante de matriz seleccionada o molécula de ácido nucleico se va a usar para tratar la enfermedad o desorden. Combinaciones de una enzima degradante de matriz seleccionada, o derivado o variante de la misma y un activador también se pueden empacar en un artículo de manufactura.

Los artículos de manufactura proporcionados en este documento contienen materiales de empaquetamiento. Los materiales de empaquetamiento para el uso en los productos farmacéuticos de empaquetamiento son bien conocidos para aquellas personas expertas en el campo. Véase, por ejemplo, las Patentes de E.U.A. Nos. 5,323,907, 5,052,558 y 5,033,252, cada una de las cuales se incorpora en este documento en su totalidad, Ejemplos de materiales de empaquetamiento farmacéuticos incluyen, pero no se limitan a, paquetes de ampolla, botellas, inhaladores, bombas, bolsas, frasquitos, envases, jeringas, botellas, y cualquier material de empaquetamiento adecuado para una formulación seleccionada y modo propuesto de administración y tratamiento. Los artículos de manufactura pueden incluir una aguja u otro dispositivo de inyección para facilitar la administración (*por ejemplo* administración sub-epidérmica) para propósitos de inyección local. Es contemplado un amplio arreglo de formulaciones de

los compuestos y composiciones proporcionados en este documento como son una variedad de tratamientos para cualquier enfermedad o desorden mediado por ECM.

La selección de paquete depende de la enzima degradante de matriz y activador, y si estas composiciones se empacarán juntas o separadamente. En general, el empaquetamiento no es reactivo con las composiciones contenidas en el mismo tal que la activación de la enzima degradante de matriz activable no ocurre antes de la adición del activador. En un ejemplo, la enzima degradante de matriz activable se puede empacar como una mezcla con el activador. De esta manera, por ejemplo, una enzima lisosomal (*por ejemplo*, catepsina L) que requiere pH bajo para la activación se puede empacar como una mezcla con una solución ácido amortiguada.

En otro ejemplo, los componentes se pueden empacar como composiciones separadas que, en el mezclado, dan por resultado la activación de la enzima degradante de matriz. Por ejemplo, una composición que contiene una enzima degradante de matriz se puede proporcionar separadamente de, y para el uso con, una composición separada que contiene un activador, tal como una solución ácida amortiguada. De esta manera, en estos ejemplos, la enzima degradante de matriz activable se empaca en un envase separado del activador, y la activación se logra por la exposición al activador en la

petición del usuario. La exposición al activador puede ocurrir en cualquier momento precedente a la administración por la adición del activador a la enzima. Por ejemplo, el contendor puede tener un solo compartimiento que contiene la enzima degradante de matriz y es susceptible a la adición del activador por el usuario, por ejemplo a través de un orificio en el compartimiento. Cualquier envase u otro artículo de manufactura que sea susceptible a tener un espacio de definición para el contenimiento de la enzima degradante de matriz y que sea susceptible a simple manipulación para permitir la adición de los componentes finales necesarios para la activación es contemplado. El activador se agrega antes del uso. La exposición al activador también puede ocurrir después de la administración al intersticio. Por ejemplo, si el calor es el activador, se puede administrar una enzima degradante de matriz y el sitio de inyección local se somete al calor. En un ejemplo alterno, una solución amortiguada ácida se puede administrar al intersticio seguido por la administración de una enzima degradante de matriz, por ejemplo cualquiera que requiera un pH ácido para la activación tal como una catepsina.

En otros ejemplos, la enzima degradante de matriz activable se empaca en un envase con el activador tal que la activación de la enzima degradante de matriz es susceptible a

la activación por el usuario a petición en el envase. Generalmente, ejemplos de estos envases incluyen aquellos que tienen un espacio definido, encerrado que contiene la enzima degradante de matriz, y un espacio definido, encerrado separado que contiene el activador tal que los dos espacios se separan por una membrana fácilmente removible la cual, en la remoción, permite los componentes mezclarse y reaccionar por consiguiente, dando por resultado la activación de la proteasa. Cualquiera envase u otro artículo de manufactura es contemplado, siempre y cuando la enzima degradante de matriz se separe del activador. La exposición del activador a la enzima degradante de matriz es antes del uso. Por ejemplo, los medios de separación físicos son aquellos que se remueven fácilmente por el usuario, para permitir el mezclado, dando por resultado la activación de la enzima. Por ejemplo, un artículo de manufactura puede contener una enzima degradante de matriz en un compartimiento y un activador en un compartimiento adyacente. Los compartimientos se separan por un miembro de división, tal como una membrana, que, en la compresión del artículo o manufactura se rompe permitiendo que los componentes separados se mezclen. Para las modalidades adecuadas véase por ejemplo, los envases descritos en las Patentes de E.U.A. Nos. 3,539,794 y 5,171,081.

Después hay algunos ejemplos de los requerimientos de empaquetamiento de varios usos finales de las enzimas activables que degradan matriz. Se ofrecen como ejemplos únicamente de ninguna manera se proponen como limitantes.

1. Aparato de Una Cámara

Entre las modalidades más simples en este documento, son aquellas en las cuales el aparato contiene una sola cámara o envase y, si es necesario, un medio de inyección. Los alojamientos o envases de una sola cámara incluyen cualquier artículo en el cual una enzima degradante de matriz se incluye en el envase. La enzima degradante de matriz se aloja en el recipiente en fase líquida o como un polvo u otra pasta u otra composición conveniente. El componente activador se introduce justo antes del uso. Antes del uso el activador, proporcionado típicamente con una solución amortiguada, se agrega y se pone en contacto con la enzima degradante de matriz para permitir el mezclado y/o reconstitución de la enzima degradante de matriz. Por ejemplo, cuando se desee dependiendo de la enzima degradante de matriz, un líquido que contiene Ca^{2+}, tal como una mezcla que contiene el Ca^{2+} en una solución amortiguadora apropiada, o una solución amortiguada ácida, u otra solución que contiene una condición de activación, se agrega al envase. Los kits que contienen el artículo y el activador también se proporcionan.

2. Aparato de Doble Cámara

Un ejemplo de un aparato contemplado para el uso en este documento es un envase de doble cámara. En general, este aparato tiene dos cámaras o compartimientos que mantienen en consecuencia la enzima degradante de matriz separada del activador hasta que la activación se desea. El aparato puede incluir una cámara de mezclado para permitir el mezclado de los componentes antes de la dosificación del aparato. Alternativamente, el mezclado puede ocurrir mediante la eyección del activador de una cámara dentro de una segunda cámara que contiene la enzima degradante de matriz activable. Por ejemplo, la enzima degradante de matriz activable se puede proporcionar en forma liofilizada, y se puede lograr la reconstitución mediante la eyección del activador, tal como una solución amortiguada ácida, desde una primera cámara hasta la segunda cámara que contiene la enzima liofilizada.

En una modalidad, un aparato de doble cámara emplea un mecanismo de bomba mecánica en la operación. En este ejemplo, el aparato de dosificación mantiene los componentes en cámaras separadas. Un mecanismo de bomba operado para retirar los contenidos de cada cámara y dentro de una cámara de mezclado, o de una cámara dentro de la segunda cámara. En el mezclado, la composición mezclada se activa por la reacción de los componentes en las cámaras. El mecanismo de bomba se

puede operar manualmente, por ejemplo, por un émbolo. Ejemplar de este aparato de doble cámara incluyen jeringas de doble cámara (véase *por ejemplo*, Patentes de E.U.A. Nos. 6,972,005, 6,692,468, 5,971,953, 4,529,403, 4,202,314, 4,214,584, 4,983,164, 5,788,670, 5,395,326; y Solicitudes de Patente Internacionales Nos. WO2007006030 y WO2001047584).

Otra modalidad de un aparato de dosificación de fluido de doble cámara contemplado para el uso en este documento toma la forma de una botella compresible o tubo u otro dispositivo similar. El dispositivo tiene dos compartimientos dentro de él que mantiene los componentes separados. La tapa del dispositivo puede servir como una cámara de mezclado, una cámara de mezclado se puede posicionar entre las dos cámaras y la tapa, o el mezclado se puede lograr dentro de una de las cámaras. Los componentes se llevan por la compresión de los compartimientos separados dentro de la cámara de mezclado. Luego se dispensan de la cámara de mezclado. Por ejemplo, los contenidos mezclados se pueden remover del dispositivo al fijar un aparato de émbolo/jeringa al extremo de dosificación y retirar los contenidos a través de los mismos. Estos dispositivos son conocidos en el campo (véase *por ejemplo*, Solicitud de Patente Internacional. No. WO1994015848).

3. Kits

Las enzimas degradantes de matriz seleccionadas,

activadores y/o artículos de manufactura de las mismas también se pueden proporcionar como kits. Los kits pueden incluir una composición farmacéutica descrita en este documento y un artículo para la administración proporcionado como un artículo de manufactura. Por ejemplo, una enzima degradante de matriz seleccionada se puede suministrar con un dispositivo para la administración, tal como una jeringa, un inhalador, un vaso de dosificación, un gotero, o un aplicador. Las composiciones se pueden contener en el artículo para la administración o se pueden proporcionar separadamente para ser agregados posteriormente. Generalmente, los kits contienen un artículo con una enzima degradante de matriz, y una composición activadora que contiene la condición de activación. El kit puede, opcionalmente, incluir instrucciones para la aplicación que incluyen dosificaciones, regímenes de dosificación e instrucciones para los modos de administración. Los kits también pueden incluir una composición farmacéutica descrita en este documento y un artículo para la diagnosis. Por ejemplo, estos kits pueden incluir un artículo para medir la concentración, cantidad o actividad de la proteasa seleccionada en un sujeto.

H. Métodos para Estimar la Actividad de las Enzimas Degradantes de Matriz

1. Métodos para Estimar la Estabilidad Enzimática

Las enzimas activables que degradan matriz se pueden someter a prueba para su actividad enzimática contra substratos conocidos. La estimación de la actividad se puede realizar en presencia o ausencia de un activador. La estimación de la actividad también se puede realizar bajo condiciones variantes, por ejemplo, al variar la cantidad de activador usado para la activación. En un ejemplo, los perfiles de pH se pueden realizar para determinar la actividad relativa de una enzima bajo varias condiciones de pH (véase *por ejemplo*, Dehrmann y colaboradores. (1995) *Arch. Biochm. Biophys.*, 324:93-98). Las estimaciones de la actividad se pueden realizar en un medio acondicionado u otros sobrenadantes o en una proteína purificada.

La actividad enzimática se puede estimar mediante el ensayo para la escisión del substrato usando substratos conocidos de la enzima. Los substratos pueden estar en la forma de una proteína purificada o proporcionados como substratos de péptido. Por ejemplo, la actividad enzimática de la catepsina L se puede estimar por la escisión de las proteínas purificadas como Azocaseína, colágeno, elastina, albúmina de suero humano y rHuPH20 ya sea al incubarlas individualmente con el ADME o como una mezcla de dos o más proteínas purificadas. La escisión de una proteína purificada

por una enzima se puede estimar usando cualquier método de detección de proteínas, que incluyen, pero no se limitan a, HPLC, CE, espectrometría de masas, análisis SDS-PAGE, ELISA, técnica Western blot, inmunohistoquímica, inmunoprecipitación, secuenciación NH2-terminal y etiquetado de proteína.

El uso de grupos fluorogénicos sobre los substratos facilita la detección de la escisión. Por ejemplo, los substratos se pueden proporcionar como tetrapéptidos fluorogénicamente etiquetados del substrato de péptido, tal como un ACC- o 7-amino-4-metil-coumarina (AMC)-tetrapéptido. Otros grupos fluorogénicos son conocidos y se pueden usar y acoplar a las proteínas o substratos de péptido. Estos incluyen, por ejemplo, 7-amino-4-metil-2-quinolinona (AMeq), 2-naftilamina (NHNap) y 7-amino-4- metilcoumarina (NHMec) y fluorescein-5-isotiocianato (FITC) (Sarath y colaboradores. "Protease Assay Methods", in Proteolytic Enzymes: A Practical Approach. Ed. Robert J. Beynon y Judith S. Bond. Oxford University Press, 2001. pp. 45-76). Los substratos de péptidos son conocidos por una persona experta en el campo, como son substratos de péptido fluorogénicos ejemplares. Por ejemplo, los substratos ejemplares para la catepsina B incluyen, N-oBZ-Phe-Val-Arg-p-NA, DNA-Phe-Arg-Nph-Leu, Z-Ala-Arg-Arg-F^3MCA, Z-Arg-Arg-MBNA, Z-Arg-Arg-NHMec, Z-Phe-Arg-

NHMec, y Z-Leu-Arg-AMC y variaciones de los mismos tal como con diferentes grupos fluorogénicos. En otro ejemplo, un substrato ejemplar poara la catepsina L incluyen Z-Phe-Arg-NHMec y Z-Leu-Arg-AMC, y Z-His-Arg-Tyr-Arg-AMC, y variaciones de los mismos tal como con diferentes grupos fluorogénicos. De esta manera, puesto que la catepsina B y catepsina L comparten el mismo substrato, por ejemplo, Z-Phe-Arg-NHMec y Z-Leu-Arg-AMC, la estimación de la actividad de la catepsina L se puede realizar en presencia de un inhibidor específico a la catepsina B. Ejemplar de este inhibidor es CA-074. Se ejemplifica en el Ejemplo 9 en este documento. Los ensayos de enzimas para medir la actividad enzimática mediante la intensidad de fluorescencia son estándar, y se realizan típicamente como una función de tiempo de incubación de la enzima y substrato (véase *por ejemplo*, Dehrmann y colaboradores. (1995) *Arch. Biochem. Biophys.*, 324:93-98; Barrett y colaboradores. (1981) *Methods Enzymol*, 80:536-561).

Mientras que la detección de los compuestos fluorogénicos se puede lograr usando un fluorómetro, la detección se puede lograr por una variedad de otros métodos bien conocidos por aquellas personas expertas en el campo. De esta manera, por ejemplo, cuando las fluoróforas emiten en longitudes de onda visibles, la detección puede ser simplemente por inspección visual o fluorescencia en

respuesta a la excitación por una fuente de luz. La detección también puede ser por medio de un sistema de análisis de imagen que usa una cámara de video conectada a un digitalizador u otro sistema de adquisición de imágenes. La detección también puede ser por visualización a través de un filtro, como bajo un microscopio de fluorescencia. El microscopio puede proporcionar una señal que se visualiza simplemente por el operador. Alternativamente, la señal se puede grabar en película fotográfica o usando un sistema de análisis de video. La señal también se puede cuantificar simplemente en tiempo real usando ya sea un sistema de análisis de imagen o un fotómetro.

De esta manera, por ejemplo, un ensayo básico para la actividad de la enzima en una muestra implica suspender o disolver la muestra en una solución amortiguadora (en el pH y resistencia iónica óptimas de la proteasa particular que se somete a ensayo) agregando a la solución amortiguadora un indicador de péptido de enzima fluorogénico, y supervisar el cambio resultante en la fluorescencia usando un espectrofotómetro a una temperatura específica para la incubación como se muestra en *por ejemplo* Harris y colaboradores, (1998) *J Biol Chem* 273:27364. El espectrofluorómetro se ajusta para excitar la fluoróforа en la longitud de onda de excitación de la fluoróforа y detecta

la señal en la longitud de onda de emisión de la fluoróforа. El indicador de enzima fluorogénico es una secuencia de substrato de una enzima (*por ejemplo* de una proteasa) que cambia en fluorescencia debido a que una proteasa escisa el indicador. La actividad enzimática se expresa típicamente como unidades estándar/ml con base en una curva de calibración generada con una concentración variante del substrato fluorogénico, y la actividad específica es representada como unidades/mg de proteína.

2. Métodos para Estimar la Degradación ECM

La degradación de las proteínas de matriz extracelular por las enzimas degradantes de matriz, que incluyen, pero no se limitan a, aquellas descritas anteriormente, tal como catepsina L, se pueden estimar *in vitro* o *in vivo*. Los ensayos para esta estimación son conocidos por aquellas personas expertas en el campo, y se pueden usar para someter a prueba las actividades de una variedad de enzimas degradantes de matriz sobre una variedad de proteínas de matriz extracelulares, que incluyen, pero no se limitan a colágeno (I, II, III y IV), fibronectina, vitronectina y proteoglicanos.

a. Ensayos *In vitro*

Ejemplar en los ensayos *in vitro* incluyen ensayos para estimar los productos de degradación de las proteínas de

matriz extracelular después de la incubación con una enzima degradante de matriz. En algunos ejemplos, los ensayos detectan un solo producto de degradación específico. En otros ejemplos, los ensayos detectan múltiples productos de degradación, la identidad de los cuales puede o no puede ser conocida. La estimación de los productos de degradación se puede realizar usando métodos bien conocidos en el campo que incluyen, pero no se limitan a, HPLC, CE, espectrometría de masas, análisis SDS-PAGE, ELISA, técnica de Western blot, inmunohistoquímica, inmunoprecipitación, secuenciación NH2-terminal y etiquetado de proteínas. Se pueden visualizar los productos de degradación de matriz extracelular, por ejemplo, mediante el análisis SDS-PAGE después de la incubación con las enzimas degradantes de matriz durante una cantidad apropiada de tiempo a una temperatura apropiada. Por ejemplo, el colágeno se puede incubar con catepsina L activada y se puede someter a SDS-PAGE usando, por ejemplo, un gel de Tris/glicina 4-20% para separar los productos. La tinción de coomassie del gel facilita la visualización de los productos de degradación más pequeños, o la desaparición de las bandas de colágeno, comparado con el colágeno intacto. La inmunotinción que usa, por ejemplo, un Ig policlonal específico a la proteína de matriz extracelular también se puede usar para visualizar los productos de degradación

después de la separación con SDS-PAGE.

Los ensayos que detectan específicamente un solo producto después de la degradación de una proteína de matriz extracelular también son conocidos en el campo y se pueden usar para estimar la capacidad de una enzima degradante de matriz a degradar una proteína de matriz extracelular. Por ejemplo, el ensayo de hidroxiprolina (HP) se puede usar para medir la degradación del colágeno, 4-hidroxiprolina es un aminoácido modificado que constituye aproximadamente 12% del peso del colágeno. Los ensayos de HP miden la cantidad de colágeno solubilizado al determinar la cantidad de HP en el sobrenadante después de la incubación con una enzima degradante de matriz, tal como catepsina L activada (véase *por ejemplo*, Ejemplo 2, posteriormente, y Reddy y Enwemeka (1996) *Clinical Biochemistry* 29:225-229). La medición de la HP se puede efectuar por, por ejemplo, métodos colorimétricos, cromatografía líquida de alto desempeño, espectrometría de masas y métodos enzimáticos (véase *por ejemplo*, Edwards y colaboradores., (1980) *Clin. CHm. Acta* 104:161-167; Green (1992) *Anal Biochem.* 201:265-269; Tredget y colaboradores., (1990) *Anal. Biochem.* 190:259-265; Ito y colaboradores., (1985) *Anal. Biochem.* 151:510-514; Garnero y colaboradores. (1998) *J. Biol. Chem* 273:32347-32352).

La fuente de colágeno usada en estos ensayos in vitro se

puede incluir, pero no se limita a, colágeno purificado comercialmente disponible, partículas óseas, piel, cartílago y tendón de cola de rata. La actividad colagenolítica de una enzima degradante de matriz tal como catepsina L se puede estimar al incubar la enzima activada con una suspensión de colágeno insoluble, soluble seguido por la hidrólisis, tal como con HCl. La cantidad de hidroxiprolina derivada del colágeno solubilizado (degradado) se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos, tal como la medición de la absorbencia a 550 nm después de la incubación con el reactivo de Ehrlich. En algunos ejemplo, el agente de colágeno es un explante de piel de rata o de cerdo que se remueve quirúrgicamente de los animales anestesiados, y luego se perfusiona con primero una solución ácida y luego la enzima degradante de matriz, tal como catepsina L (véase *por ejemplo* Ejemplos 3-4, posteriormente). Los niveles de HP en las perfusiones luego se pueden estimar. En una modificación de esta método, el efecto de, por ejemplo, la catepsina L sobre los septos fibrosos en los explantes se puede estimar (véase *por ejemplo,* el Ejemplo 5). Brevemente, después de la perfusión con la enzima degradante de matriz, los explantes se cortan en piezas pequeñas y se incrustan en parafina y se analizan mediante microscopio después de la tinción Tri crome de Masson para la visualización de colágeno. El número de

septos fibrosos de colágeno se puede visualizar y comparar con el tejido que no ha sido tratado con una enzima degradante de matriz.

Los ensayos para detectar la degradación de los colágenos específicos también son conocidos en el campo. Estos ensayos pueden emplear métodos inmunológicos para detectar un producto de degradación único al colágeno específico. Por ejemplo, la degradación del colágeno I por algunas enzimas degradantes de matriz libera telopéptidos con diferentes epítopos que se pueden detectar usando inmunoensayos. Estos ensayos detectan los N-telopéptidos reticulados (NTx) y los C-telopéptidos reticulados (CTx y ICTP), cada uno de los cuales contiene epítopos únicos. Típicamente, los ensayos CTx usan los anticueros CrossLaps (Nordic Biosciences) que reconocen el octapéptido EKAHD-β-GGR de secuencia de 8 aminoácidos, donde el ácido aspártico está en la configuración α-isomerizada, en la región de telopéptidos C-terminal de la cadena α1 (Eastell (2001) Bone Markers: Biochemical and Clinical Perspectives, pg 40). Los inmunoensayos para detectar el ICTP también son conocidos en el campo y se pueden usar para detectar la degradación del colágeno I (Patente de E.U.A. No. 5,538,853). En otros ejemplos, los inmunoensayos, tales como, por ejemplo, ELISAs, se pueden usar para detectar el NTx después de la incubación

del colágeno tipo I con proteasas tales como Catepsinas K, S, L y B (Atley y colaboradores., (2000) Bone, 26:241-247). Otros anticuerpos y ensayos específicos para los colágenos degradados son conocidos en el campo y se pueden usar para detectar la degradación por las enzimas degradantes de matriz. Estos incluyen anticuerpos y ensayos específicos para el colágeno I degradado (Hartmann y colaboradores (1990) *Clin. Chem.* 36:421-426), colágeno II (Hollander y colaboradores (1994) *J. Clin. Invest.* 93:1722-1732), colágeno III (Patente de E.U.A No. 5,34,2756), y colágeno IV (Wilkinson y colaboradores (1990) *Anal. Biochem.* 185:294-6).

b. Ensayos *in vivo*

Los ensayos para detectar la degradación *in vivo* del ECM también son conocidos en el campo. Estos ensayos pueden usar los métodos descritos anteriormente para detectar, por ejemplo, la hidroxiprolina y los N- y C-telopéptidos y los colágenos degradados u otro ECM en muestras biológicas tal como orina, sangre, suero y tejido. La detección del ECM degradado se puede realizar después de la administración al paciente de una o más enzimas degradantes de matriz. La detección de piridinolina (PYD) y desoxipiridinolina (DPYD), también se puede usar para estimar la degradación del colágeno. También conocidas como hidroxilisilpiridinolina y lisilpiridinolina, respectivamente, las PYD y DPYD son las

dos reticulaciones trivalentes no reducibles que estabilizan las cadenas de colágeno de tipo I y se liberan durante la degradación de los fibriles de colágeno maduros. La piridinolina es abundante en el hueso y cartílago, mientras que la desoxipiridinolina se confina grandemente al hueso. El colágeno tipo III también contiene reticulaciones de piridolina en la aminoterminal. Se puede medir la PYD y DPYD total, por ejemplo, en muestras de orina hidrolizadas o suero mediante la detección fluorométrica después de la HPLC de fase inversa (Hata y colaboradores (1995) *Clin. Chimica. Acta*. 235:221-227).

c. Modelos no humanos de animales

Los modelos de animal no humanos se pueden usar para estimar la actividad de las enzimas degradantes de matriz. Por ejemplo, los animales no humanos se pueden usar como modelos para una enfermedad o condición. Los animales no humanos se pueden inyectar con sustancias que inducen a enfermedad y/o fenotipo antes de la administración de las enzimas degradantes de matriz. También son útiles los modelos genéticos. Se pueden generar animales, tales como ratones, los cuales imitan una enfermedad o condición por la sobreexpresión, bajoexpresión o genéticamente deficiente de uno o más genes. Por ejemplo, los modelos de animal son conocidos en el campo para condiciones que incluyen, pero no

se limitan a, Enfermedad de Peyronie (Davila y colaboradores. (2004) *Biol. Reprod.*, 71:1568-1577), tendinosis (Warden y colaboradores., (2006) *Br. J. Sports Med.* 41:232-240) y escleroderma (Yamamoto (2005) *Cur. Rheum. Rev.* 1:105-109).

Los animales no humanos también se pueden usar para someter a prueba la actividad de las enzimas degradantes de matriz *in vivo* en un animal no enfermo. Por ejemplo, las enzimas degradantes de matriz se pueden administrar a, animales no humanos, tal como, un ratón, rata o cerdo, y el nivel de degradación ECM se puede determinar. En algunos ejemplos, los animales se usan para obtener explantes para la estimación *ex vivo* de la degradación ECM, tal como aquella descrita anteriormente y en los Ejemplos 3-5, posteriormente. En otros ejemplos, la degradación ECM se estima vivo. En un ejemplo, la degradación del colágeno de la piel de las ratas anestesiadas se estima (véase *por ejemplo*, el Ejemplo 6 posteriormente). Brevemente, una enzima degradante de matriz, tal como catepsina L en una solución amortiguadora con un pH de 5, se perfusiona por la vía de la inserción de una aguja dentro de la capa dérmica de la piel de la cola. Las fracciones de perfusión se recolectan de la piel de la cola y se analizan para la degradación del colágeno mediante el análisis de hidroxiprolina. Otros métodos se pueden usar para detectar la degradación incluyendo, pero no se limita a,

cualquiera de los ensayos descritos anteriormente, tal como inmunoensayos para detectar los productos de degradación específicos. El efecto de la administración de una solución ácida, tal como la solución amortiguadora que contiene catepsina L que facilita la actividad óptima, a la piel también se puede estimar en un modelo de animal no humano (véase *por ejemplo,* el Ejemplo 7). Los tintes sensibles al cambio del pH, tal como rojo fenol, se puede usar para estos propósitos.

I. Métodos Ejemplares para Tratar Enfermedades o Defectos de ECM

Las enzimas activables que degradan matriz proporcionadas en este documento se pueden usar para el tratamiento de cualquier condición mediada por cualquiera de uno o más componentes ECM. Esta sección proporciona usos ejemplares de, y métodos de administración para, enzimas activables que degradan matriz. Estas terapias descritas son ejemplares y no limitan las aplicaciones de las enzimas. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a, método de tratamiento de cualquier condición o enfermedad ECM que es causada por la expresión de exceso, aberrante o acumulada de cualquiera de uno o más componentes de ECM. Ejemplar de enfermedades o condiciones que se tratan son cualquiera mediada por colágeno, elastina, fibronectina, o un

glicosaminoglicano tal como un proteoglicano. Por ejemplo, ejemplar de enfermedades o desórdenes mediados por colágeno incluyen, pero no se limitan a, celulitis, enfermedad de Dupuytren (también llamada contractura de Dupuytren), enferemdad de Peyronie, hombro congelado, tendinosis crónica o tejido cicatricial de los tendones, escleroderma localizado y linfedema. Está dentro de la experiencia de un médico tratante identificar estas enfermedades o condiciones.

Las enfermedades o condiciones particulares que se tratan dictan la enzima degradante de matriz activable que se selecciona. Por ejemplo, el tratamiento de una enfermedad o desorden mediada por colágeno se puede afectar por la administración de una enzima degradante de matriz que escisa el colágeno. Estas enzimas degradantes de matriz se listan anteriormente en la Tabla 3, y/o son conocidas por una persona de experiencia en el campo. Las enzimas activables que degradan matriz, y sistemas y métodos para la activación se pueden seleccionar por consiguiente para tratar una enfermedad o condición particular. Por ejemplo, las catepsinas de la cisteína y las familias aspárticas se pueden hacer temporalmente activas por las condiciones de pH ácidas como se describe en este documento. De esta manera, en un ejemplo, una catepsina que escisa un colágeno, por ejemplo, catepsina L, se puede administrar en presencia de una

condición de activación, tal como pH ácido, para tratar una enfermedad o condición mediada por colágeno.

El tratamiento de enfermedades y condiciones con enzimas activables que degradan matriz se puede efectuar mediante cualquier vía de administración adecuada que usa formulaciones adecuadas como se describe en este documento que incluyen, pero no se limitan a, inyección subcutánea, administración intramuscular, intradérmica, oral y tópica y transdérmica. Como se describe anteriormente, una vía de administración de enzimas activables que degradan matriz se selecciona típicamente lo que da por resultado la administración bajo la piel directamente al sitio afectado. Ejemplar de estas vías de administración incluyen, pero no se limitan a, subcutánea, intramuscular o intradérmica.

Si es necesario, una dosificación particular y duración y protocolo de tratamiento se pueden determinar o extrapolar empíricamente. Por ejemplo, las dosis ejemplares de las enzimas degradantes de matriz activas recombinantes y nativas o enzimas activables que degradan matriz se pueden usar como un punto de partida para determinar dosificaciones apropiadas. Los niveles de dosificación se pueden determinar con base en una variedad de factores, tal como peso corporal del individuo, salud general, edad, la actividad del compuesto específico empleado, sexo, dieta, tiempo de

administración, velocidad de excreción, combinación del fármaco, la gravedad y curso de la enfermedad, y la disposición del paciente a la enfermedad y al juicio del médico tratante. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales portadores para producir una sola forma de dosificación variará dependiendo de la enzima degradante de matriz particular, el hospedero tratado, el modo particular de administración, y la condición de activación requerida para la activación, y/o la duración de tiempo predeterminado en el cual la activación se desea. La composiciones farmacéuticas deben proporcionar típicamente una dosificación de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Generalmente, las dosis son de o aproximadamente 10 µg/ml a 1 mg/ml, típicamente de manera aproximada 100 µg/ml, por una sola administración de dosificación. Se entiende que la cantidad a administrar será una función de la enzima degradante de matriz activable y la condición de activación seleccionada, la indicación tratada, y posiblemente los efectos secundarios que se tolerarán. Las dosificaciones se pueden determinar empíricamente usando modelos reconocidos para cada desorden. También, como se describe en otra parte en este documento, las enzimas activables que degradan matriz se pueden administrar en combinación con otros agentes secuencialmente, simultáneamente o intermitentemente.

Ejemplares de estos agentes incluyen, pero no se limitan, lidocaína, epinefrina, un agente de dispersión tal como hialuronidasa y combinaciones de los mismos.

En la mejora de la condición de un paciente, una dosis de mantenimiento de un compuesto o composiciones se puede administrar, si es necesario; y la dosificación, forma de dosificación o frecuencia de de administración o una combinación de los mismos se puede modificar. En algunos casos, un sujeto puede requerir tratamiento intermitente sobre una base a largo plazo en cualquier recurrencia de síntomas de enfermedad.

Las descripciones de la participación del colágeno a enfermedades o condiciones mediadas por colágeno se proporcionan posteriormente como un ejemplo de la función de los componentes ECM en diversas enfermedades y condiciones. Estas descripciones se proponen para ser ejemplares únicamente y no se limitan a una enzima degradante de matriz activable particular o a unas enfermedades o condiciones mediadas por ECM particulares. Una persona experta en el campo puede seleccionar una enzima degradante de matriz activable y condición de activación para la activación de la misma, que se usan en el tratamiento de cualquier enfermedad mediada por ECM deseada, con base en la capacidad de una enzima particular a escisar o degradar un componente ECM

implicado en enfermedad o condición particular. El tratamiento y dosificación particulares se pueden determinar por una persona de experiencia en el campo. Las consideraciones al estimar el tratamiento incluyen, por ejemplo, a la enfermedad que se trata, el componente ECM implicado en la enfermedad, la gravedad y curso de la enfermedad, si la enzima degradante de matriz activable se administra para propósitos preventivos o terapéuticos, terapia previa, la historia clínica del paciente y respuesta a la terapia y la discreción del médico de cabecera.

1. Enfermedades o condiciones mediadas por colágeno

El colágeno es un constituyente estructural principal de organismos mamíferos y constituye una gran porción del contenido de proteína total de la piel y otras partes del cuerpo de animal. Numerosas enfermedades y condiciones son asociadas con el exceso de la deposición de colágeno, por ejemplo, debido a la acumulación errática de tejido fibroso rico en colágeno y otras causas. Las enfermedades o condiciones mediadas por colágeno (también referidas como desórdenes de tejido fibrótico) son conocidas por una persona de experiencia en el campo (véase *por ejemplo*, Solicitud de E.U.A. publicada No. 20070224183; Patentes de E.U.A. Nos. 6,353,028; 6,060,474; 6,566,331; 6,294,350). El exceso de colágeno se ha asociado con enfermedades y condiciones, tal

como pero no se limita a, enfermedades o condiciones fibróticas que dan por resultado formación de cicatrices, celulitis, síndrome de Dupuytren, enfermedad de Peyronie, hombro congelado, escleroderma localizado, linfedema, cistis intersticial (IC), Telangrectasa, metaplasia de Barrett, Pneumatosis citoides intestinales, colitis colagenosa. Por ejemplo, las condiciones de desfiguración de la piel, tal como arrugas, formación de celulitis y fibrosis neoplásica resulta de la excesiva de posición de colágeno, lo cual produce el enlace y distorsión no deseada de la arquitectura del tejido normal.

Las enzimas activables que degradan matriz descritas en este documento, que incluyen pero no se limitan a catepsina L, se pueden usar para tratar enfermedades o condiciones mediadas por colágeno. Ejemplares de enzimas activables que degradan matriz para el tratamiento de enfermedades y condiciones descritos en este documento son aquellas que son activas en pH neutro, y requieren condiciones ácidas sostenidas para la actividad. Por ejemplo, la acidificación temporal de la matriz extracelular, tal como el intersticio de la piel, se puede lograr al infundir una solución ácida amortiguada directamente en el sitio afectado. En un ejemplo, una solución ácida amortiguada se puede administrar por la vía de administración del epitelio, es decir bajo la piel,

tal que la administración se efectúa directamente en el sitio donde los componentes ECM están presentes y se acumulan. Se pueden emplear otros métodos de activación, y son conocidos por una persona experta en el campo en vista de las descripciones en este documento.

a. Celulitis

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, que incluyen catepsina L, se pueden usar para tratar celulitis. En tejidos adiposos normales, una malla fina de vasos sanguíneos y vasos linfáticos suministra al tejido con nutrientes necesarios y oxígeno y toma cuidado de la remoción de los productos metabolizados. Por ejemplo, los triglicéridos, se almacenan en adipocitos individuales que se agrupan en lóbulos ricos capilares. Cada lóbulo de grasa está compuesto de adipocitos. Las hebras verticales de fibra de colágeno llamadas septos fibrosos separan los lóbulos de grasa y enlazan la fascia superficial de traslapamiento al músculo subyacente.

La celulitis se caracteriza típicamente por el deterioro dérmico debido a un rompimiento en la integridad del vaso sanguíneo y una pérdida de redes capilares en los niveles dérmicos y subdérmicos de la piel. El deterioro vascular tiende a disminuir el metabolismo dérmico. Este metabolismo disminuido impide la síntesis de la proteína y los procesos

de reparación, lo cual da por resultado adelgazamiento dérmico. La condición se caracteriza además por células de grasa que se llenan en exceso con líquido, hinchándose y aglutinándose conjuntamente, así como también exceso de retención de fluido en las regiones dérmicas y subdérmicas de la piel. La acumulación de glóbulos de grasa o células adiposas crea una necesidad por un suministro de sangre más grande para proporcionar extranutrición. Para proporcionar la sangre a los tejidos, se forman nuevos capilares, los cuales liberan más material filtrado que resulta en una saturación de tejidos con fluido intersticial que causa edema en los tejidos adiposos. Las fibras reticulares abundantes en los tejidos intersticiales se acumulan y se espesan alrededor de las células adiposas agregadas; forman cápsulas o septos, los cuales se transforman gradualmente en fibras de colágeno y se sienten como nódulos. La formación de estos septos ocluye además las células de grasa. Las fibras de colágeno también se sitúan en los espacios de tejido intersticial, volviendo el tejido conjuntivo esclerótico (duro).

Por consiguiente, conforme la condición progresa adicionalmente, los nódulos duros de las células de grasa y los aglutinamientos de grasa circundados por los septos se forman en la región dérmica. Esto conduce a que la superficie de la piel muestre heterogeneicidad considerable y se

caracteriza por tener una apariencia "de queso cottage" o "cáscara de naranja". La formación de hoyuelos ocurre cuando los septos fibrosos que conectan la piel a la dermis y las capas de tejido más profundas tensan y jalan la piel. De esta manera, la apariencia de "cáscara de naranja" de la celulitis es debido a la deformación de los lóbulos de grasa como resultado de fuerzas exteriores sobre el tejido adiposo. Los lóbulos de grasa pueden ser grandes, por ejemplo de hasta 1 cm de ancho, y sobresalen fácilmente dentro de la dermis superpuesta, que causa una deformación visible sobre la superficie de la piel. El resultado neto es la apariencia ondulante de la piel exterior conforme la grasa empuja hacia arriba. Conforme los septos conjuntivos corren en la misma dirección como estas fuerzas hacia afuera, no pueden ofrecer fuerza contraria para mantener el tejido adiposo de que sobresalga en la dermis.

La celulitis es más prevalente entre mujeres que en hombres. La prevalencia de la celulitis se estima entre 60% y 80% de la población femenina y su gravedad tiende a empeorarse con la obesidad. Recientemente, un estudio publicado mostrado por la formación de imágenes de resonancia magnética *in vivo* que las mujeres con celulitis tienen un porcentaje más alto de septos fibrosos perpendiculares que mujeres con celulitis u hombres (Querleux y colaboradores,

(2002) *Skin Research and Technology*, 8:118-124). La celulitis ocurre más frecuentemente en las caderas, muslos y brazos superiores. Por ejemplo, las mujeres premenopaúsicas tienden a acumular grasa subcutáneamente, principalmente en las áreas del glúteo/muslos donde la celulitis es más común. Clínicamente, la celulitis está acompañada por síntomas que incluyen adelgazamiento de la epidermis, reducción y rompimiento de la microvasculatura que conduce a acumulaciones subdérmicas de fluidos, y aglomeraciones subdérmicas de tejidos adiposos.

b. Enfermedad de Dupuytren

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar el síndrome de Dupuytren (también llamado contractura de Dupuytren). La contractura de Dupuytren (también conocida como Morbus Dupuytren) es una contractura de flexión fija de la mano donde los dedos se doblan hacia la palma y no se pueden extender completamente. Una lesión similar ocurre algunas veces en los pies. El tejido conjuntivo dentro de la mano se vuelve anormalmente grueso y es acompañado con la presencia de nódulos que contienen fibroblastos y colágeno, particularmente de tipo III. El colágeno es intercala frecuentemente con un arreglo similar a septos de tejido adiposo. Estos se presentan clínicamente como "bultos" de

tipo de colchón de tamaño variante y en la enfermedad de Dupuytren son llamados nódulos. Esto puede causar que los dedos se doblen y puede dar por resultado una función deteriorada de los dedos, especialmente los dedos meñique y anular. La enfermedad de Dupuytren ocurre predominantemente en hombres. Se encuentra generalmente en personas de edad media y de edad avanzada, aquellos de ascendencia europea del norte y en aquellos con ciertas enfermedades crónicas tales como diabetes, alcoholismo y tabaquismo.

La enfermedad de Dupuytren es una enfermedad lentamente progresiva que ocurre a través de muchos años causando deformidades de flexión fijas en las articulaciones metacarpofalángicas (MP) y interfalángicas próximas (PIP) de los dedos. Los dedos meñique y anular son los más frecuentemente afectados. La enfermedad progresa a través de tres etapas (Luck y colaboradores. (1959) *J. Bone Joint Surg.*, 41 A:635-664). La etapa proliferativa inicial se caracteriza por la formación de nódulos en la facia palmar en la cual una célula conocida como el miofibroblasto se presenta y comienza a proliferar. La etapa involucional o de enfermedad media implica la proliferación de miofibroblastos y la formación de colágeno de tipo III activo. En la última fase o fase residual, el nódulo desaparece dejando tejido acelular y bandas gruesas de colágeno. La relación de

colágeno de tipo III a colágeno de tipo I se incrementa. El tratamiento de la enfermedad de Dupuytren con una enzima degradante de matriz activable está típicamente en las etapas de enfermedad media y de enfermedad residual.

c. Enfermedad de Peyronie

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar la enfermedad de Peyronie. La enfermedad de Peyronie es un desorden de tejido conjuntivo que implica el crecimiento de placas fibrosas en el tejido blando del pene que afecta tanto como 1-4% de hombres. El colágeno es el componente principal de la placa en la enfermedad de Peyronie. Específicamente, el proceso fibrosante ocurre en la túnica albugínea, una envoltura fibrosa que circunda el penile corpora cavernosa. El dolor y la desfiguración asociados con la enfermedad de Peyronie se relaciona con la estructura física del pene en el cual se encuentran dos barras eréctiles llamadas la corpora cavernosa, un conducto (la uretra) a través de la cual la orina fluye de la vejiga, y la túnica que separa la cavernosa de las capas exteriores de la piel del pene. Una persona que exhibe la enfermedad de Peyronie tendrá formación(es) de placa o tejido cicatrizante entre la túnica y estas capas exteriores de la piel (referidas como "sub-dérmicas" en esta solicitud). La

cicatrización o acumulación de placa de la túnica reduce su elasticidad tal que causa en el área afectada, no se estirará al mismo grado (en todo caso) como los tenidos no afectados, circundantes, de esta manera, el pene erecto se dobla en la dirección de la cicatriz o acumulación de placa, frecuentemente con dolor asociado de algún grado. En todas las manifestaciones menores de la enfermedad de Peyronie, el paciente tiene algún grado de disfunción sexual. En casos más graves, la relación sexual es ya sea imposible, o es muy dolorosa como para ser efectivamente prohibitiva.

La evidencia empírica indica una incidencia de la enfermedad de Peyronie en aproximadamente uno por ciento de la población masculina. Aunque la enfermedad ocurre principalmente en hombres de edad media, los hombres más jóvenes y de más edad pueden adquirirla. Aproximadamente 30 por ciento de hombres con enfermedad de Peyronie también desarrollan fibrosis (células endurecidas) en otros tejidos elásticos del cuerpo, tal como sobre la mano o pie. Ejemplos comunes de estas condiciones incluyen contractura de Dupuytren de la mano y Fibrosis de Ledderhose del pie.

d. Fibrosis de Ledderhose

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar la fibrosis de Ledderhose. La fibrosis de Ledderhose

es similar a la enfermedad de Dupuytren y la enfermedad de Peyronie, excepto que la fibrosis debido a la proliferación de fibroblastos y deposición de colágeno ocurre en los pies. La enfermedad de Ledderhose se caracteriza por fibrosis y plantar sobre la planta media del pie, y es algunas veces referida como fibrosis plantar.

e. Articulaciones rígidas

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar articulaciones rígidas, por ejemplo, hombro congelado. El hombro congelado (capsulitis adhesiva) es una condición fibrosante crónica de la cápsula de la articulación caracterizada por dolor y pérdida de movimiento o rigidez en el hombro. Afecta aproximadamente 2% de la población general. El hombro congelado resulta de la síntesis de la matriz de fibroblastos incrementada. La síntesis es causada por una respuesta inflamatoria excesiva que da por resultado la sobreproducción de citocinas y factores de crecimiento. Los fibroblastos y miofibroblastos depositan una matriz densa de colágeno en particular, colágeno de tipo I y tipo III dentro de la cápsula del hombro. Esto da por resultado una cápsula de hombro contraída cicatrizada y causa la rigidez de la articulación.

Otros ejemplos de articulaciones rígidas incluyen, pero

no se limitan a, aquellos causados por contracturas capsulares, capsulitis adhesiva y artrofibrosis, las cuales resultan de la cirugía musculoesquelética. Estas articulaciones rígidas pueden ocurrir en articulaciones que incluyen, por ejemplo, articulaciones de las rodillas, hombros, codos, tobillos y caderas. Similar al hombro congelado, estas enfermedades articulares son causadas por síntesis de matriz incrementada y formación de cicatrices. Las articulaciones rígidas pueden causar inevitablemente que se transmitan fuerzas anormalmente altas al cartílago articular al área afectada. A través del tiempo, estas fuerzas dan por resultado el desarrollo de enfermedad y artritis articular degenerativa. Por ejemplo, en la artrofibrosis y la contractura capsular, los fibroblastos forman cantidades excesivas de matriz en respuesta a un trauma local, tal como dislocación de la articulación.

f. Cicatrices existentes

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar cicatrices existentes. El colágeno es particularmente importante en el proceso de sanación de heridas y en el proceso de envejecimiento natural, donde se produce por las células de fibroblasto. En algunos casos, sin embargo, una respuesta de sanación exagerada puede dar por resultado la

producción de cantidades copiosas de tejido de sanación (sustancia fundamental), también llamado tejido cicatrizante. Por ejemplo, varios traumas de la piel tales como quemaduras, cirugía, infección, heridas y accidentes son frecuentemente caracterizados por la acumulación errática de tejido fibroso rico en colágeno. También existe frecuentemente un contenido de proteoglicano incrementado. Además del reemplazo del tejido normal que se ha dañado o destruido, los depósitos excesivos de desfiguración de nuevo tejido se forman algunas veces durante el proceso de sanación. El exceso de deposición de colágeno se ha atribuido a una interrupción en el equilibrio entre la síntesis del colágeno y la degradación del colágeno. Se incluyen entre las cicatrices, por ejemplo, la tendinosis crónica o tejido cicatrizante de los tendones, adhesiones quirúrgicas, queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices deprimidas.

i. Adhesiones quirúrgicas

Las adhesiones quirúrgicas son uniones de órganos o tejidos entre sí a través de la formación de cicatrices, lo cual puede causar problemas graves clínicos. La formación de algún tejido cicatrizante después de la cirugía o lesión de tejido es normal. En algunos casos, sin embargo, el tejido cicatrizante hace sobrecercer la región de la lesión y crea adhesiones quirúrgicas, lo cual tiende a restringir la

movilidad y función normal de las partes corporales afectadas. En particular, la proliferación de fibroblastos y la síntesis de matriz se implementan localmente después de esta lesión del tejido blando. Las adhesiones luego se forman cuando el cuerpo intenta reparar el tejido al inducir una respuesta de sanación. Por ejemplo, este proceso de sanación puede ocurrir entre dos o más estructuras separadas de otra manera sanas (tal como entre las asas del intestino después de una cirugía abdominal). Alternativamente, después del trauma local a un nervio periférico, se pueden formar adhesiones fibrosas, dando por resultado dolor severo durante el movimiento normal.

ii. Queloides

Los queloides son cicatrices de tejido conjuntivo que contienen masas hiperplásicas que ocurren en la dermis y el tejido subcutáneo adyacente, más comúnmente después del trauma. Los queloides son generalmente nódulos fibrosos que pueden variar en color de rosa a rojo a café obscuro. Los queloides se forman en el tejido cicatrizante como resultado del sobrecrecimiento del colágeno, el cual participa en la reparación de la herida. Las lesiones queloides se forman cuando los fibroblastos de la piel local se someten a hiperplasia vigorosa y proliferación en respuesta a los estímulos locales. La lesión resultante puede dar por

resultado en un bulto muchas veces más grande que la cicatriz original. Además de ocurrir como un resultado de la herida u otro trauma, los queloides también pueden formarse de perforaciones, barros, un rasguño, acné severo, cicatrización de varicela, infección en un sitio herido, trauma repetido a un área, una tensión de la piel excesiva durante el cierre de la herida.

iii. Cicatrices hipertróficas

Las cicatrices hipertróficas son cicatrices elevadas que se forman en el sitio de las heridas. Generalmente no crecen más allá de los límites de la herida original. Como las cicatrices queloides, las cicatrices hipertróficas son un resultado del colágeno de sobreproducción corporal.

iv. Cicatrices deprimidas

Las cicatrices deprimidas resultan generalmente de un episodio inflamatorio y son caracterizadas por contracciones de la piel, y dejan una cicatriz desagradable cosméticamente y permanente. El ejemplo más común es la cicatrización que ocurre después del acné inflamatorio. La depresión ocurre como una consecuencia normal de la sanación de la herida, y el tejido cicatrizante que causa la depresión está constituido predominantemente de colágeno que resulta de la proliferación de fibroblastos y el metabolismo.

g. Escleroderma

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar escleroderma. El escleroderma se caracteriza por un engrosamiento del colágeno. La forma más común de la enfermedad, escleroderma localizado, afecta únicamente la piel, usualmente en solo pocos lugares, y algunas veces la cara. Algunas veces es referido como síndrome CREST. Los síntomas incluyen endurecimiento de la piel y cicatrización asociada. La piel también se presenta rojiza o escamosa, y los vasos sanguíneos pueden ser más visibles. En casos más serios, el escleroderma puede afectar los vasos sanguíneos y los órganos internos. El escleroderma difuso puede ser fatal como resultado de daño al corazón, riñones, pulmones o intestinales, debido a complicaciones musculoesqueléticas, pulmonares, gastrointestinales, renales y otras complicaciones.

La condición es caracterizada por la acumulación de colágeno que conduce a la pérdida de elasticidad. La sobreproducción de colágeno se ha atribuido a la disfunción autoinmune, que da por resultado la acumulación de células T y la producción de citocinas y otras proteínas que estimulan la posición de colágeno de los fibroblastos.

h. Linfedema

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como

aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar linfedema. El linfidema es una acumulación de fluido linfático que causa hinchamiento en los brazos y piernas. La linfidema puede progresar para incluir cambios en la piel tales como, por ejemplo, fibrosis linfostática, esclerosis y papilomas (tumores de la piel benignos) e hinchamiento. Estos cambios asociados con la linfidema incluyen la proliferación de células de tejido conjuntivo, tales como fibroblastos, producción de fibras de colágeno, incremento en los depósitos de grasa en los cambios fibróticos. Estos cambios ocurren primero en las extremidades inferiores, es decir los dedos y dedos del pie. La linfedema se puede identificar con base en el grado de agrandamiento de las extremidades. Por ejemplo, un método para estimar al linfedema se basa en la identificación de las diferencias de 2 cm o 3 cm entre cuatro puntos comparativos de las extremidades implicadas y no implicadas.

i. Colitis colagenosa

Las enzimas activables que degradan matriz, tales como aquellas descritas en este documento, se pueden usar para tratar colitis colagenosa. La colitis colagenosa primero se describió como diarrea acuosa crónica (Lindstrom y colaboradores. (1976) Pathol. Eur., 11:87-89). La colitis colagenosa se caracteriza por la deposición de colágeno, que

resulta probablemente de un desequilibrio entre la producción de colágeno por los fibroblastos de la mucosa y la degradación del colágeno. Da por resultado diarrea secretora. La incidencia de la colitis colagenosa es similar a la cirrosis biliar primaria. La enfermedad tiene una incidencia anual de 1.8 por 100,000 y una prevalencia de 15.7 por 100,000, lo cual es similar a la cirrosis biliar primaria (12.8 por 100,000) y más baja que la colitis ulcerativa (234 por 100,000), enfermedad de Crohn (146 por 100,000) o enfermedad celiaca (5 por 100,000). En pacientes con diarrea crónica, aproximadamente 0.3 a 5% tienen colitis colagenosa. La colitis colagenosa es una enfermedad inflamatoria que da por resultado la producción incrementada de citocinas y otros agentes que estimulan la proliferación de fibroblastos, dando por resultado la acumulación incrementada de colágeno.

2. Patologías Vertebrales

Las enfermedades de ECM o que implican el ECM también incluyen patologías vertebrales, referidas típicamente como disco permeado o discos abultados, que se pueden tratar usando los métodos en este documento. Estos incluyen discos protruidos y extruidos. Un disco protruido es uno que está intacto pero abultado. En un disco extruido, la envoltura fibrosa se ha desgastado y el núcleo pulposo (NP) se ha exudado, pero aún está conectado al disco. Mientras que el NP

no es la causa de la herniación, el NP contribuye a la presión sobre los nervios causando dolor. El NP contiene ácido hialurónico, condrocitos, fibrillas de colágeno y proteoglican agrecanos que tienen cadenas largas hialurónicas las cuales atraen agua. Unidas a cada cadena hialurónica están las cadenas laterales de sulfato de condroitina y sulfato de queratan.

Los discos herniados se han tratados con fármacos quimionucleolíticos, tal como quimopapaína y una colagenasa, típicamente por la introducción local del fármaco en el disco. Un fármaco quimionucleolítico degrada uno o más componentes del NP, disminuyendo en consecuencia la presión. La quimionucleolisis es efectiva en los discos protruidos y extruidos. La la quimionucleolisis se ha usado para tratar hernias vertebrales lumbares (más bajas) y cervicales (vertebras superiores). Para los métodos en este documento, cualquier enzima que degrade un componente del NP y que se active acondicionadamente se puede administrar. Estas enzimas incluyen catepsina L. Además, cualquiera de las hialuronidasas, colagenasas, condroitinasas que no son acondicionadamente activables, se pueden modificar para volverlas así. Por ejemplo, las enzimas sensibles a la temperatura, como se describe en este documento, que incluyen MMPs modificadas, tal como MMP-1 modificada como se describe

en este documento se pueden emplear los métodos en este documento.

J. EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se incluyen para propósitos ilustrativos únicamente y no se proponen para limitar el alcance de la invención.

EJEMPLO 1

Preparación de la Catepsina-L Recombinante Activada

La catepsina-L humana recombinante purificada etiquetada con histidina (His) se compró de R&D systems (Minneapolis, MN. Cat# 952-CY) y se formuló en una concentración de 0.9 mg/mL en Acetato 50 mM, pH 4.0, NaCl 100 mM. Las alícuotas de 500 µL se almacenaron a -80°C hasta que se usaron.

La concentración e intercambio de solución amortiguadora se realizaron en alícuotas almacenados antes del uso. Brevemente, 2 mL de 0.9 mg/mL de catepsina-L se descongelaron sobre hielo y 500 µL se transfirieron a 4 tubos de membrana de filtro de centrífuga microcon que tienen 30 KDa de corte (Millipore; Bedford, MA, Cat#42410). Los tubos microcon se hicieron girar a 9000 rpm durante 5 minutos dando por resultado un volumen final de 50 µl. 450 µL de solución amortiguadora de concentración fría (Na-Formiato 100 mM pH 4, NaCl 100 mM, DTT 5 mM, EDTA 10 mM) se agregó a cada tubo micron. La adición de DTT 5 mM durante el procesamiento

convierte la catepsina-L a una sola proteína de cadena de aproximadamente 36 KDa como se estima por el SDS-PAGE. Las etapas de intercambio de intercambio de concentración y solución amortiguadora remueven el propéptido 10-16 KDa inhibidor. Además, el DTT y EDTA se agregaron durante la concentración y el intercambio de solución amortiguadora minimiza la degradación proteolítica de la catepsina-L. El procedimiento de centrifugación se repitió tres veces. Los tubos y las soluciones de concentración se enfriaron para minimizar la degradación, puesto que la catepsina-L es sensible a la temperatura. Después del giro final, los tubos microcon se invirtieron y el líquido se recolectó en el vaso de retención mediante centrifugación a 5000 rpm durante 5 minutos. El volumen final recuperado fue de 400 µL, dando por resultado una concentración de cinco veces. La catepsina-L concentrada se repartió en alícuotas en volúmenes de 67 µL, las cuales contuvieron aproximadamente 300 µg de enzima activada. Las alícuotas se almacenaron a -80°C, y se descongelaron sobre hielo antes del uso.

Antes del uso, la catepsina-L se formuló en su pH óptimo de 5 al agregar una alícuota a 3 mL de solución amortiguadora de MES (ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico) en pH 5, dando por resultado una concentración final de 100 µg/mL de catepsina-L activada. Como un control, la catepsina-L se

formuló en solución amortiguadora HEPES a pH 7.4 donde la enzima es mínimamente activa.

Ejemplo 2

Ensayo de Hidroxiprolina

Un ensayo de hidroxiprolina se usó para medir los cambios del contenido de colágeno en las muestras de piel después de la perfusión con catepsina-L. Mientras que el contenido de hidroxiprolina de otras proteínas es insignificante, el colágeno contiene hidroxiprolina en una concentración de 8% (TV. Burjanadze, Hydroxyproline content and location in relation to collagen thermal stability. Biopolymers 18: 4931-4938 (2002)). El ensayo de hidroxiprolina (HP) usado fue una modificación del procedimiento de Reddy y Enwemeka (Clinical Biochemistry 29:225-229 (1996)).

En particular, los volúmenes de los reactivos se modificaron para finalización de la reacción en tubos franja de 0.2 mL de 8 pocillos (Brandtech, Essex, CT) en un termociclador estándar thermocycler (Eppenforf Mastercycler, Westbury, NY). Todas las etapas que incluyen hidrolización, acidificación y detección con el reactivo de Ehrlich se llevaron a cabo en los tubos de 0.2 mL. Todos los productos químicos se compraron de Sigma (St. Louis, MO). Brevemente, las muestras perfundidas de los experimentos de perfusión se

extrajeron mediante precipitación con 5 volúmenes de 200 de etanol de prueba y se centrifugaron. Los volúmenes del perfundido recolectado se midieron usando pipetas de 1 mL o 200 µL. Los perfundidos se transfirieron a tubos de centrífuga cónicos de 15 mL etiquetados. Las mezclas de perfundido de etanol se almacenaron en un congelador a -80°C durante 30 minutos antes de ser centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga de cubo oscilante Eppendorf. Después de la centrifugación, el precipitado se disolvió en 150-400 µL de NaOH 2N dependiendo del tamaño de la pelotilla. El sobrenadante se secó en un liofilizador, y se disolvió en 150-200 µL de NaOH 2N. Después de la disolución en NaOH, las muestras se transfirieron a tubos franja de 8 pocillos en un volumen de 200 µL o menos por tubo y se hidrolizaron a 99°C durante 12 horas en un termociclador para permitir la hidrólisis completa del colágeno y la liberación de la hidroxiprolina. Las muestras ses acidificaron con HCl concentrado (5.2 µL de HCl por cada 25 µL de muestra hidrolizada). 60 µL de cloramina-T (Sigma; Cat# C9887) se agregaron a un volumen igual de hidrolizado acidificado para completar la oxidación de la hidroxiprolina. Después de la oxidación completa, 120 µL de reactivo de Ehrlich (Sigma, Saint Louis, MO, Cat# 39070(Fluka)) se agregaron y se incubaron a 65°C durante 25 minutos, dando por

resultado un color purpura. La intensidad de la coloración es dependiente de la cantidad de la hidroxiprolina derivada del colágeno derivada del perfundido. Las muestras se leyeron en el intervalo visible a 550 nm en un lector de placas Spectramax 2E^{MR} (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Una curva estándar se estableció usando una solución de hidroxiprolina purificada (Sigma, Saint Louis, MO, Cat# H54409), y el contenido de hidroxiprolina en las muestras de la piel se determinaron a partir de la curva estándar.

Ejemplo 3

Degradación del Colágeno por la Perfusión de Explantes de Piel de Rata Ex Vivo con Catepsina-L Activada

Explantes de piel (2 cm x 2 cm) se removieron quirúrgicamente del sitio dorsolateral de ratas Sprague-Dawley macho de tres meses de edad (Harlan Sprague Dawley, Indianapolis, IN) anestesiadas con isofluorano al 2%. Los explantes se inmovilizaron con agujas a una almohadilla Styrofoam^{MR} adherida con pegamento a una caja de petri de 100 mm y se mantuvieron a 37°C con una almohadilla térmica. Usando una bomba de infusión (Thermo Orion, model M361, Boston, MA), 6 mL de una solución que contiene solución amortiguadora MES (ácido 2-(N-morfolino-etanosulfónico) en pH 5 y rHuPH20 en 2500 Unidades/mL (manufactura interna de Halozima rHuPH20 lote # 056-100; actividad específica:

124,000 U/mL y contenido de proteína de 1.05 mg/mL) primero se perfusionaron durante 35 minutos a través de los explantes de piel por la vía de una aguja de mariposa de calibre 27 insertada dentro de la capa dérmica de los explantes. Después de la finalización de la perfusión ácida, los explantes de piel se perfusionaron durante aproximadamente 30 minutos con o sin 100 µg/mL de catepsina-L activada en solución amortiguadora MES, pH 5 o catepsina-L de control en solución amortiguadora HEPES, pH 7.4. Las fracciones se recolectaron al aspirarlas con una micropipeta de 200 µL y al recolectar los contenidos en tubos Eppendorf 1.5 mL en intervalos de tiempo de 5-10 minutos durante el procedimiento de perfusión completo. Las fracciones se acumularon en tubos Eppendorf y se congelaron rápidamente hasta que el análisis de hidroxiprolina (HP) se realizó como se describe en el Ejemplo 2.

Los resultados de tres experimentos diferentes muestran que los niveles HP se incrementaron significativamente únicamente en las muestras perfusionadas con catepsina-L activada en el pH óptimo de 5. Los niveles de HP promedio (n=3) se incrementaron de menor que 1 µg/mL del perfusionado a aproximadamente 6 minutos a más de 30 µg/mL de perfusionado a aproximadamente 30 minutos. Nada o poco HP se midió en los perfusionados de las infusiones con solución amortiguadora

MES de pH 5 únicamente; la solución amortiguadora HEPES de pH 7.4 únicamente; y la catepsina-L de control en pH 7.4.

Ejemplo 4

Degradación del Colágeno Mediante la Perfusión de los Explantes de Piel de Cerdo Ex Vivo con Catepsina-L Activada

Cerdos Yorkshire hembras de tres meses de edad (S y S Farm, Ramona, CA) se mantuvieron en ayudas durante toda la noche y se anestesiaron mediante inyección intramuscular de quetamina (20 mg/kg)/Xilazina (2 mg/kg) y atropina (0.04 mg/kg). Los animales luego se intubaron y la anestesia se mantuvo con isoflurano inhalado al 2% (Baxter, Deerfield, IL) en oxígeno (Airgas, San Diego, CA). Los explantes de piel completos (5 cm x 5 cm) se removieron quirúrgicamente de la espalda de los animales, se colocaron en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) a 4°C, y se usaron dentro de 2 horas después de la escisión. La perfusión de los explantes y el análisis de hidroxiprolina se llevaron a cabo esencialmente como se describe en el Ejemplo 3, excepto que los explantes de piel de cerdo se perfusionaron con solución amortiguadora MES de pH 5, o solución amortiguadora MES de pH 5 que contiene 100 µg/ml de catepsina-L sin PH20. Inicialmente, los explantes, se perfusionaron con 6 mL de solución amortiguadora MES de pH 5 durante aproximadamente 30 minutos, y las fracciones se recolectaron cada 5-10 minutos.

Después, los explantes se perfusionaron con 3 mL de 100 µg/ml de catepsina-L en solución amortiguadora MES de pH 5 o solución amortiguadora sola como un control recolectadas cada 5 minutos durante aproximadamente 25 minutos. El análisis HP mostró un incremento dependiente de tiempo en los niveles HP en las muestras perfusionadas con catepsina-L. El HP no detectable podría ser medido en las muestras perfusionadas con solución amortiguadora MES de pH 5 sin la catepsina-L. Los niveles más altos de HP se midieron en el tiempo de 15 minutos. Los niveles HP medidos en 25 minutos fueron similares a aquellos medidos en 15 minutos.

Ejemplo 5

Disminución en los Septos Fibrosos en el Espacio Subcutáneo Mediante la Perfusión de Explantes de Cerdo con Catepsina-L Activada

Los explantes de piel de cerdo se procesaron esencialmente como se describe en el Ejemplo 4 mediante la perfusión con solución amortiguadora MES, pH 5 que contiene 2500 U/mL de rHuPH20, a una velocidad de 0.17 mL por minuto durante 30 minutos, seguido por la perfusión con 3 mL de 100 µg/ml de catepsina-L en solución amortiguadora MES de pH 5 sn rHuPH20 a 0.12 mL/minutos durante 25 minutos. Después de la infusión con catepsina-L, los explantes se recortaron en piezas pequeñas que se fijaron en formalina amortiguada al 4%

durante toda la noche. Los explantes de cerdo no tratados de control se procesaron similarmente. Los tejidos se lavaron en PBS, se deshidrataron en soluciones de etanol y xileno graduadas, y se incrustaron en parafina. Los bloques que se cortaron en secciones delgadas de 4 µm que se transfirieron a portaobjetos de microscopio y se tiñeron con tinción Trichrome de Masson para la visualización del colágeno. Brevemente, las secciones se desparafinizaron, se hidrataron en agua destilada y se trataron con mordiente en solución de Bouin (Sigma, Cat #HT10-132) durante 15 a 30 minutos a 56°C. Las secciones se enfriaron y se lavaron en agua corriente hasta que el color amarillo desapareció y se enjuagaron en agua destilada. Las secciones luego se tiñeron en solución de Trabajo de Hetatoxilina de Hierro de Weigert (Sigma Cat # HT107 y HT109) durante 5 minutos y se lavaron en agua corriente durante 10 minutos. Las secciones se lavaron en agua desionizada durante 5 minutos y se colocaron en Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin (Sigma, Cat # HT151) durante 5 minutos. Las secciones se transfirieron a la solución de ácido Fosfotungstico/Fosfomolibdico de Trabajo (Sigma Cat # HT1 52 y HT1 53) y finalmente se tiñeron en Solución Azul de Anilina (Sigma Cat # HT154) durante 5 minutos y se diferenciaron en ácido acético al 1% durante 2 minutos. Las secciones se enjuagaron en agua destiladas, se deshidrataron en alcohol a

95% y alcohol absoluto, y se clarificaron en xileno con dos cambios. Las secciones se montaron y se observaron en un microscopio invertido Nikon. Las imágenes se obtuvieron usando un objetivo 20x en un microscopio fluorescente Nikon acoplado a un escáner de cámara (Diagnostic Instrument Inc., Sterling Alturas, MI) que contiene el programa de formación de imágenes avanzado SPOT.

La hipodermis contiene predominantemente tejido adiposo. Las hebras de tejido conjuntivo densas hechas de septos fibrosos de colágeno se extienden desde la profundidad de la dermis en la hipodermis y anclan la piel a las estructuras adyacentes. Los resultados de la histología muestran que los septos fibrosos que separan las cámaras de células de grasa son visibles por toda la epidermis en la muestra no tratada. Después del tratamiento con catepsina-L en la solución amortiguadora MES, pH 5, el número de septos fibrosos de colágeno fue sustancialmente más bajo que en las muestras no tratadas, indicando que el tratamiento con catepsina-L altera notablemente la organización de la red de colágeno en la hipodermis.

Ejemplo 6

A. Degradación del Colágeno en la Piel de Ratas Anestesiadas Vivas

Se realizaron experimentos de perfusión en ratas

Sprague-Dawley macho de tres meses de edad (Harlan Sprague-Dawley, Inc. Indianapolis, IN) mantenidas bajo anestesia de isofurano al 2%. Los experimentos de perfusión se realizaron usando catepsina-L a pH 5, y como un control para la especificidad, en solución amortiguadora HEPES en pH 7.4. Brevemente, usando una bomba de infusión, aproximadamente 15 mL de una solución que contiene ya sea solución amortiguadora MES 25 de pH 5, o solución amortiguadora HEPES 25 mM de pH 7.4, y 2500 Unidades/ml de rHuPH20 (manufactura interna de Halozima lote # 056-100 con actividad específica de 124,000 U/mL y contenido de proteína de 1.05 mg/mL), primero se perfusionaron durante aproximadamente 60 minutos por la vía de la piel de la cola usando una aguja de mariposa de calibre 27 insertada en la capa dérmica de la piel. Después 3 mL de solución que contiene catepsina-L o control de solución amortiguadora se perfusionaron durante 25 minutos. Las soluciones de perfusión que contienen Cat-L contuvieron 100 µg/mL de Cat-L activado ya sea en su pH óptimo de 5 en MES 5 mM o en el pH de 7.4 en HEPES 20 mM. La resistencia iónica de la solución amortiguadora de pH 5 se redujo de 25 mM a 5 mM para facilitar la neutralización del pH por el medio ambiente del tejido local y limitan en consecuencia la propagación de la enzima activa. En caso de Cat-L en la solución amortiguadora HEPES en pH 7.4 una resistencia iónica de por

lo menos 20 mM se mantuvo para asegurar que el Cat-L agregado, activado y formulado en una solución amortiguadora de alta consistencia iónica en pH 4, no alteraría sustancialmente el pH de la solución amortiguadora HEPES (pH7.4). Una alícuota pequeña de Cat-L agregada al HEPES 20 mM de pH 7.4 se verificó con papel de pH para asegurar que ese pH resultante, después de que el Cat-L se había agregado, de hecho se acercó al pH 7.4. Las soluciones de control amortiguadoras usadas para la perfusión fueron MES 5 mM de pH 5 o HEPES 20 mM de pH 7.4, sin enzimas agregadas. Las fracciones perfusionadas se recolectaron de la piel de la cola en intervalos de tiempo regulares, es decir en 20, 40 y 60 minutos durante la perfusión inicial y en 8 y 25 minutos durante la perfusión con Cat-L. Las fracciones se acumularon en tubos Eppendorf y se congelaron rápidamente para evitar la acción enzimática adicional. El análisis de hidroxiprolina se realizó como se describe en el Ejemplo 2. Los resultados muestran que la HP se podría medir únicamente en las muestras perfusionadas con catepsina-L activada. Los niveles más altos de HP se midieron en las muestras perfusionadas de 25 minutos. No hubo HP detectable en las muestras perfusionadas con solución amortiguadora MES de pH 5 únicamente, o con solución amortiguadora HEPES de pH 7.4 únicamente, o con catepsina-L en la solución amortiguadora HEPES de pH 7.4.

B. Tratamiento con Catepsina-L Conduce a la Degradación del Colágeno Dependiente de pH *in vitro*

Las catepsinas B, D, L y S y la colagenasa bacteriana se estimaron para la degradación hacia el colágeno de rata a pH 5.0 y pH 8.0. Las catepsinas B, D, L y S se compraron de R&D systems y cada enzima se activó con base en las especificaciones individuales de la manufactura de enzimas. La colagenasa bacteriana se compró de Sigma Chemicals, y no requiere activación. El colágeno de Tipo I soluble de cola de rata se digirió durante 1 hora a 37°C mediante incubación con catepsina B, D, L o S activada o colagenasa bacteriana, en las soluciones amortiguadoras especificadas de la manufactura o en solución salina amortiguada de pH 8.0 Tris, seguido por geles SDS-Page y tinción Azul Coomassie. Otras catepsinas no se sometieron a prueba a pH 5, pero en pH y solución amortiguadora especificada de la manufactura. Los resultados muestran que la catepsina-L fue la única enzima que estuvo activa en pH 5.0, pero no en pH 8.0. Las catepsinas B, D y S mostraron alguna ligera degradación del colágeno de rata en el pH especificado de la manufactura y sin degradación del colágeno de rata en pH de 8.0, mientras que la colagenasa bacteriana degradó el colágeno de rata en tanto pH 5.0 como pH 8.0.

Ejemplo 7

A. Regreso de la Neutralidad Después de la Acidificación de la Piel en una Rata Viva

Cuando una solución de ácido acuoso diluido se inyecta en el intersticio de la piel, el cambio en el pH es temporal y el pH neutro de la piel se restara rápidamente debido a la capacidad amortiguadora significativa del intersticio. Se usó rojo fenol como un indicador visual del pH intersticial. La sal de sodio del rojo fenol se susa ampliamente en el medio de cultivo de células para identificar los cambio de los valores de pH de neutro a ácido. Una solución de rojo fenol tiene un color amarillo en un pH de 6.4 o abajo, color anaranjado en pH 7.0, color rojo en pH 7.4 y arriba, color purpura en pH 7.8.

Ratas Sprague-Dawley macho de tres meses de edad (Harlan Sprague Dawley, Indianapolis, IN) se mantuvieron bajo anestesia de isofluorano al 2%. La piel se afectó para fácil visualización del tinte rojo de fenol. 2-2.5 mL de MES 25 mM, pH 5 que contiene 500 U/ml de rHuPH20 se perfusionaron en la piel de la cola por la vía de una aguja de mariposa de calibre 27 insertada en la capa dérmica. Esto se siguió por una solución de 1-1.5 mL de rojo fenol al 0.05% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Cat # P0290) en solución amortiguadora en MES 10 mM, 25 mM, 50 mM y 100 mM, pH 5. La MES (ácido 2-(N-morfolino-etanosulfónico (C16H13NO4A)) tiene

un peso molecular de 195.2. No incluyó rHuPH20 en la solución de rojo fenol. Usando micropinzas, el frente del rojo fenol se midió en diferentes puntos de tiempo, en dos dimensiones, y en las áreas se calcularon usando la fórmula: Area = (D1 x D2) x 7T/4. Se observó el cambio en el color y se registró el tiempo del regreso a la neutralidad. Los resultados de la Tabla 4A resumen el tiempo promedio en minutos al regreso de la neutralidad e indican que el regreso a la neutralidad se puede modular por la consistencia iónica de la solución amortiguadora.

Tabla 4A - tiempo promedio para neutralidad

Solución de consistencia amortiguadora en mM id MES	**Area inicial de Rojo Fenol**	**% de reducción después de 5 minutos**	**% de reducción después de 10 minutos**	**% de reducción después de 15 minutos**	**% de reducción después de 20 minutos**	**Tiempo promedio para neutralidad en minutos**
10; n=3	80	71	86	98	-	10
25; n=3	123	59	78	91	-	10
50; n=2	115	38	100	100	-	10
100; n=2	191	15	38	55	71	20

B. Regreso a la Neutralidad Después de la Acidificación de la Piel de Ratón

El período de tiempo para el regreso a la neutralización, y la inactivación subsecuente de la

catepsina-L depende de la consistencia de la solución amortiguadora inyectada. La capacidad reguladora intrínseca del intersticio se estimó al medir el tiempo de regreso a la neutralización usando un tinte indicador de rojo fenol en pH 5.0 con constitución amortiguadora de incremento (MES 10-100 mM) en ratones desnudos. Se inyectaron ratones desnudos anestesiados con 0.125 mL de solución amortiguadora MES (10 mM a 100 mM), pH 5 que contiene rojo fenol. El tiempo de la neutralización del rojo fenol en la dermis es midió visualmente. Los resultados se representan en la Tabla 4B a continuación.

TABLA 4B: Medición de la Capacidad Amortiguadora Intersticial en la Piel de Ratón

Solución amortiguadora	**Consistencia iónica (mM)**	**pH**	**Tiemp para neutralización (minutos)**	**SD**
Fosfato	10	7.4	0	-
MES	10	5.0	0	-
MES	25	5.0	0	-
MES	50	5.0	7.3	1.25
MES	100	5.0	7.8	2.1

De esta manera, mediante la inyección intradérmica de los indicadores de pH en consistencias amortiguadoras de incremento (MES 10-100 mM de pH 5.0), se estableció que un medio ambiente extracelular temporal-espacial ha sido de 1-20 minutos/100mm2 de inyección se podrían obtener.

Ejemplo 8

Ingeniería de la Catepsina-L de Hígado Humano Recombinante

El Cat-L ADNc humano SEQ ID NO: 9 (codificado por una secuencia de nucleótidos expuestos en SEQ ID NO: 10) y Cat-L-His ADNc SEQ ID NO: 12 (codificado por una secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 13), se amplificaron por PCR del ADNc de hígado humano (Clon Clonetech QUICK ADNc 637205) usando los cebadores que se diseñaron de acuerdo con los datos de secuencia publicados para la procatepsina-L ADNc de riñón humano. Los sitios de restricción 5′ Nhel y 3′ BamHI se agregaron como parte de la síntesis del cebador de PCR. Los cebadores usados en amplificación se exponen en la Tabla 5.

TABLA 5: Cebadores

	Cebador	**Secuencia**	**SEQ ID NO**	**Tm**	**longitud**	**Longitud de coincidencia**
Cat-L Humano	5′	5′-AAGGCCGCTAGCCACCATGGATCC TACACTCATCCTTGCTGC-3′	16	64° C	42 mer	22
	3′ (con dos codones de	5′-GAGCACGGATCCTCATCACACAGT GGGGTAGCTGG-3′	17	65° C	35 mer	20

	detención)					
Cat-L-His	5′	5′-AAGGCCGCTAGCCACCATGGATCCTACACTCATCCTTGCTGC-3′	16	64° C	42 mer	22
	3′ (con 6xHis tag)	5′-CCTGCCGGATCCTCAATGATGATGATGATGCACAGTGGGGTAGCTG 3′	18	57° C	49 mer	16

Ambos constructos basados en ADNc tienen el segundo aminoácido del péptido líder secretos Cat-L nativo mutado por una sola base para formar una secuencia Kozak consenso, cambiando en consecuencia el segundo aminoácido de N a D (como se expone en SEQ ID NO: 9 y 12). La identidad de los clones se verificó por la electroforesis en gel de agarosa estándar y el análisis de secuenciación de ADN.

El producto amplificado resultante se introdujo para clonación en el vector de expresión HZ24 (b/s). El vector de expresión es un casete bi-cistrónico basado en CMV para la expresión de tanto la proteína catepsina-L como el gen DHFR de murino separados por un sitio de entrada ribosomal interno (IRES) del virus de encefalomiocarditis. La secuencia resultante del vector de expresión HZ24-Cat-L se expone en

SEQ ID NO: 11. La secuencia resultante del vector de expresión HZ24-Cat-L-His se expone en SEQ ID NO: 14.

Ambos plásmidos de expresión Cat-L y Cat-L-His se introdujeron en las células CHO-S (células CHO-K1 adaptadas al cultivo de suspensión sin suero, Invitrogen, Carlsbad, CA, cat # 11619-012) mediante la transfección usando el reactivo de transfección Genejuice (EMD Biosciences, San Diego, CA, cat # 70967). Los plásmidos de expresión también se introdujeron en las células DG44 CHO (obtenidas por la licencia del Dr. Lawrence Chasin, Columbia University), las cuales se adaptaron para desarrollarse en el cultivo de suspensión en un medio sin producto animal, químicamente definido (Invitrogen, Cat # 10743-029) mediante electroproación. Para la electroporación, mayor que 100 µg de plásmido linealizado ClaI se usó para cada electroporación de cada uno de los plásmidos. Veinte millones de células DG44 CHO por electroporación, en voltaje constante de 350 Voltios se transfectaron. La solución amortiguadora de electroporación contuvo 2X HeBS (HEPES 40 mM, pH 7.0; NaCl 274 mM; KCl 10 mM; Na2HPO4 1.4 mM; dextrosa 12 mM). Las células transfectadas se clonaron al limitar la dilución 72 horas después de la electroporación en medios CD-CHO estándar (Invitrogen #12610-010) sin hipoxantina y timidina de sodio para seleccionar las células que llevan el plásmido de DHFR.

Los clones seleccionados que se desarrollan sin hipoxantina y timidina de sodio se subclonaron adicionalmente, con amplificación usando metotrexato para implementar el número de copias de injerto. Una transfección de simulacro sirvió como un control negativo.

Los sobrenadantes se cosecharon 72 horas después de la transfección y se hicieron girar a 1500 rpm durante 5 minutos. Los sobrenadantes sin células de las células CHO-S y CHO-DG44 transfectadas con his-Cat-L, Cat-L y el simulacro se aplicaron a los concentradores de centrífuga de 10 kDa de corte de micra (Millipore; Bedford, MA. Cat# 42407) y se concentraron aproximadamente 10 veces por centrifugación a 12000 rpm a 4°C. La Catepsina-L Humana Recombinante secretada en los sobrenadantes de cultivo de tejido se clasificó por el ELISA de captura (Calbiochem Catepsina-L ELISA Kit #QIA94), el análisis Western Blot que usa el Mab 33/1 monoclonal (Bender MedSystems, Burlingame, CA) como se describe en el Ejemplo 10 y para la actividad enzimática que usa el substrato de péptido fluorescente (Z-L-R-AMC) como se describe en el Ejemplo 9.

Ejemplo 9

Determinación de la Actividad Enzimática de catepsina-L usando un sustrato de péptido fluorogénico

La actividad enzimática de la catepsina-L se sometió a

ensayo usando un sustrato fluorogénico comercialmente disponible, designado como Z-Leu-Arg-AMC (Z=:N-carbobenciloxi; AMC:7-Amino-4-Metil Coumarina, R&D Systems, Minneapolis, MN, Cat# ES008). El sustrato de péptido contiene un grupo 7-amino-4-metil coumarina altamente fluorescente (AMC) que se enfría rápidamente por en enlace de amida formado entre su grupo amino y el grupo carboxilo del residuo Arg. La catepsina-L activada escisa este enlace de amida dando por resultado un incremento en la fluorescencia liberada. Mientras que el sustrato de péptido se puede escisar por otras catepsinas, prominentes entre las cuales está la catepsina-B, la actividad de la catepsina-L se determinó específicamente al usar inhibidores específicos adecuados para la catepsina-B y midiendo la actividad en la presencia y ausencia del inhibidor. Específicamente el inhibidor de catepsina-B selectivo CA-074 (Calbiochem, San Diego, CA, Cat# 205530) se usó en una concentración final de 1 µM y las muestras se sometieron a en ensayo en presencia y ausencia de CA-074. Los sobrenadantes de cultivo de células de 72 horas después de la transfección en células CHO se ajustaron a pH 5 al agregar una solución amortiguadora MES concentrada en pH 5 y se incubaron sobre hielo durante 30 minutos. Esta etapa de activación ácida escisa el propéptido y genera catepsina-L madura. Para diluir el fragmento de

propéptido el cual es un potente inhibidor de la actividad de la enzima catepsina-L (Carmona, E. y colaboradores. Potency and selectivity of the catepsina-L propeptide as an inhibitor of cysteine proteases. Biochemistry 35: 8149-8157 (1996)), las muestras se concentraron y la solución amortiguadora se intercambió con solución amortiguadora MES 50 mM de pH5 sobre un tubo microcon de 30 KDa tres veces. Las muestras luego se sometieron a ensayo para la actividad enzimática por el ensayo de sustrato de péptido fluorogénico sobre el sustrato Z-AMC.

Una preparación comercial de la catepsina-L (R&D Systems; Cat# 952-CY) se activó de una manera similar aquella de las muestras y se usó como un estándar por la dilución enserie. Después de la activación, las muestras y los estándares se diluyeron en enserie en solución amortiguadora MES 100 mM de pH 5 que contiene DTT 5 mM y EDTA 10 mM, en una microplaca de fondo opaco y se incubaron con el sustrato de péptido fluorogénico Z-AMC a 37°C durante 30 minutos. El sustrato Z-AMC se usó en una concentración final de 10 µM en un volumen total de 200 µL cuando se combinó con las muestras o estándares.

La fluorescencia resultante se leyó en la banda de excitación-emisión (380 nm-460 nm) optima recomendada para el sustrato en un lector de placa fluorescente (Molecular

Devices, SpectraMax 3, Sunnyvale, CA). Los valores de la muestra se derivaron de la curva estándar retirada de la unidad de fluorescencia relativa (RFU) obtenidos de la serie de dilución del estándar. Después de un ajuste de 4 parámetros con el software Softmax^{MR} (Molecular Devices, SpectraMax 3, Sunnyvale, CA), la curva estándar fue pseudo-lineal entre los intervalos de concentración de 10-100 ng/mL. Los resultados se muestran en la Tabla 6 a continuación. La actividad de la catepsina-L de células transfectadas CHO-S fue por lo menos 10-20 veces más alta que la actividad de fondo de las células hospederas transfectadas simuladas y mediante el ensayo en presencia del inhibidor de catepsina-B selectivo CA-074. La actividad enzimática incrementada en el medio de cultivo transfectado de catepsina-L se vuelve asignar de esta manera a la actividad específica de Cat-L.

Tabla 6: Mediciones de la actividad de la enzima Cat-L en presencia del inhibidor de la catepsina-B por ensayo Z-AMC en células transfectadas 72 horas después de la transfección

Descripción del clon	CHO-S transfectada de simulacro	CHO-S transfectado con Cat-L	CHO-S transfectado con His Cat-L
ng/mL de actividad Cat-L	20	723	248

Ejemplo 10

Análisis Western Blot de la Catepsina-L Recombinante Humana Expresada

Después de la expresión y concentración de los sobrenadantes sin células como se describe en el Ejemplo 8, el análisis Western Blot se realizó para confirmar la expresión. Brevemente, para cada una de las 6 diferentes muestras (cat-L, cat-L-His y simulada de cada una de las células CHO-S o CHO-DG44), 30 µL de sobrenadantes concentrados se mezclaron con 10 µL de 4X (en lugar de la solución amortiguadora de muestra de carga de gel) para SDS-PAGE (EMD Bioscience, San Diego, CA, cat# 70607-3) y 2 µL de DTT 100 mM y se incubaron a 80°C durante 20 minutos. Como un control positivo, 750 ng de catepsina-L recombinante purificada comercial (R&D Systems) en 30 µL de PBS 1X se incluyeron y se procesaron idénticamente. El volumen total (42 µL) de las muestras se cargaron sobre geles de Tris-Glicina al 4-20% (Invitrogen, Carlsbad, CA, Cat# EC6028BOX) y se llevó a cabo la electroforesis en solución amortiguadora corriente Tris-Glicina SDS hasta que el frente de tinte del marcador de peso molecular pre-teñido (Invitrogen, Cat# LC5925) alcanzó el fondo del gel. Las proteínas se transfirieron en la membrana PVDF por el aparato de tinción semi seca I-Blot (Invitrogen, Cat# IB1001) de acuerdo con las

instrucciones del fabricante. La transferencia se verificó por la ausencia casi complete de color de las bandas marcadoras pre-teñidas sobre el gel. La membrana se bloqueó en solución amortiguadora bloqueadora que consiste de leche en polvo sin grasa al 5% en PBS durante 2 horas a temperatura ambiente. La catepsina-L se detectó con un anticuerpo monoclonal de ratón (Mab 33/1) a la catepsina-L humana (Bender MedSystems, Burlingame, CA, Cat# BMS 166) usada en 1 µg/mL de concentración final en el bloqueador y se incubó durante toda la noche 4°C seguido por un IgG anti-ratón de cabra conjugado con HRP (Calbiochem, San Diego, CA, Cat# DC02L) usado en una concentración de 33 ng/mL en un bloqueador durante 1 hora a temperatura ambiente. La señal HRP se desarrolló por la solución de desarrollo de membrana TMB Insoluble (Calbiochem, Cat# 613548) y la reacción se detuvo después de 30 minutos a temperatura ambiente.

El análisis de Western blot mostró bandas de proteína específicas para Cat-L. NO se detecto banda específica en las células transfectadas de simulacro. El nivel de expresión de Cat-L y His-Cat-L pareció que es más alto en las células CHO-S que en las células DG44, probablemente debido a la eficiencia en la transfección en las dos líneas de células. Los resultados de los análisis de Western blot fueron consistentes con los resultados que usan el ensayo de

actividad de enzimática con el sustrato de péptido fluorogénico Z-AMC como se describe en el Ejemplo 9. El peso molecular de la catepsina-L expresada en CHO-S y DG44 es 44-45 KDa que corresponde al tamaño esperado de la proteína que contiene aun el propéptido. El peso molecular de la catepsina comercial usado como un control positivo (R&D Systems) fue 36 KDa para la catepsina-L madura. La diferencia en el tamaño entre la proteína expresada en las células CHO-S y CHO-DG44 transfectadas y la catepsina-L comercial puede ser debido a la diferente glicosilación específica de célula hospedera o a la remoción del propéptido de la Cat-L comercial.

Ejemplo 11

A. Generación de la Catepsina-L Sintética y Catepsina-L-His

Un constructo de ADN que codifica la catepsina-L humana madura, (aminoácidos 18-333 de GenBank Acceso No. EAW62736; SEQ ID NO: 1) se sintetizó la optimización de codón para las células CHO. La optimización de codón se basó en la tabla de optimización de codón para Cricetulus griseus, listado por Blue Heron Biotech (blueheronbio.com). El constructo se sintetizó para contener un péptido de señal heterólogo diseñado de la familia de genes IgG kappa humano (SEQ ID NO:2) para permitir la secreción de la proteína recombinante en el sobrenadante de cultivo de tejido. La secuencia de nucleótidos del constructo catepsina-L optimizado se expone

en SEQ ID NO: 3 y codifica un polipéptido expuesto en SEQ ID NO:4. Un sitio de restricción 5' Nhe I y un sitio de restricción 3' BamH I se incorporaron como parte de la síntesis del constructo. El constructo sintético luego se introdujo en el vector de expresión HZ24 (b/s), como se describe en el Ejemplo 8. El vector de expresión Cat-L sintético se diseño HZ24 (B/S) - CAT-L y se expone en SEQ ID NO:5. Otro contracto Cat-L que contiene una etiqueta de 6 Histidina C-terminal separada por un enlazador (GGGGSG; SEQ ID NO: 15) también se sintetizó. La secuencia de nucleótidos del constructo Cat-L-His sintetizado se exponen en SEQ ID NO:6 y codifica un polipéptido expuesto en SEQ ID NO:7. Este constructo también contuvo un sitio de restricción 5' Nhe I y un sitio de restricción 3' BamH I, incorporado como parte de la síntesis del constructo, y se introdujo en el vector de expresión HZ24 (b/s). El vector de expresión Cat-L-His sintético se designo HZ24 (B/S) - CAT-L-His y se expone en SEQ ID NO: 8.

El vector de expresión Cat-L sintético expuesto en SEQ ID NO: 5 y el vector de expresión Cat-L-His sintético expuesto en SEQ ID NO:8 se transfectaron en células CHO-DG44 mediante electroporación, como se describe en el Ejemplo 8. Los sobrenadantes se cosecharon durante 72 horas después de la transfección y se procesaron como se describe en el

Ejemplo 8 (sin ajuste de pH) para generar catepsina-L no activada.

Los sobrenadantes de cultivo de tejido también se procesaron para dar por resultado la activación de la catepsina-L. Esto se logró usando un pH bajo, dando por resultado la escisión del propéptido de catepsina-L, dando por resultado la activación de la enzima. Los sobrenadantes de las células transfectadas con el constructo sintético y las células de control no transfectadas se ajustaron a pH 4 al agregar solución amortiguadora ácida concentrada (Formiato 1000 mM de pH 4, NaCl 1000 mM, DTT 50 mM, EDTA 100 mM) a los sobrenadantes en una relación de 1:10, respectivamente. Los sobrenadantes se incubaron sobre hielo durante 30 minutos para permitir la activación completa. Luego se concentraron mediante centrifugación a través de un dispositivo de concentración de centrifuga de peso molecular 30 KDa de corte (Microcon 30, Millipore, Bedford, MA. Cat# 42410), lo cual permitió el propéptido escisado (con un tamaño predicho de aproximadamente 12-14 KDa) para pasar a través, mientras que retiene la proteína madura (tamaño predicho de aproximadamente 36-40 kDa). Después de la concentración, los sobrenadantes activados y no activados se corrieron sobre un gel SDS-PAGE al 4-12% seguido por el análisis por la técnica Western Blot que usa el Mab 33/1 monoclonal como se describe

en el Ejemplo 10. La catepsina-L sintética y Cat-L-His se detectaron en los sobrenadantes de cultivo de tejido de las células transfectadas en niveles similares. El peso molecular de la Catepsina-L y Cat-L-His en los sobrenadantes no activados fue de aproximadamente 44 kDa, comparado con aproximadamente 36 a 40 kDa para los sobrenadantes activados, debido a la ausencia del pro-péptido.

Los sobrenadantes activados también se clasificaron para la actividad enzimática de la Catepsina-L usando el sustrato de péptido fluorescente (Z-L-R-AMC) como se describe en el Ejemplo 9. La actividad enzimática de Cat-L se midió en presencia del inhibidor de la catepsina-B (para bloquear la actividad enzimática similar a la catepsina-B hospedera) por ensayo Z-AMC en células CHO-DG44 transfectadas 72 horas después de la transfección. Los resultados se exponen en la Tabla 7 a continuación. La actividad de la catepsina-L de las células transfectadas CHO-DG44 72 horas después de la transfección fue de aproximadamente 6-17 veces más alta que la actividad de fondo de las células hospederas transfectadas de simulacro. Mediante ensayo en la presencia del inhibidor de la catepsina-B selectiva CA-074, la contribución de la actividad enzimática similar a la catepsina-B hospedera se bloqueó. De esta manera, la actividad enzimática incrementada en medio de cultivo de tejido transfectado con catepsina-L se

puede asignar a la actividad específica de Cat-L expresada de los clones Cat-L transfectados

TABLA: 7			
Descripción del clon	transfectado simulada	transfectada con Cat-L	transfectada con Nis Cat-L
ng/mL de la actvidad del cAt-L	Menor que 100	1700	600

B. Selección de los clones de Catepsina-L sintética en metotrexato

Las células de Catepsina-L sintética, producidas como se describe en la sección A, anteriormente, se clonaron al imitar la dilución después de la electroporación en un medio CD-CHO estándar sin hipoxantina de sodio y timidina para seleccionar las células que llevan un plásmido con el gen DHFR, luego se sub-clonaron y se expandieron adicionalmente en presencia de metotrexato 50 mM para incrementar el número de copias de inserto. Las corridas subsecuentes de la sub-clonación y la expansión en 200 mM y 1000 mM luego se realizaron para identificar las líneas de células amplificadas con metotrexato adecuadas para el uso en la producción a gran escala de la catepsina-L.

1. Clonación e identificación de los clones de la célula Cat-L en no metotrexato

Para seleccionar las células e identificar los clones de

células Cat-L que se desarrollaron en la ausencia de metotrexato, las células de las transfección descrita anteriormente se recolectaron y se lavaron dos veces con un medio CD-CHO estándar (GIBCO; Invitrogen) que contiene GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (GIBCO; Invitrogen), y sin suplementos de hipoxantina y timidina, mediante breve centrifugación a 500 x g. Después del lavado final, las células se contaron, y se diluyeron a 10,000 a 20,000 células viables por mL. Una alícuota de 0.1 mL de la suspensión de célula se transfirió a cada pocillo de frecuentemente, placas de tejido de fondo rondado de 96 pocillos. Todas las placas se suplementaron con 0.1 mL adicional de lo mismo. Las células se dejaron desarrollar 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada.

Los pocillos que contienen colonias en desarrollo de células bajo selección sin hipoxantina y timidina se identificaron por una combinación de ensayos de enzima de Catepsina-L y apariencia visual del crecimiento celular en los pocillos de cultivo. La actividad enzimática en el sobrenadante de cultivo de tejido de cada pocillo se estimó como se describe en el Ejemplo 9. Se identificaron veinte de clones (Tabla 7a).

Tabla 7a.

ID del Clon (Placa/pocillo)	**Actividad relativa del**	**ID del Clon (Placa/pocillo)**	**Actividad relativa del**

	Cat-L (rfu)		**Cat-L (rfu)**
IC5	8957	6E3	9393
IF6	9161	6G11	5214
2F2	8722	7B2	6792
2C8	8487	7G9	9619
3E4	4952	8E4	3124
3F8	8599	8D7	3085
4F4	9540	9A5	6226
4D10	3374	9E12	7653
5B2	10065	10D3	2053
5B10	11709	10F6	3895

Los clones identificados se expandieron en pocillos individuales de placas de cultivo de tejido de 24 pocillos, que contienen 1 mL de medio CD-CHO suplementado con GlutaMAX-I^{MR} 4 mM, y sin hipoxantina y timidina. Las células se desarrollaron a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada. Las células se expandieron además en matraces de cultivo de tejido T-75 en el mismo medio. Tres frasquitos de de cada clon se archivaron por congelación en DMSO al 10%, medio acondicionado al 45%.

2. Clonación e identificación de las células en metotrexato 50 nM

Los 20 sub-clones de la línea de células que demuestran la proliferación y expresión de la actividad enzimática de Cat-L se sub-clonaron de placas de 24 pocillos en placas de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos, usando una

estrategia de dilución infinita bi-dimensional, en la cual las células se diluyen 1 en 3 a través de la placa, y 1 en 2 debajo de la placa. Los sub-clones diluidos se desarrollaron en un fondo de 500 células DG44 CHO no transfectadas por pocillo, para proporcionar factores de crecimiento necesarios para los días iniciales en el cultivo. Se hicieron cinco placas por sub-clon, que contiene una concentración final de metotrexato 50 nM en medio CD-CHO suplementado con GlutaMAX-I^{MR} 4 mM, y sin hipoxantina y timidina. Las células se desarrollaron a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada.

Los sub-clones que se desarrollan en metotrexato 50 nM que expresaron la Cat-L humana recombinante (sintética) se identificaron al medir la actividad enzimática de Cat-L como se describe en el Ejemplo 9. Los pocillos que demuestran la actividad enzimática sustancialmente más alta se compararon con los pocillos vecinos microscópicamente, y los clones periféricos de expresión alta se seleccionaron para expansión. Un total de 96 clones individuales se expandieron en placas de cultivo de tejido de 12 pocillos que contienen una concentración final de metotrexato 50 nM en medio CD-CHO suplementado con GlutaMAX-I^{MR} 4 mM, y sin hipoxantina y timidina. Las células se desarrollaron a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada. Estos 96 sub-clones se

sometieron a prueba para la actividad enzimática de Cat-L secretada como se describe en el Ejemplo 9 en dos puntos de tiempos diferentes, entre 7 días. Los sub-clones que demuestran los incrementos más grandes en la actividad enzimática de Cat-L durante el período de 7 días y la apariencia microscópica sana se seleccionaron para propagación. Los 7 sub-clones que se propagaron incluyeron 9E12 (#16), 7G9 (#50), 1C5 (#69), 4F4 (#76), 1F6 (#77), 5B10 (#90) y 2F2 (#92). Estos sub-clones se expandieron en presencia de metotrexato 50 nM en matraces T-25 y T-75 y se archivaron por congelación.

3. Clonación e identificación de las células en metotrexato 200 nM

Los sub-clones 9E12 (#16), 7G9 (#50), 1C5 (#69), 4F4 (#76), 1F6 (#77), 5B10 (#90) and 2F2 (#92) luego se sub-clonaron en medio que el contiene metotrexato 200 nM. Cinco, placas de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos se ajustaron usando la estrategia de dilución infinita bi-dimensional para cada uno de los siete sub-clones. Los sub-clones diluidos se desarrollaron en fondo de 500 células DG44 no transfectadas por pocillo en el medio CD-CHO suplementado con metotrexato 200 nM y GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (sin hipoxantina y timidina). Las 35 placas se incubaron a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada.

Los sub-clones que expresan los altos niveles de rHuCat-L mientras que se desarrollan en metotrexato 200 nM se identificaron al medir la actividad enzimática de Cat-L en el sobrenadante de cultivo de células, como se describe en el Ejemplo 9. Un total de 35 sub-clones (5 de cada uno de 9E12 (#16), 7G9 (#50), 1C5 (#69), 4F4 (#76), 1F6 (#77), 5B10 (#90) y 2F2 (#92) se seleccionaron y se expandieron en placas de cultivo de tejido de 24 pocillos en un medio CD-CHO suplementado con metotrexato 200 nM y GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (sin hipoxantina y timidina). Los sub-clones se incubaron a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada.

Los 35 sub-clones se sometieron a ensayo para la actividad de Cat-L, y los 10 sub-clones que expresan los niveles más altos de actividad enzimática secretada se propagaron a placas de cultivo de tejido de 6 pocillos. Los 10 clones, y los clones de los cuales se derivaron en la Tabla 7b. Estos 10 sub-clones se expandieron subsecuentemente en matraces de cultivo de tejido T75 y luego en matraces agitadores en un medio CD-CHO suplementado con metotrexato 200 nM y GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (sin hipoxantina y timidina). Los matraces agitadores que desarrollan los subclones se expandieron, y las células se archivaron por congelación.

Cuatro sub-clones, 9E12-3D3 y 7G9-2F2, 7G9-3F1 y 7G9-5F2, demuestran la rápida expansión celular temprana (tiempos

dobles más cortos) en los matraces agitadores pequeños para mayor que 7 pasajes se expandieron para inoculación de Biorreactores controlados 4 x 10 L para la expresión comparativa y los estudios de producción. Los cuatro sub-clones también se expandieron y se hicieron pasar continuamente en matraces agitadores de IL que contienen un medio CD-CHO suplementado con metotrexato 200 nM y GlutaMAX-I^{MR} 4 mM. La densidad y viabilidad celular se midieron cada dos días, con retenciones sin células almacenados a 4°C para la evaluación posterior de la actividad enzimática.

Tabla 7b.

Clon Primario	**Sub-clones de metotrexato 50nM**	**Sub-clones de metotrexato 200nM**
IC5	IC5-3	3-2F2
IC5	IC5-3	3-IF2
2F2	2F2-7	7-5F3
4F4	4F4-4	4-3C3
4F4	4F4-4	4-4B3
7G9	7G9-2	2-2F2
7G9	7G9-2	2-3F1
7G9	7G9-2	2-5F2
9E12	9E12-1	1-3D3
9E12	9E12-1	1-1C2

4. Clonación e identificación de las células en metotrexato 1000 nM

Los 9E12-1-3D3 y 1C5-3-2F2 se sub-clonaron una tercera vez en metotrexato 1000 nM que contiene en medio el 1 de

Julio del 2008. Cinco, placas de cultivo de tejido d fondo redondo de 96 pocillos se ajustaron usando la estrategia de dilución infinita bi-dimensional para cada uno de los dos sub-clones. Los sub-clones diluidos se desarrollaron en un fondo de 500 células DG44 no transfectadas por pocillo a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada, medio CD-CHO que contiene metotrexato 1000 nM y GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (sin hipoxantina y timidina).

Los pocillos que contienen los sub-clones que se desarrollan en metotrexato 1000 nM se identificaron mediante examen visual y microscópico. Veinte pocillos que contienen las células en desarrollo diluidas de los sub-clones 9E12-1-3D3 y 1C5-3-2F2 (10 subclones por pocillo) luego se sometieron a ensayo para la expresión de rHuCat-L mediante la técnica Western Blot. Todos los 20 sub-clones se expandieron a placas de cultivo de tejido de 12 pocillos en un medio CD-CHO que contiene metotrexato 1000 nM y GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (sin hipoxantina y timidina) y se incubaron a 37°C, CO_2 al 5% en una incubadora humidificada. La Tabla 7c expone los 20 subclones, y los sub-clones de los cuales se derivaron. Los clones son capaces de desarrollarse en metotrexato 1000 nM luego se expanden y se someten a ensayo para la actividad enzimática de Cat-L, y se archivan por congelación en nitrógeno líquido.

Tabla 7c.			
Clon Primario	**Sub-clones de metotrexato 50 nM**	**Sub-clones de metotrexato 200 nM**	**Sub-clones de metotrexato 1000 nM**
9E12	9E12-1	1-3D3	1F5
9E12	9E12-1	1-3D3	1E2
9E12	9E12-1	1-3D3	2D4
9E12	9E12-1	1-3D3	2G8
9E12	9E12-1	1-3D3	3E3
9E12	9E12-1	1-3D3	3G2
9E12	9E12-1	1-3D3	4D4
9E12	9E12-1	1-3D3	4F3
9E12	9E12-1	1-3D3	5D2
9E12	9E12-1	1-3D3	5F2
1C5	1C5-3	3-2F5	1D4
1C5	1C5-3	3-2F5	1G2
1C5	1C5-3	3-2F5	2E2
1C5	1C5-3	3-2F5	2E3
1C5	1C5-3	3-2F5	3D6
1C5	1C5-3	3-2F5	3G3
1C5	1C5-3	3-2F5	4E4
1C5	1C5-3	3-2F5	4G2
1C5	1C5-3	3-2F5	5F4
1C5	1C5-3	3-2F5	5G5

B. Producción A Gran Escala y Purificación de la Catepsina L

Para purificar la Catepsina-L sintética en grandes cantidades, el sobrenadante del cultivo de células la pro-Catepsina L desactivada de la línea de células 9E12-1-3D3, producida como se describe anteriormente, se cultivo en biorreactor 36 L. Después de la incubación en el biorreactor,

el cultivo de células se clarificó por filtros de cosecha, se concentraron y se intercambiaron con solución amortiguadora usando la filtración de flujo tangencial, se inactivaron de virus mediante solvente/detergente, y luego se purificaron por cromatografía secuencial en una cromatografía de intercambio aniónico Q Sepharose Fast Flow (GE Healthcare) y cromatografía de Hidroxiapatita de Cerámica (Biorad, Richmond, CA). Después del tratamiento el pH reducido (pH 4.5), la Catepsina-L activada se purificó adicionalmente por la cromatografía de intercambio catiónico SP Sepharose Fast Flow (GE Healthcare), filtración viral y filtración de flujo tangencial.

La línea de células 9E12-1-3D3 primero se expandió en una serie de matraces. Brevemente, 35 mL de cultivo en el pasaje 6, con 6 x 10^5 células/mL y una viabilidad de 73% se expandió a 200 mL con el CD CHO (Invitrogen) suplementado con 40 mL/L GlutaMAX-I^{MR} (Invitrogen; solución madre 200 mM) y metotrexato 200 nM. A cuatro días, se expandió a 1200 mL en una centrífuga de rocío 6L usando el medio CD CHO suplementado con 40 mL/L GlutaMAX-I^{MR}. En la centrífuga de 6L, el cultivo luego se expandió a 2200 mL en el día 11, a 3500 mL en el día 15, y finalmente a 5000 mL en el día 18, cada vez usando el medio CD CHO media suplementado con 40 mL/L GlutaMAX-I^{MR}.

El biorreactor de 36 L, que contiene 20 L de medio CD CHO suplementado con 800 mL de GlutaMAX-I^{MR}, 100 mg de insulina humana recombinante (rHulnsulina), y 30 mL de Gentamicina, se inocularon con una densidad de siembra inicial de 4.6 x 10^5 células/mL. Para proporcionar un mezclado suave y un vórtice ligero en el cultivo, el punto de ajuste de agitación fue de 80 RPM, el punto de ajuste de la temperatura fue 37°C, el punto de ajuste del pH fue pH 7.15, y el punto de ajuste del oxígeno disuelto fue de 25%. El recipiente del biorreactor recibió una superposición de aire filtrado y un rocío aire/oxígeno/CO_2, como es controlado por un controlador ADI 1030 de Applikon. Un rocío de aire constante de 0.1-0.2 slpm se proporcionó, con la válvula de solenoide O_2 como una un esclavo para el controlador DO, tal que el flujo de O_2 suplementó automáticamente el rocío de aire constante como sea necesario.

Durante la corrida del biorreactor, el cultivo se suplementó con el medio de alimentación en varios intervalos para suplementar nutrientes y glucosa por toda la corrida del biorreactor, así como también para proporcionar un concentrado para el medio basal adicional y GlutaMAX-I^{MR} en la fase de crecimiento, temprana de la células, a fin de maximizar la velocidad del crecimiento y la densidad celular pico. La digestión de proteína

adicional (Ultrafiltrado de Yeastolate 50x (200g/L); Invitrogen) y butirato de sodio se agregaron en la fase producción, posterior de la corrida del biorreactor maximizan la expresión y secreción del producto. El medio de alimentación se filtró estéril en el biorreactor por la vía de una bomba peristáltica. En los días 7, 10, 12, 13, 14 y 16, 500 mL de Alimentación #1-6, respectivamente, se agregaron al cultivo de células del biorreactor. La Alimentación #1 y la Alimentación #2 contuvieron 48.6 g/L de polvo del medio CHO AGT®, 200 mL/L GlutaMAX-I^{MR} (concentración final 8 mM), 200 mL/L Ultrafiltrado de Yeastolate 50x (concentración final 8 g/L), 50 g de D-Glucosa (Dextrosa; Invitrogen), y 1.1 g de butirato de sodio. La alimentación #3 hasta la Alimentación #6 contuvieron 48.6 g/L de polvo de medio CD CHO AGT®, 100 mL/L de GlutaMAX-I^{MR} (concentración final 4 mM), 300 mL/L Ultrafiltrado de Yeastolate 50x (concentración final 12 g/L), 40 g de D-Glucosa (Dextrosa; Invitrogen), y 1.6 g de butirato de sodio. El cultivo de células se mostró antes de cada alimentación y antes de la cosecha (días 19) para probar la densidad viable (VCD) y % de viabilidad mediante el hemocitómetro con la tinción de Azul Trypan, y la glucosa residual. La Tabla 8 expone los resultados de la prueba.

Tabla 7d.

Horas después de la inoculación	**VCD x 10^5 células/mL**	**% de viavilidad**	**Volumen del cultivo de células (L)**	**Glucosa**	**Alimentación**
0	4.6	87	26	8280	
72	16.3	93	26	4690	
115	37.6	93	26	4230	
165	43.1	83	26	1830	Alimentación #1
234	45.7	78	26.5	1040	Alimentación #2
264	49.7	78	27	1320	
287	42.2	78	27	800	Alimentación #3
312	39.8	74	27.5	1180	Alimentación #4
336	39.1	73	27.5	1390	Alimentación #5
386	28.3	58	28	1360	Alimentación #6
409	24.5	50	28.5	1810	
432	20.5	36	28.5	1530	
448	18.9	31	28.5	1190	Cosecha

El biorreactor se cosechó en el día 19, y el cultivo de células (aproximadamente 28.5 L) se clarificó mediante filtración para revemos las células y restos de células. La remoción de las células y la filtración de clarificación consistió de filtros Millipore Pod DOHC (0.5 m^2) y AlHC (0.1 m^2). Los filtros Millipore Pods primero se lavaron con agua

para inyección (WFI) seguido por el equilibrio con PBS, antes de que se agregue la cosecha. Después de la clarificación, el cultivo de células cosechado se filtró (HCCF) en bolsas de almacenamiento por la vía de filtros de cápsula pequeña (Sartobran 300, 0.45 µm, Sartorius). El HCCF (31.6 L, que consiste de 28.5 L de sobrenadante de cultivo y 3.1 L de PBS de volumen de lavado) se suplementó para producir Tris 50 mM y se almacenó a 2-8°C.

El HCCF luego se concentró y se diafiltró mediante filtración de flujo tangencial (TFF), que consiste de 4645 x 929 cm^2 (5 x 1 ft^2) de membrana PES con un peso molecular de 30 kDa de corte. La membrana primero se equilibró en Bis-Tris 20 mM, NaCl 50 mM, pH 7.0. Los 31.6 L de HCCF se agregaron al sistema TFF concentrado 10x a 3 L, luego se dialfiltraron con 28 L de Bis-Tris 20 mM, NaCl 50 mM, pH 7.0. El HCCF concentrado se filtró a través de un filtro 0.2 µm, produciendo un volumen final de 3 L. La inactivación viral se efectuó al tratar la cosecha intercambiada con concentrado/solución amortiguadora con Triton X-100 al 1% y fosfato de tri-n-butilo al 0.3% durante 90 minutos a temperatura ambiente.

Se preparó una columna de intercambio aniónico de flujo rápido Q Sepharose (GE Healthcare). Después de la sanitización, carga, y neutralización, la columna se

equilibró con cinco volúmenes de columna de Bis-Tris 20 mM, pH 7.0. Después de la inactivación viral, la cosecha intercambiada con solución amortiguadora, concentrada se cargó sobre la columna Q usando un tiempo de residencia de cinco minutos para todas las etapas (407 cm/hr). La columna se lavó secuencialmente con cinco volúmenes de Bis-Tris 20 mM, pH 7.0 y cinco volúmenes de columna de Bis-Tris 20 mM, NaCl 50 mM, pH 7.0. La proteína se eluyó con Bis-Tris 20 mM, NaCl 160 mM, pH 7.0.

Una columna (BioRad) de hidroxiapatita de cerámica (CHT) se equilibró con fosfato de sodio 5 mM, pH 7.0 después de la sanitización, carga, y neutralización. La proteína purificada con Q Sepharose se cargó sobre la columna CHT usando un tiempo de residencia de cinco minutos para todas las etapas (257 cm/hr). La columna se lavó secuencialmente con cinco volúmenes de columna de fosfato de sodio 5 mM, pH 7.0 y cinco volúmenes de columna de fosfato de sodio 10 mM, pH 7.0. La proteína se eluyó con fosfato de sodio 70 mM, pH 7.0.

La pro-catepsina L luego se activó a Catepsina L al ajustar el pH a 4.5 con acetato de sodio 0.5 M, pH 4.0. Después de la activación, la Catepsina L se purificó adicionalmente mediante la cromatografía de Flujo Rápido Sepharose. Una columna de intercambio iónico SP Sepharose (GE Healthcare) se preparó y se equilibró con cinco volúmenes de

columna de acetato de sodio 50 mM, pH 4.5 después de la sanitización, carga, y neutralización. Después de la carga, la Catepsina L activada se diluyó dos veces con acetato de sodio 50 mM, pH 4.5. La Catepsina L activada se cargó sobre la columna SPFF usando un tiempo de residencia de cinco minutos para todas las etapas (253 cm/hr). La columna se lavó con cinco volúmenes de columna de acetato de sodio 50 mM, pH 4.5. La proteína se eluyó con acetato de sodio 50 mM, NaCl 50 mM, pH 5.0. La proteína purificada luego se filtra para remover los virus, y se concentra, tal como entre 1-20 mg/mL.

EJEMPLO 12

Generación de una Línea de Células que expresan PH20 humana recombinante soluble (rHuPH20)

El plásmido HZ24 (expuesto en SEQ ID NO:224) se usó para transfectar células de Ovario de Hámster Chino (células CHO). El ADN que codifica el constructo rHuPH20 soluble contiene un sitio Nhel y una secuencia consenso Kozak antes del And que codifica la metionina en la posición de aminoácidos 1 del líder de señal nativo de la hialuronidasa PH20 humana, y un codón de detención después de del ADN que codifica la tirosina en la posición de aminoácidos 482 de la hialuronidasa PH20 humana, seguido por un sitio de restricción BamHI. El constructo pCI-PH20-IRES-DHFR-SV40pa (HZ-24), por lo tanto, da por resultado una especie de mRNA

individual dirigido por el promotor CMV que codifica los aminoácidos 1-482 de PH20 (expuesta en SEQ ID NO:225) y los aminoácidos 1-187 de la dihidrofolato reductasa (expuesta en SEQ ID NO:261), separada por un sitio de entrada ribosomal interno (IRES).

Las células DG44 CHO no transfectadas se desarrollaron en medio CD-CHO Modificado GIBCO para las células DHFR(-), suplementadas con 4 mM Glutamax^{MR} y 18 ml de Plurionic F68/L (Gibco), y se sembraron a 0.5 x 10^6 células/ml en un matraz agitador en la preparación para transfección. Las células se desarrollaron a 37°C en CO_2 al 5% en una incubadora humidificada, agitando a 120 rpm. Las células DG44 no transfectadas exponencialmente en crecimiento se sometieron a prueba para viabilidad antes de la transfección.

Sesenta millones de células viables del cultivo de células DG44 CHO no transfectadas se formaron en pelotillas y se resuspendieron a una densidad de 2 ^{x} 10^7 células en 0.7 mL de solución amortiguadora de transfección 2x (HeBS 2x: Hepes 40 mM, pH 7.0, NaCl 274 mM, KCl 10 mM, Na_2HPO_4 1.4 mM, dextrosa 12 mM). A cada alícuota de células resuspendidas, 0.09 mL (250 µg) del plásmido HZ24 lineal (linealizado mediante la digestión durante toda la noche con CIa I (New England Biolabs); plásmido HZ24 lineal expuesto en SEQ ID NO: 19) se agregaron, y las soluciones de célula/ADN se

transfirieron en cubetas de electroporación BTX de 0.4 cm de espacio (Gentronics) a temperatura ambiente. Una electroporación de control se realizó con AND no de plásmido mezclado con las células. Las mezclas de células/plásmido se electroporaron con una descarga de capacitor de 330 V y 960 µF o a 350 V y 960 µF.

Las células se removieron de las cubetas después de la electroporación y se transfirieron en 5 mL de medio CD-CHO Modificado para las células DHFR(-), suplementadas con Glutamina 4 mM y 18 ml de Plurionic F68/L (Gibco), y se dejaron desarrollar en un pocillo de una placa de cultivo de tejido de 6 pocillos sin la selección durante 2 días a 37°C en CO_2 al 5% en una incubadora humidificada.

Dos días después de la electroporación, 0.5 mL de medio de cultivo de tejido se removieron de cada pocillo y se sometieron a prueba para la presencia para la actividad de hialuronidasa (véase el Ejemplo 16). Los resultados se exponen en la Tabla 8 a continuación.

	Dilución	Actividad Unidades/ml
Transfección 1	1 a 10	0.25
Transfección 2	1 a 10	0.52
350 V de Control Negativo	1 a 10	0.015

Las células de la Transfección 2 (350V) se recolectaron

del pocillo de cultivo de tejido, se contaron y se diluyeron a 1 x 10^4 a 2 x 10^4 de células viables por mL. Una alícuota de 0.1 mL de la suspensión de células se transfirió a cada pocillo de cinco, placas de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos. Cien microlitos de medio CD-CHO (GIBCO) que contiene suplemento GlutaMAX-I^{MR} 4 mM (GIBCO®, Invitrogen Corporation) y sin suplementos de hipoxantina y timidina se agregaron a los pocillos que contienen células (volumen final 0.2 mL).

Se identificaron diez clones de las 5 placas desarrollados sin metotrexato (véase la Tabla 9).

ID de la Placa /Pocillo	Hialuronidasa relativa
1C3	261
2C2	261
3D3	261
3E5	243
3C6	174
2G8	103
1B9	304
2D9	273
4D10	302

Seis clones HZ24 se expandieron en el cultivo y se transfirieron en matraces agitadores como suspensiones de células individuales. Los clones 3D3, 3E5, 2G8, 2D9, IE11, y 4D10 se colocaron en placas de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos usando una estrategia de dilución

infinita bi-dimensional en las cuales las células se diluyeron 1:2 debajo de la placa, y 1:3 a través de la placa, comenzando a 5000 células en el pocillo izquierdo superior. Los clones diluidos se desarrollaron en un fondo de 500 células DG44 CHO no transfectadas por pocillo, para proporcionar factores de crecimiento necesarios para los días iniciales en el cultivo. Diez placas se hicieron por subclon, con 5 placas que contienen metotrexato 50 nM y 5 placas sin metotrexato.

El clon 3D3 produjo 24 subclones visuales (13 del tratamiento sin metotrexato, y 11 del tratamiento con metotrexato 50 nM). La actividad de la hialuronidasa significativa se midió en los sobrenadantes de 8 de los 24 subclones (>50 Unidades/mL), y estos 8 subclones se expandieron en matraces de cultivo de tejido T-25 en presencia del metotrexato 50 nM donde fueron apropiados. El clon 3D3 50 nM se expandió adicionalmente en metotrexato 500 nM dando origen a clones que se producen en exceso de 1,000 Unidades/ml en matraces agitadores (clon 3D35M; generación 1 o Genl 3D35M).

Ejemplo 13

Producción y Purificación de Genl sPH20 Humano

A. Proceso de Biorreactor de 5 L

Un frasquito de 3D35M se descongeló y se expandió de los

matraces agitadores a través de matraces giratorios de 1 L de medio CD-CHO (Invitrogen, Carlsbad Calif.) suplementado con Metotrexato 100 nM y GlutaMAX-I^{MR} (Invitrogen). Las células se transfirieron de los matraces giratorios a un biorreactor de 5 L (Braun) a una densidad de inoculación de 4 x 10^5 células viables por ml. Los parámetros fueron el punto de ajuste de la temperatura a 37°C, pH 7.2 (punto de Ajuste de partida), con el punto de ajuste de Oxigeno Disuelto de 25% y una superposición de aire de 0-100 cc/min. A 168 hrs, se agregaron 250 ml de Medio de Alimentación #1 (CD CHO con 50 g/L de Glucosa). A 216 horas, se agregaron 250 ml de Medio de Alimentación #2 (CD CHO con 50 g/L de Glucosa y Butirato de Sodio 10 mM), y a 264 horas se agregaron 250 ml de Medio de Alimentación #2. Este proceso dio por resultado una productividad final de 1600 Unidades por ml con una densidad celular máxima de 6 x 10^6 células /ml. La adición de butirato de sodio fue para mejorar notablemente la producción del rHuPH20 soluble en las etapas finales de producción.

El medio acondicionado del clon 3D35M se clarificó mediante filtración profunda y diafiltración de flujo tangencial en Hepes 10 mM de pH 7.0. El rHuPH20 soluble luego se purificó mediante cromatografía secuencial sobre cromatografía de intercambio iónico Q Sepharose (Pharmacia), de interacción hidrofóbica Fenil Sepharose (Pharmacia),

Cromatografía de boronato de fenilo (Prometics) e Hidroxiapatita (Biorad, Richmond, CA).

El rHuPH20 soluble se enlazó a una columna Q Sepharose y se eluyó en NaCl 400 mM en las misma solución amortiguadora. El material eluído se diluyó con sulfato de amonio 2M a una concentración final de sulfato de amonio 500 mM y se hizo pasar a través de una columna de Fenil Sepharose (sub baja), seguido al enlazar bajo las mismas condiciones a una resina de boronato de fenilo. El rHuPH20 soluble se eluyó de la resina Phenil sepharose en Hepes de pH 6.9 después del lavado a pH 9.0 en bicina 50 mM sin sulfato de amonio. El material eluído se cargó sobre una resina de hidroxiapatita de cerámica a pH 6.9 en fosfato de potasio 5 mM y $CaCl_2$ 1 mM y se eluyó con fosfato de potasio 80 mM, pH 7.4 con $CaCl_2$ 0.1 mM. El rHuPH20 soluble purificado resultante poseyó una actividad específica en el exceso de 65,000 USP Unidades/mg de proteína por medio del ensayo de microturbiedad (Ejemplo 16) usando el estándar de referencia USP. El sPH20 purificado se eluyó como un pico individual de 24 a 26 minutos de una columna de divinilbenceno estireno 5RPC Pharmacia con un gradiente entre TFA/H_2O y TF A al 0.1%/acetonitrilo al 90%/H_2O al 10% y se resolvió como una banda de 61 kDa de amplitud individual mediante la electroforesis SDS que se redujo a una banda de 51 kDa aguda en el tratamiento con PNGASE-F. La

secuenciación de aminoácidos de N-terminal reveló que el péptido líder había sido removido eficientemente.

B. Proceso de Expansión de Cultivo de Células Corriente Arriba en el Cultivo de Células del Biorreactor de 100 L

Un proceso de intensificación se usó para purificar separadamente el rHuPH20 soluble de cuatro frasquitos diferentes de células 3D35M para producir 4 lotes separados de sHuPH20; HUA0406C, HUA0410C, HUA0415C y HUA0420C. Cada frasquito se expandió y se cultivo separadamente y a través de un biorreactor de 125 L, luego se purificó usando la cromatografía en columna. Las muestras se tomaron por todo el proceso para estimar estos parámetros como el rendimiento de la enzima. La descripción del proceso proporcionado se expone posteriormente en las especificaciones representativas para estas cosas como volúmenes de partida y de alimentación del biorreactor, densidades celulares de transferencia, y volúmenes de lavado y elusión. Los números exactos varían ligeramente con cada lote y son detallados en las Tablas 3 a 10.

Cuatro frasquitos de células 3D35M se descongelaron en un baño de agua a 37°C, se agregó CD CHO que contiene metotrexato 100 nM y 40 mL/L de GlutaMAX^{MR} y las células se centrifugaron. Las células se resuspendieron en un matraz de agitación de 125 mL con 20 mL de medio reciente y se

colocaron en una incubadora a 37°C, CO_2 al 7%. Las células se expandieron hasta 40 mL en el matraz de agitación de 125 mL. Cuando la densidad celular alcanzó 1.5 – 2.5 x 10^6 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 125 mL en un volumen de cultivo de 100 mL. El matraz se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó 1.5 - 2.5 x 10^6 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 250 mL en 200 mL de volumen de cultivo, y el matraz se incubó a 37°C, CO_2 7%. Cuando la densidad celular alcanzó 1.5 - 2.5 x 10^6 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 1 L en 800 mL de volumen de cultivo y se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó 1.5 - 2.5 x 10^6 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 6 L en 5 L de volumen de cultivo y se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó 1.5 - 2.5 x 10^6 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 36 L en 20 L de volumen de cultivo y se incubó a 37°C, CO_2 al 7%.

Se esterilizó un reactor de 125 L con vapor a 121°C, 20 PSI y se agregaron 65 L de medio CD CHO. Antes del uso, el reactor se verificó por contaminación. Cuando la densidad celular en los matraces giratorios de 36 L alcanzó 1.8 -2.5 x 10^6 células/mL, 20 L de cultivo de células se transfirieron de los matraces giratorios de 36 L al biorreactor de 125 L

(Braun), resultando un volumen final de 85 L y una densidad de siembra de aproximadamente 4 x 10^5 células/mL. Los parámetros fueron punto de ajuste de temperatura, 37°C; pH: 7.2; Oxígeno disuelto: 25% ± 10%; Velocidad del Impulsor 50 rpm; Presión del Recipiente 3 psi; Aspersión de Aire 1 L/ min.; Superposición de Aire: 1 L/min. El reactor se muestreó diariamente para los conteos de células, verificación de pH, análisis del medio, producción y retención de proteínas. Las alimentaciones nutrientes se agregaron durante la corrida. En el Día 6, 3.4 L de Medio de Alimentación #1 (CD CHO + 50 g/L de Glucosa + 40 mL/L GlutaMAX-I^{MR} se agregaron, y la temperatura de cultivo se cambió a 36.5°C. En el día 9, se agregaron 3.5 L de Alimentación #2 (CD CHO + 50 g/L de Glucosa + 40 mL/L GlutaMAX-I^{MR} + 1.1 g/L de Butirato de Sodio), y la temperatura del cultivo de cambió a 36°C. En el día 11, se agregaron 3.7 L de Alimentación #3 (CD CHO + 50 g/L de Glucosa + 40 mL/L GlutaMAX-I^{MR} + 1.1 g/L de Butirato de Sodio), y la temperatura de cultivo se cambió a 35.5°C. El reactor se cosechó a 14 días o cuando la viabilidad de las células cayó por debajo de 50%. El proceso dio por resultado la producción de rHuPH20 soluble con una actividad enzimática de 1600 Unidades/ml con una densidad celular máxima de 8 millones de células/mL. En la cosecha, el cultivo se muestreó para micoplasma, carga microbiana, endotoxina, y virus *in*

vitro e *in vivo*, microscopia de electrónica de transmisión (TEM) para las partículas virales, y actividad enzimática.

La cosecha del cultivo de células del bioreactor de cien litros se filtró a través de una serie de filtros de cápsula desechables que tienen un medio de poliéter sulfona (Sartorius): primero a través de una cápsula de 8.0 µm de profundidad, una cápsula de 0.65 µm de profundidad, una cápsula de 0.22 µm, y finalmente a través de un filtro de 2000 cm^2 Sartopore de 0.22 µm y en una bolsa de almacenamiento estéril de 100 L. El cultivo se concentró y 10^x usando dos TFF con filtros MWCO de 30 kDa de with Polietersulfona Espiral (Millipore), seguido por un intercambio de solución amortiguadora 6^x con HEPES 10 mM, Na_2SO_4 25 mM, pH 7.0 en un filtro final de 0.22 µm en una bolsa de almacenamiento estéril de 20 L. La Tabla 10 proporciona los datos de supervisión relacionados con el cultivo de células, cosecha, concentración y etapas de intercambio de solución amortiguadora.

Tabla 10. Datos de supervisión para el cultivo de células, cosecha, concentración y etapas de intercambio de solución amortiguadora

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA04010C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Tiempo de la	21	19	17	18

descongelación para inoculación del bioreactor de 100 L (días)				
Densidad de inoculación de 100 L (x 10^6 células/mL)	0.45	0.33	0.44	0.46
Tiempo doble del crecimiento logarítmico (hr)	29.8	27.3	29.2	23.5
Densidad celular máxima (x 10^6 células/mL)	5.65	8.70	6.07	9-70
Debilidad de la cosecha (%)	41	48	41	41
Título de la cosecha (U/ml)	1964	1670	991	1319
Tiempo en el bioreactor de 100-L (días)	13	13	12	13
Volumen de cosecha clarificada (mL)	81800	93300	91800	89100
Ensayo de enzimas de cosecha clarificada (U/mL)	2385	1768	1039	1425
Ensayo de enzimas concentradas (U/mL)	22954	17091	8561	17785
Ensayo de enzimas concentradas intercambiadas con solución	15829	11649	9915	8679

amortiguadora (U/mL)				
Ensayo de enzimas concentradas intercambiadas con solución amortiguadora filtradas (U/mL)	21550	10882	9471	8527
Volumen concentrado intercambiado con solución amortiguadora (mL)	10699	13578	12727	10500
Relación de unidades de enzimas concentración/cosecha	0.87	0.96	1.32	1.4

Se preparó una columna de intercambio iónico Q Sepharose (Pharmacia) (3 L de resina, altura = 20 cm, Diámetro = 14 cm). Las muestras lavadas se recolectaron para una determinación del ensayo de pH, conductividad y endotoxina (LAL). La columna se equilibró con 5 volúmenes de columna de Tris 10 mM, Na_2SO_4 20 mM pH 7.5. La cosecha diafiltrada concentrada se cargó en la columna Q a una velocidad de flujo de 100 cm/hr. La columna se lavó con 5 volúmenes de columna de Tris 10 mM, Na_2SO_4 20 mM, pH 7.5 y Hepes 10 mM, NaCl 50 mM, pH 7.0. La proteína se eluyó con Hepes 10 mM, NaCl 400 mM, pH 7.0 y se filtró a través de un filtro final de 0.22 µm en una bolsa estéril.

La cromatografía de interacción hidrofóbica Fenil-

Sepharose (Pharmacia) después se realizó. Se preparó una columna Fenil-Sepharose (PS) (9.1 L de resina, Altura = 29 cm, Diámetro = 20 cm). La columna se equilibró con 5 volúmenes de columna de fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M, $CaCl_2$ 0.1 mM, pH 7.0. El eluido de proteína de lo anterior se suplementó con sulfato de amonio 2M, sulfato de potasio 1 M y soluciones madre de $CaCl_2$ 1 M a las concentraciones finales de 5 mM, 0.5 M y 0.1 mM, respectivamente. La proteína se cargó sobre la columna PS a una velocidad de flujo de 100 cm/hr. Se agregaron fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M y $CaCl_2$ 0.1 mM pH 7.0 a 100 cm/hr. El flujo se hizo pasar a través de un filtro final de 0.22 µm en una bolsa estéril.

La proteína purificada con PS luego se cargó sobre una columna de boronato de aminofenilo (ProMedics) (6.3 L de resina, Altura = 20 cm, Diámetro = 20cm) que había sido equilibrada con 5 volúmenes de columna de fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M. La proteína se hizo pasar a través de la columna a una velocidad de flujo de 100 cm/hr, y la columna se lavó con fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M, pH 7.0. La columna luego se lavó con bicina 20 mM, NaCl 100 mM, pH 9.0 y la proteína se eluyó con 50 mM Hepes, NaCl 100 mM pH 6.9 a través de un filtro estéril y en una bolsa estéril de 20 L. El eluído se sometió a prueba para

la carga microbiana, la concentración de proteínas y la actividad enzimática.

La columna de hidroxiapatita (HAP) (BioRad) (1.6 L de resina, Altura = 10 cm, Diámetro = 14 cm) se equilibró con fosfato de potasio 5 mM, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 0.1 mM pH 7.0. Las muestras de lavado se recolectaron y se sometieron a prueba para el pH, conductividad y endotoxina (ensayo LAL). La proteína purificada con boronato de aminofenilo se suplementó con fosfato de potasio y $CaCl_2$ para producir concentraciones finales de fosfato de potasio 5 mM y $CaCl_2$ 0.1 mM y se cargaron sobre la columna HAP a una velocidad de flujo de 100 cm/hr. La columna se lavó con fosfato de potasio 5 mM pH 7.0, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 0.1 mM, luego fosfato de potasio 10 mM pH 7.0, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 0.1 mM pH. La proteína se eluyó con fosfato de potasio 70 mM pH 7.0 y se filtró a través de un filtro de 0.22 µm en una bolsa de almacenamiento estéril 5 L. El eluído se sometió a prueba para la carga microbiana, la concentración de proteína y la actividad enzimática.

La proteína purificada con HAP luego se bombeo a través de un filtro de remoción viral 20 nM por la vía de un tanque de presión. La proteína se agregó al tanque de presión DV20 y el filtro (Pall Corporation), que pasa a través de un filtro Ultipor DV20 con poros de 20 nm (Pall Corporation) en una bolsa de almacenamiento estéril de 20

L. el filtrado se sometió a prueba para la concentración de proteínas, actividad enzimática, y perfiles de oligosacáridos, monosacáridos y ácido siálico, e impurezas relacionadas con el proceso. La proteína en el filtrado luego se concentró a 1 mg/mL usando un sistema (Sartorius) de filtración de flujo tangencial (TFF) Sartocon Slice (MWCO) de peso molecular de 10 kD de corte. El filtro primero se preparó al lavarlo con Hepes/solución salina (Hepes 10 mM, NaCl 130 mM, pH 7.0) y el permeado se muestreó para el pH y la conductividad. Después de la concentración, la proteína concentrada se muestreó y se sometió a prueba para la concentración de proteínas y actividad enzimática. Se realizó un intercambio de solución amortiguadora 6^{x} sobre la proteína concentrada en la solución amortiguadora final: Hepes 10 mM, NaCl 130 mM, pH 7.0. La proteína concentrada se hizo pasar a través de un filtro de 0.22 µm en una bolsa de almacenamiento estéril de 20 L. La proteína se muestreó y se sometió a prueba para la concentración de proteínas, actividad enzimática, grupos sulfidrilo libres, perfil de oligosacáridos y osmolaridad.

Las Tablas 11 a 17 proporcionan datos de supervisión relacionados con cada una de las etapas de purificación descritas anteriormente, para cada lote de células 3D35M.

Tabla 11. Datos de la columna Q sepharose

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen de carga (mL)	10647	13524	12852	20418
Relación de volumen de carga/volumen de resina	3.1	4.9	4.5	7.3
Volumen de Control (nL)	2770	3840	2850	2880
Volumen del Eluato (mL)	6108	5923	5759	6284
Concentración de Proteínas del Eluato (mg/mL)	2.8	3.05	2.80	2.86
Ensayo de Enzimas del Eluato (U/mL)	24493	26683	18321	21052
Rendimiento de la Enzima (%	65	107	87	76

Tabla 12. Datos de la columna de Fenil Sefarosa

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen antes de la Adición de la solución madre (mL)	5670	5015	5694	6251

Volumen de carga (mL)	7599	6693	7631	8360
Volumen de la Columna (mL)	9106	9420	9340	9420
Relación de Volumen de carga/Volumen de Resina	0.8	0.71	0.82	0.89
Volumen del Eluato (mL)	16144	18010	16960	17328
Concentración de Proteínas del Eluato (mg/mL)	0.4	0.33	0.33	0.38
Ensayo de la Enzima del Eluato (U/mL)	8806	6585	4472	7509
Rendimiento de la Proteína (%)	41	40	36	37
Rendimiento de la Enzima (%)	102	88	82	96

Tabla 13. Datos de la columna de Amino Fenil Boronato

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen de carga (mL)	16136	17958	16931	17884
Relación de	2.99	3.15	3.08	2.98

volumen de carga/volumen de resina				
Volumen de la Columna (mL)	5400	5700	5500	5300
Volumen del Eluato (mL)	17595	22084	20686	19145
Concentración de Proteínas del Eluato (mg/mL)	0.0	0.03	0.03	0.04
Concentración de Proteínas del Eluato Filtrado (mg/mL)	no sometido a prueba	0.03	0.00	0.04
Ensayo de Enzimas del Eluato (U/mL)	4050	2410	1523	4721
Rendimiento de la Proteína (%)	0	11	11	12
Rendimiento de la Enzima (%)	no determinado	41	40	69

Tabla 14. Datos de la columna de Hidroxiapatita

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen antes de la Adición de la	16345	20799	20640	19103

solución madre (mL)				
Relación de Volumen de carga/Volumen de Resina	10.95	13.58	14.19	12.81
Volumen de la Columna (mL)	1500	1540	1462	1500
Volumen de la Carga (mL)	16429	20917	20746	19213
Volumen del Eluato (mL)	4100	2415	1936	2419
Concentración de Proteínas del Eluato (mg/mL)	no sometido a prueba	0.24	0.17	0.23
Concentración de Proteínas del Eluato filtrado (mg/mL)	NA	NA	0.17	NA
Ensayo de la Enzima del Eluato (U/mL)	14051	29089	20424	29826
Rendimiento de la Proteína (%)	No sometido a Prueba	93	53	73
Rendimiento de la Enzima (%)	87	118	140	104

Tabla 15. Datos de filtración DV20

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen de partida (mL)	4077	2233	1917	2419
Volumen del Filtrado (mL)	4602	3334	2963	3504
Concentración de Proteínas del Filtrado (mg/mL)	0.1	NA	0.09	NA
Concentración de Proteínas del Eluato Filtrado (mg/mL)	NA	0.15	0.09	0.16
Rendimiento de la Proteína (%)	no sometido a prueba	93	82	101

Tabla 16. Datos de la concentración final

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen de partida (mL)	4575	3298	2963	3492
Volumen del Concentrado (mL)	562	407	237	316
Concentración de Proteínas del Concentrado	0.9	1.24	1.16	1.73

(mg/mL)				
Rendimiento de la Proteína (%)	111	102	103	98

Tabla 17. Datos del Intercambio con Solución Amortiguadora en la Formulación Final

Parámetro	**HUA0406C**	**HUA0410C**	**HUA0415C**	**HUA0420C**
Volumen de partida (mL)	562	407	237	316
Concentrado Intercambiado con Solución Amortiguadora de Volumen Final (mL)	594	516	310	554
Concentración de Proteínas del Concentrado (mg/mL)	1.00	0.97	0.98	1.00
Concentración de Proteínas del Concentrado Filtrado (mg/mL)	0.95	0.92	0.95	1.02
Rendimiento de la Proteína (%)	118	99	110	101

La proteína rHuPH20 soluble purificada y concentrada se

llenó asépticamente en vasitos estériles con 5 mL y 1 mL de volúmenes de llenado. La proteína se hizo pasar a través de un filtro de 0.22 µm a una bomba controlada por un operador que se usó para llenar los frasquitos usando una lectura gravimétrica. Los frasquitos se cerraron con tapones y se aseguraron con tapas engarzadas. Los frasquitos cerrados se inspeccionaron visualmente para partículas extrañas y luego se etiquetaron. Después del etiquetado, los frasquitos se congelaron instantáneamente mediante la inmersión en nitrógeno líquido por no más de 1 minuto y se almacenaron a <15°C (-20 ± 5°C).

EJEMPLO 14

Producción de PH20 humano soluble que contiene células gen2 (rHuPH20)

La línea de células 3D35M Gen1 descrita en el Ejemplo 12 se adaptó a niveles de metotrexato más altos para producir clones de generación 2 (Gen2). Las células 3D35M se seleccionaron de cultivos que contienen metotrexato establecido en el medio CD CHO que contiene GlutaMAX-I^{MR} 4 mM y metotrexato 1.0 µM. Las células se adaptaron a un nivel de metotrexato más alto a desarrollarlas y al pasarlas 9 veces durante un período de 46 días en una incubadora humidificada a 37°C, CO_2 al 7%. La población amplificada de células se clonó al limitar la dilución en las placas de cultivo de

tejido de 96 pocillos que contienen el medio con metotrexato 2.0 µM. Después de aproximadamente 4 semanas, los clones se identificaron y el clon 3E10B se seleccionó para expansión. Las células 3E10B se desarrollaron en el medio CD CHO que contiene GlutaMAX-I^{MR} 4 mM y metotrexato 2.0 µM durante 20 pasajes. Un banco de células maestro (MCB) de la línea de células 3E10B se creó y se congeló y se usó para estudios subsecuentes. La amplificación de la línea de células continuó al cultivar las células 3E10B en el medio CD CHO que contiene GlutaMAX-I^{MR} 4 mM y metotrexato 4.0 µM. Después de la 12^{a} pasada, las células se congelaron en frasquitos como un banco de células de investigación (RCB). Un frasquito de RCB se descongeló y se cultivó en el medio que contiene metotrexato 8.0 µM. Después de 5 días, la concentración de metotrexato en el medio se incrementó a 16.0 µM, luego 20.0 µM 18 días después. Las células de la 8^{a} pasada en el medio que contiene metotrexato 20.0 µM se clonó al limitar la dilución en las placas de cultivo de tejido de 96 pocillos que contiene el medio CD CHO que contiene GlutaMAX-I^{MR} 4 mM y metotrexato 20.0 µM. Los clones se identificaron 5-6 semanas después y el clon 2B2 se seleccionó para expansión en el medio que contiene metotrexato 20.0 µM. Después de la 11^{a} pasada, las células 2B2 se congelaron en frasquitos como un banco de células de investigación (RCB).

Las células 2B2 resultantes son células DG44 CHO deficientes de dihidrofolato reductasa (dhfr-) que expresan el PH20 humano recombinante soluble (rHuPH20). El PH20 soluble está presente en las células 2B2 en un número de copias de aproximadamente 206 copias/célula. El análisis de southern blot del ADN de células 2B2 genómicas digeridas por Spe I-, Xba I- y BamH I/Hind III usando una sonda específica de rHuPH20 reveló el siguiente perfil de digestión de restricción: una banda de hibridación mayor de -7.7 kb y cuatro bandas de hibridación menores (-13.9, -6.6, -5.7 y -4.6 kb) con ADN digerido con Spe I; una banda de hibridación mayor de -5.0 kb y dos bandas de hibridación menor (-13.9 y -6.5 kb) con ADN digerido con Xba I; y una banda de hibridación individual de -1.4 kb observó usando el ADN 2B2 digerido con BamH I/Hind III.

Ejemplo 15

A. Producción del rHuPH20 soluble Gen2 en el Cultivo de Células de Bioreactor de 300 L

Un frasquito de HZ24-2B2 se descongeló y se expandió de los matraces agitadores a través de los matraces giratorios de 36L en el medio CD-CHO (Invitrogen, Carlsbad, CA) suplementado con metotrexato 20 µM y GlutaMAX-I^{MR} (Invitrogen). Brevemente, el frasquito de células se descongeló en un baño de agua a 37°C, el medio se agregó y

las células se centrifugaron. Las células se resuspendieron en un matraz de agitación de 125 mL con 20 mL de medio reciente y se colocó en una incubadora a 37°C, CO_2 al 7%. Las células se expandieron hasta 40 mL en el matraz de agitación de 125 mL. Cuando la densidad celular alcanzó mayor que 1.5 x 10^6 células /mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio y de 125 mL en 100 mL de un volumen de cultivo. El matraz se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó mayor que 1.5 x 10^6 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 250 mL en 200 mL de volumen de cultivo, y el matraz se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó mayor que 1.5 x 10 células/mL, el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 1 L en 800 mL de volumen de cultivo y se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó mayor que 1.5 x 10^6 células/mL el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 6 L en 5000 mL de volumen de cultivo y se incubó a 37°C, CO_2 al 7%. Cuando la densidad celular alcanzó mayor que 1.5 x 106 células/mL el cultivo se expandió en un matraz giratorio de 36 L en 32 L de volumen de cultivo y se incubó a 37°C, CO_2 al 7%.

Un reactor de 400 L se esterilizó y se agregaron 230 mL de medio CD-CHO. Antes del uso, el reactor se verificó por contaminación. Aproximadamente 30 L de células se

transfirieron de los matraces giratorios de 36L al bioreactor de 400 L (Braun) a una densidad de inoculación de 4.0 x 10^5 de células viables por ml y un volumen total de 260L. Los parámetros fueron el punto de ajuste de temperatura, 37°C; Velocidad del Impulsor 40-55 RPM; Presión del Recipiente: 3 psi; Aspersión de Aire 0.5-1.5 L/Min.; Superposición de Aire: 3 L/ minutos. El reactor se muestreó diariamente para los conteos de células, verificación de pH, análisis del medio, producción de proteínas y retención. También, durante la corrida se agregaron alimentaciones de nutrientes. A 120 horas (día 5), se agregaron 10.4 L del Medio de Alimentación #1 (4^x CD-CHO + 33 g/L de Glucosa + 160 mL/L de GlutaMAX-I^{MR} + 83 mL/L de Yeastolate + 33 mg/L de rHulnsulin). A 168 horas (día 7), se agregaron 10.8 L de Alimentación #2 (2^x CD-CHO + 33 g/L de Glucosa + 80 mL/L de GlutaMAX-I^{MR} + 167 mL/L de Yeastolate + 0.92 g/L de Butirato de Sodio), y la temperatura del cultivo se cambió a 36.5°C. A 216 horas (día 9), se agregaron 10.8 L de Alimentación #3 (1 x CD-CHO + 50 g/L de Glucosa + 50 mL/L de GlutaMAX-I^{MR} + 250 mL/L de Yeastolate + 1.80 g/L de Butirato de Sodio), y la temperatura del cultivo se cambió a 36°C. A 264 horas (día 11), se agregaron 10.8 L de Alimentación #4 (1 x CD-CHO + 33 g/L de Glucosa + 33 mL/L de GlutaMAX-I^{MR} + 250 mL/L de Yeastolate + 0.92 g/L de Butirato de Sodio), y la temperatura de cultivo se cambio a

35.5° C. La adición del medio de alimentación se observó para mejorar notablemente la producción de rHuPH20 soluble en las etapas finales de la producción. El reactor se cosechó a 14 o 15 días o cuando la viabilidad de las células cayó abajo de 40%. El proceso dio por resultado una productividad final de 17,000 Unidades por ml con una densidad celular máxima de 12 millones células/mL. En la cosecha, el cultivo se muestreó para micoplasma, carga microbiana, endotoxina y Microscopio Electrónico de transmisión *in vitro* e *in vivo* viral (TEM) y actividad enzimática.

El cultivo se bombeó por una bomba peristáltica a través de cuatro módulos de sistema de filtración Millistak (Millipore) en paralelo, que contiene cada uno una capa de tierra diatomácea graduada a 4-8 µm y una capa de tierra diatomácea graduada a 1.4-1.1 µm, seguido por una membrana de celulosa, luego a través de un segundo sistema de filtración Millistak individual (Millipore) que contiene una capa de tierra diatomácea graduada a 0.4-0.11 µm y una capa de tierra diatomácea graduad a <0.1 µm, seguido por una membrana de celulosa, y luego a través de un filtro final de 0.22 µm en una bolsa flexible de uso individual estéril con una capacidad de 350 L. El fluido del cultivo de células cosechadas se suplementó con EDTA 10 mM y Tris 10 mM a un pH de 7.5. El cultivo se concentró 10^{x} con un aparto de

filtración de flujo tangencial (TFF) usando cuatro filtros de poliétersulfona (PES) de peso molecular de 30 kDa de corte (MWCO) Sartoslice (Sartorious), seguido por un intercambio de solución reguladora 10^x con Tris 10 mM, Na_2SO_4 20 mM, pH 7.5 en un filtro final de 0.22 µm en una bolsa de almacenamiento estéril de 50 L.

La cosecha concentrada, diafiltrada se inactivó para el virus. Antes de la inactivación viral, se preparó una solución de Triton X-100 al 10%, tri (n-butil)-fosfato al 3% (TNBP). La cosecha concentrada, diafiltrada se expuso al Triton X-100 al 1%, TNBP al 0.3% durante 1 hora en un recipiente de reacción de vidrio de 36 L inmediatamente antes de la purificación sobre la columna Q.

B. Purificación de rHuPH20 soluble Gen2

Se preparó una columna de intercambio iónico Q Sepharose (Pharmacia) (9 L de resina, H= 29 cm, D= 20 cm). Las muestras de lavado se recolectaron para una determinación del pH, ensayo de conductividad y endotoxina (LAL). La columna se equilibró con 5 volúmenes de columna de Tris 10 mM, Na2SO4 20 mM, pH 7.5. Después de la inactivación viral, la cosecha concentrada, diafiltrada se cargó sobre la columna Q a una velocidad de flujo de 100 cm/hr. La columna se lavó con 5 volúmenes de columna de Tris 10 mM, Na2SO4 20 mM, pH 7.5 y Hepes 10 mM, NaCl 50 mM, pH7.0. La proteína se eluyó con

Hepes 10 mM, NaCl 400 mM, pH 7.0 en un filtro final de 0.22 µm en una bolsa estéril. La muestra eluída se sometió a prueba para la carga microbiana, la concentración de proteínas y la actividad de la hialuronidasa. La lectura de absorbencia A_{280} se tomó en el inicio y al final del intercambio.

La cromatografía de interacción hidrofóbica Fenil-Sepharose (Pharmacia) se realizó después. Se preparó una columna de Fenil-Speharose (PS) (19-21 L de resina, H=29 cm, D= 30 cm). El lavado se recolectó y se muestreó para pH, la conductividad y endotoxina (ensayo LAL). La columna se equilibró con 5 volúmenes de columna de fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M, CaCl2 0.1 mM, pH 7.0. El eluido de proteínas de la columna de Q sepharose se suplementó con sulfato de amonio 2M, fosfato de potasio 1 M y soluciones madre de $CaCl_2$ 1 M para producir las concentraciones finales de 5 mM, 0.5 M y 0.1 mM, respectivamente. La proteína se cargó sobre la columna PS a una velocidad de flujo de 100 cm/hr y el flujo de columna a través del recolectado. La columna se lavó con fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M y CaC12 0.1 mM pH 7.0 a 100 cm/hr y el lavado se agregó al flujo recolectado. Combinado con el lavado de columna, el flujo se hizo pasar a través de un filtro final de 0.22 µm en una bolsa estéril. El flujo se muestreó para

carga microbiana, concentración de proteína y actividad enzimática.

Se preparó una columna de boronato de aminofenilo (Promtics). El lavado se recolectó y se muestreó para pH, conductividad y endotoxina (ensayo LAL). La columna se equilibró con 5 volúmenes de columna de fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M. El flujo PS que contiene la proteína purificada se cargó sobre la columna de boronato de aminofenilo a una velocidad de flujo de 100 cm/hr. La columna se lavó con fosfato de potasio 5 mM, sulfato de amonio 0.5 M, pH 7.0. La columna se lavó con bicina 20 mM, sulfato de amonio 0.5 M, pH 9.0. La columna se lavó con bicina 20 mM, cloruro de sodio 100 mM, pH 9.0. La proteína se eluyó con Hepes 50 mM, NaCl 100 mM, pH 6.9 y se hizo pasar a través de un filtro estéril en una bolsa estéril. La muestra eluída se sometió a prueba para la carga microbiana, concentración de proteínas y actividad enzimática.

Se preparó la columna de hidroxiapatita (HAP) (Biorad). El lavado se recolectó y se sometió a prueba para pH, conductividad y endotoxina (ensayo LAL). La columna se equilibró con fosfato de potasio 5 mM, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 0.1 mM, pH 7.0. La proteína purificada con boronato de aminofenilo se suplementó a las concentraciones finales de fosfato de potasio 5 mM y $CaCl_2$ 0.1 mM y se cargó sobre la

columna HAP a una velocidad de flujo de 100 cm/hr. La columna se lavó con fosfato de potasio 5 mM, pH 7, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 0.1 mM. La columna luego se lavó con fosfato de potasio 10 mM, pH 7, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 0.1 mM. La proteína se eluyó con fosfato de potasio 70 mM, pH 7.0 y se hizo pasar a través de un filtro estéril de 0.22 µm en una bolsa estéril. La muestra eluída se sometió a prueba para carga microbiana, concentración de proteínas y actividad enzimática.

La proteína purificada HAP luego se hizo pasar a través de un filtro de remoción viral. El filtro Viosart esterilizado (Sartorius) primero se preparó al lavar con 2 L de fosfato de potasio 70 mM, pH 7.0. Antes del uso, la solución amortiguada filtrada se muestreó para pH y conductividad. La proteína purificada con HAP se bombeó por la vía de una bomba peristática a través del filtro de remoción viral de 20 nM. La proteína filtrada en fosfato de potasio 70 mM, pH 7.0 se hizo pasar a través de un filtro final de 0.22 µm en una bolsa estéril. La muestra filtrada viral se sometió a prueba para la concentración de proteínas, actividad enzimática, perfil de oligosacáridos, monosacáridos y ácido sialico. La muestra también se sometió a prueba para impurezas relacionadas con el proceso.

La proteína en el filtrado luego se concentró a 10 mg/mL usando un sistema de filtración de flujo tangencial (TFF)

Sartocon Slice (MWCO) de peso molecular de 10 kD de corte (Sartorius). El filtro primero se preparó al lavarlo con histidina 10 mM, NaCl 130 mM, pH 6.0 y el permeado se muestreó para pH y conductividad. Después de la concentración, la proteína concentrada se muestreó y es sometió a prueba para la concentración de proteínas y actividad enzimática. Se realizó un intercambio de solución amortiguadora 6^{x} sobre la proteína concentrada en la solución amortiguadora final: histidina 10 mM, NaCl 130 mM, pH 6.0. Después del intercambio de solución amortiguadora, la proteína concentrada se hizo pasar a través de un filtro de 0.22 µm en una bolsa de almacenamiento estéril de 20 L. La proteína se muestreó y se sometió a prueba la concentración de proteínas, actividad enzimática, grupos de sulfidrilo libres, perfil de oligosacáridos y osmolaridad.

La proteína de volumen filtrada estéril luego se dispensó asépticamente en 20 mL en frasquitos Teflón 30 mL (Nalgene). Los frasquitos luego se congelaron instantáneamente y se almacenaron a - 20 ± 5°C.

C. Comparación de la producción y purificación del rHuPH20 soluble Gen 1 y rHuPH20 soluble Gen 2.

La producción y purificación de rHuPH20 soluble Gen2 en un cultivo de células de bioreactor 300L contuvo algunos cambios en los protocolos comparados con la producción y

purificación del rHuPH20 Gen 1 en un cultivo de células del bioreactor de 100L (descrito en el Ejemplo 13.B). La Tabla 18 expone diferencias ejemplares, además de los cambios de intensificación simples, entre los métodos.

Tabla 18

Diferencia del Proceso	**rHuPH20 soluble Gen 1**	**rHuPH20 soluble Gen 2**
Línea de Células	3D35M	2B2
Medio usado para expandir el inoculo de células	Contiene metotrexato 0.10 µm (0.045 mg/L)	Contiene metotrexato 20 µm (9 mg/L)
Medio en cultivos de 6 L hacia afuera	Contiene metotrexato 0.10 µm	No contiene metotrexato
Agitador giratorio de 36 L	Si instrumentación Volumen de operación de 10 L	Equipado con instrumentación que supervisa y controla el pH, oxígeno disuelto, aspersión y velocidad de flujo de gas traslapante. Volumen de operación de 32 L
Volumen de operación final en el biorreactor	Aproximadamente 100 L en un biorreactor de 125 L (volumen de cultivo inicial + 65 L)	Aproximadamente 300 L en un biorreactor de 400 L (volumen de cultivo inicial + 260 L)
Medio de cultivo	Sin rHulnsulin	5.0 mg/L de

en el biorreactor final		rHulnsulin
Volumen de alimentación del medio	Aumentado a 4% del volumen de cultivo de células del biorreactor es decir 3.4, 3.5 y 3.7 L, dando por resultado un volumen de biorreactor objetivo de ~92 L	Aumentado a 4% del volumen de cultivo de células del biorreactor es decir 10.4, 10.8 y 1.7 L, dando por resultado un volumen de biorreactor objetivo de ~303 L
Alimentación del medio	Medio de alimentación #1: CD CHO + 50 g/L de Glucosa + GlutaMAX-1^{MR} 8mM Alimentación #2 (CD CHO + 50 g/L de Glucosa + GlutaMax^{MR} 8 mM + 1.1 g/L de Butirato de sodio Alimentación #3: CD CHO + 50 g/L de Glucosa + GlutaMax^{MR} 8mM + 1.1 g/L de Butirato de sodio	Medio de alimentación 31: 4x CD CHO + 33 g/L de Glucosa + GlutaMAX^{MR} 33mM + 16.6 g/L Yastolate + 33 mg/L rHulnsulin Alimentación #2; 2x CD CHO + 33 g/L de Glucosa + GlutaMAX^{MR} 16 mM+ 33.4 g/L de Yastolate + 0.92 g/L de Butirato de sodio Alimentación #3: 1x CD CHO + 50 g/L de Glucosa +

		GlutaMAX^{MR} 10 mM + 50 g/L de Yastolate + 1.80 g/L de Butirato de sodio Alimentación #4: 1x CD CHO + 33 g/L de Glucosa + GlutaMAX^{MR} 6.6 mM + 50 g/L de Yastolate + 0.92 g/L de Butirato de sodio
Filtración del cultivo de células del biorreactor	Cuatro filtros de poliétersulfona (8.1 µm, 0.65 µm, 0.22 µm y 0.22 µm) en serie Bolsa de almacenamiento de 100 L	1ª etapa - Cuatro módulos en paralelo, cada uno con una capa de tierra diatomácea graduada de 4-8 µm y una capa de tierra diatomácea graduada a 1.4 - 1.1 µm, seguido por una membrana de celulosa. 2ª etapa - Un módulo que contiene una capa de tierra diatomácea graduada a 0.4 - 0.11 µm y una capa de tierra diatomácea graduada a < 0.1 µm, seguido

		por una membrana de celulosa. 3ª etapa - filtro de poliétersulfona de 0.22 µm Bolsa de almacenamiento de 300 L El cultivo de células cosechado se suplementa con EDTA 10 mM, Tris 10 mM a un pH de 7.5
Concentración e intercambio con solución amortiguadora antes de la cromatografía	Concentrado con 2 TFF con filtro MWCO de 30 K de poliétersulfona espiral Millipore Intercambiar con solución amortiguadora el concentrado 6x con Hepes 10 mM, NaCl 20 mM, pH 7.0 Bolsa de almacenamiento estéril de 20 L	Concentrado usando cuatro filtros MWCO de 30 K Sartorius Sartoslice TFF Intercambiar con solución amortiguadora el concentrado 10x con Tris 10 mM, Na2SO2 20 mM, pH 7.5 Bolsa de almacenamiento estéril de 50 L
Inactivación viral antes de la cromatografía	Ninguno	Inactivación viral realizada con la adición de un Triton x-100 al 1%,

		fosfato de tributilo al 0.3%, pH 7.5
1ª etapa de purificación (Q Sepharose)	Sin lectura de absorbencia	Mediciones A280 al inicio y al final
Filtración viral después de la cromatografía	Filtro PALL DV-20 (20 mM)	Filtro Sartorius Virosart (20 mM)
Concentración e intercambio con solución amortiguadora después de la cromatografía	Solución amortiguadora Hepes/solución salina pH 7.0 Proteína concentrada a 1 mg/ml	Solución amortiguadora histidina/solución salina, pH 6.0 Proteína concentrada a 10 mg/ml

Ejemplo 16

Determinación de la actividad de la hialuronidasa del rHuPH20 soluble

La actividad de la hialuronidasa del rHuPH20 soluble en las muestras tales como cultivos de células, fracciones de purificación y soluciones purificadas se determinó usando un ensayo turbidométrico, el cual se basa en la formación de un precipitado insoluble cuando el ácido hialurónico se enlaza con el albúmina de suero. La actividad se mide al incubar rHuPH20 soluble con hialuronato de sodio (ácido hialurónico) durante un período de ajuste de tiempo (10 minutos) y luego al precipitar el hialuronato de sodio no digerido con la

adición de albúmina de suero ácida. La turbiedad de la muestra resultante se mide a 640 nm después de un período de desarrollo de 30 minutos. La disminución en la turbiedad que resulta de la actividad enzimática en el substrato de hialuronato de sodio es una medición de la actividad enzimática de rHuPH20 soluble. El método se corre usando una curva de calibración generada con diluciones de un estándar de referencia de trabajo de ensayo rHuPH20 soluble, y se hacen mediciones de actividad de muestra relativas con esta curva de calibración.

Las diluciones de la muestra se prepararon en soluciones diluyentes de enzimas. La solución diluyente de enzima se preparó al disolver 33.0 ± 0.05 mg de gelatina hidrolizada en 25.0 mL de solución amortiguadora de reacción PIPES 50 mM (NaCl 140 mM, PIPES 50 mM, pH 5.5) y 25.0 mL de SWFI, y al diluir 0.2 mL de solución de Buminato al 25% en la mezcla y por movimiento vorticial durante 30 segundos. Esto se realizó dentro de 2 horas de uso y se almacenó sobre hielo hasta que se requirió. Las muestras se diluyeron a un estimado de 1-2 U/mL. Generalmente, la dilución máxima por etapa no excedió 1:100 y el tamaño de muestra inicial para la primera dilución no fue menor que 20 µL. Los volúmenes de muestra mínimos necesarios para realizar el ensayo fueron: Muestras en Proceso, Fracciones FPLC: 80 µL; Sobrenadantes de Cultivo de

tejido: 1 mL; Material Concentrado 80 µL; Material de etapa Purificada o Final: 80 µL. Las diluciones se hicieron en triplicado en una placa de 96 pocillos de enlace de proteína baja, y 30 µL de cada dilución se transfirió a placas de fondo negro/claro Optilux (BD BioSciences).

Las diluciones de rHuPH20 soluble conocido con una concentración de 2.5 U/mL se prepararon en solución diluyente de enzimas para generar una curva estándar y se agregaron a la placa Optilux en triplicado. Las diluciones incluyeron 0 U/mL, 0.25 U/mL, 0.5 U/mL, 1.0 U/mL, 1.5 U/mL, 2.0 U/mL y 2.5 U/mL. Los pocillos "vacíos de reactivo" que contuvieron 60 µL de Solución Diluyente de Enzima se incluyeron en la placa como un control negativo. La placa luego se cubrió y se calentó sobre un bloque de calor durante 5 minutos a 37°C. La cubierta se removió y la placa se agitó durante 10 segundos. Después de la agitación, la placa se regresó al bloque de calor y el dispositivo de Manejo de Líquido MULTIDROP 384 se preparó con 0.25 mg/mL de solución de hialuronato de sodio (preparada al disolver 100 mg de hialuronato de sodio (LifeCore Biomedical) en 20.0 mL de SWFI. Esta se mezcló al hacer girar suavemente y/o al balancearse a 2-8°C durante 2-4 horas, o hasta que se disolvió completamente). La placa de reacción se transfirió al MULTIDROP 384 y la reacción se inició al presionar la tecla de inicio para dispensar 30 µL

de hialuronato de sodio en cada pocillo. La placa luego se removió del MULTIDROP 384 y se agitó durante 10 segundos antes de ser transferido a un bloque de calor con la cubierta de la placa reemplazada. La placa se incubó a 37°C durante 10 minutos.

El MULTIDROP 384 se preparó para retener la reacción al preparar la máquina con solución de trabajo de suero y al cambiar el ajuste del volumen a 240 µL. (25 mL de solución madre en suero [1 volumen de Suero de Caballo (Sigma) se diluyó con 9 volúmenes de Solución Amortiguadora de Acetato 500 mM y el pH se ajustó a 3.1 con ácido clorhídrico] en 75 mL de Solución Amortiguadora de Acetato 500 mM). La placa se removió del bloque de calor y se colocó sobre el MULTIDROP 384 y 240 µL de las Soluciones de Trabajo de suero se dispensaron en los pocillos. La placa se removió y se agitó sobre un lector de placas durante 10 segundos. Después de 15 minutos adicionales, la turbiedad de las muestras se midió a 640 nm y la actividad enzimática (en U/mL) de cada muestra se determinó al ajustarse a la curva estándar.

Se calculó la actividad específica (U/mg) al dividir la actividad enzimática (U/ml) por la concentración de proteínas (mg/mL).

EJEMPLO 17

Catepsina-L Corta los Septos Fibrosos en el Espacio

Subcutáneo de las Ratas Zucker

Ratas Zucker se trataron mediante la administración de 90 µg/ml de catepsina-L en solución amortiguadora MES, pH 5.3 e histología realizada sobre secciones de la piel para visualizar los septos fibrosos. Como un control, las ratas se trataron con solución amortiguadora MES, pH 5.3 solo. Las secciones se fijaron y se tiñeron con tinción Trichrome de Masson para la visualización de colágeno como se describe en el Ejemplo 5. Las secciones también se tiñeron con Hemotoxilina y Eosina. Brevemente, las secciones se desparafinizaron y se hidrataron con agua. Si las secciones se fijaron con Zenker, los cristales de cloruro de mercurio se removieron con yodo y se clarificaron con tiosulfato de sodio. Las muestras se tiñeron con hematoxilina de Mayer durante 15 minutos, seguido por el lavado en agua potable corriente durante 20 minutos. Las secciones se contratiñeron con eosina durante 15 segundos a 2 minutos dependiendo de la edad de la eosina, y la profundidad de la contratinción deseada. Para los resultados de tinción uniforme, los portaobjetos se sumergieron varias veces antes de permitirles ajustarse en la eosina. Las secciones se deshidrataron en alcoholes en 95% y absolutos con dos cambios de dos minutos cada uno hasta que se removió el exceso de eosina. Los portaobjetos se verificaron bajo un microscopio antes de ser

clarificados con xileno con dos cambios en dos minutos cada uno. Las secciones se montaron en Permount o Histoclad. Los resultados muestran que en los animales de control tratados con solución amortiguadora ácida únicamente, los lóbulos adiposos hipodérmicos se separaron por una red compleja de septos fibrosos de colágeno que se extienden perpendicularmente a la superficie de la piel. El tratamiento de las ratas con catepsina-L da por resultado la degradación de los septos fibrosos de la hipodermis.

La organización de los septos fibrosos se visualizó adicionalmente con un anticuerpo anticolágeno de conejo después del tratamiento con solución amortiguadora MES, pH 5.3 sin catepsina-L, con 90 µg/ml de catepsina-L o con 90 µg/ml de colagenasa bacteriana en solución reguladora HEPES 50 mM, pH 7.4. Los resultados muestran una distribución de colágeno normal en las ratas de control tratadas con únicamente solución amortiguadora MES ácida. El tratamiento de las ratas con catepsina-L mostró una tinción disminuida para el colágeno que evidencia la degradación del colágeno que evidencia la degradación del colágeno. La degradación del colágeno sin embargo, fue mucho más pronunciada por el tratamiento de ratas con colagenasa bacteriana. Estos resultados demuestran que la catepsina-L tiene un control temporal mayor de degradación de colágeno comparada con la

colagenasa bacteriana.

EJEMPLO 18

Duración de la Acción Enzimática de la Catepsina-L en la Dermis de la Rata Zucker

La duración de la acción enzimática de la catepsina-L se estimó en la dermis de la rata Zucker usando dos métodos complementarios: técnica de Western blots y actividad enzimática. Las ratas se inyectaron en la dermis con 1 mL de 1200 unidades/ml de rHuPH20, pH 5.3, que contiene epinefrina (2.5 ug/mL) para inducir la contracción vascular. Esto se siguió inmediatamente por una inyección de 1 mL de 100 µg/mL de catepsina-L recombinante, pH 5.3, en solución amortiguadora MES 50 mM. Las incisiones se hicieron no en el sitio de inyección y el perfusionado del intersticio se recolectó de 3 a 70 minutos después de la inyección con una pipeta Eppendorf de 20 µL y 200 µL. El fluido se analizó mediante el análisis Western blot para la degradación del colágeno como se describe en el Ejemplo 10 y al medir la actividad enzimática de la catepsina-L como se determina de la velocidad de la hidrólisis de un substrato fluorogénico comercialmente disponible, la actividad que se expresa como unidades de fluorescencia relativas (RFU)/minuto, designada como Z-Leu-Arg-AMC, durante 1 hora como se describe en el Ejemplo 9. Los valores de pH del perfusionado de fluido

intersticial se registró usando tiras indicadoras de pH (EMD Chemicals, Inc., Gibbstown, NJ, Cat#9588). Los datos se muestran en la Tabla 19.

La actividad enzimática máxima se midió dentro de 10 minutos después del tratamiento. La actividad disminuyó por aproximadamente 50% a 30 minutos y aproximadamente 70% a 60 minutos después de la administración en la dermis.

Tabla 19. Tiempo después de la administración en relación con la actividad de la catepsina-L y pH del fluido de intersticio después de la administración de 100 µg/mL de catepsina-L recombinante, pH 5.3.

Tiempo (minutos después de la inyección)	**Actividad de la catepsina-L (RFU/minutos)**	**pH del perfundido**
9	1930	5-5.5
12	1917	5-5.5
15	1759	5-5.5
18	1261	5-5.5
21	1165	5-5.5
25	1115	5.5
30	950	5.5-6
40	669	5.5-6
60	636	6

EJEMPLO 19

Efecto de Respuesta de Dosis de la Catepsina-L sobre la Degradación del Colágeno en la Dermis de la Rata Zucker

Después de la administración de 1 ml de 1200 U/ml de rHuPH20, pH 5.3 en la dermis de las ratas Zucker, 1 ml de

dosis de catepsina-L que varía de 1 µg/mL a 500 µg/mL se administraron en la dermis de las ratas Zucker. Veinte minutos después de la inyección, se recolectaron las biopsias, se fijaron en fijador de Bouin, y se procesaron para histología. Las secciones se tiñeron con Hematoxilina y Eosina, y Trichrome Masson para la visualización del colágeno como se describe en el Ejemplo 5. Las incisiones se hicieron con un escalpelo en el sitio de inyección y se recolectó el fluido del intersticio.

El análisis histológico de la piel tratada y el análisis Western blot de los perfusionados se llevaron a cabo como se describe en los Ejemplos 5 y 10, respectivamente. Una alícuota de 25 µL de fluido de intersticio se mezcló con 5 µL con solución amortiguadora de muestra de carga en gel 6X para SDS-PAGE. El volumen total de las muestras se cargó sobre geles de Tris-Glicina al 4-12% (Invitrogen, Carlsbad, CA, Cat# EC6038) y la electroforesis se llevó a cabo en la solución amortiguadora corriente SDS de Tris-Glicina hasta que el frente de tinte de los marcadores de peso molecular pre-teñidos (Invitrogen, Cat# LC5925) alcanzó el fondo del gel. Las proteínas se transfirieron sobre una membrana de nitrocelulosa (Invitrogen, Cat#LC2001) usando el módulo

de XCell II Blot (Invitrogen, Cat# IB1001) a 20V durante 1.5 horas a 4°C en una solución amortiguadora de Metanol al 20%, Tris 25 mM, y Glicina 220 mM. La transferencia se verificó por la ausencia casi completa de color de las bandas marcadoras pre-teñidas sobre el gel. La membrana se bloqueó en una solución amortiguadora que consiste de leche en polvo sin grasa al 2% en PBST (solución salina amortiguada con fosfato (PBS) (NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, fosfato 10 mM, pH 7.4), con el detergente Tween 20 (0.05% v/v) para el uso como una solución amortiguadora de lavado y diluyente para el ELISA) durante 30 minutos a temperatura ambiente. El colágeno I se detectó con un anticuerpo policlonal de conejo para el colágeno I humano (Abeam, Cambridge, MA, Cat#ab34710) usado en 1 µg/mL de concentración final en PBST y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora seguido por un IgG anticonejo de cabra conjugado con HRP (Calbiochem, San Diego, CA, Cat#DC03L) usado en una concentración de 33 ng/mL en PBST durante 1 hora a temperatura ambiente. La señal HRP se desarrolló por la solución de desarrollo de membrana insoluble TMB (Calbiochem, Cat# 613548) y la reacción se detuvo al enjuagarla en ddH20 o después de 5-10 minutos a temperatura ambiente.

El análisis histológico y western blot mostró que

las bases incrementadas de catepsina-L dieron por resultado una degradación de colágeno dependiente de dosis. El análisis Western blot indicó que las concentraciones más altas de catepsina-L dieron por resultado una degradación de colágeno más extensiva como es juzgado por la presencia de numerosas bandas de peso molecular bajo en las muestras tratadas con 100 µg/mL.

EJEMPLO 20

Efecto Dependiente de Dosis de la Catepsina-L en la Interrupción de los Septos Fibrosos

Después de la administración de 1 mL de 1200 U/ml de rHuPH20 en MES 50 mM, NaCl 150 mM, pH 5.3, se les administró a las ratas Zucker 1 mL de dosis de catepsina-L recombinante humana que varía de 1, 10, 50, 100, 250, y 500 µg/mL en solución amortiguadora MES, pH 5.3, a la dermis. Como un control, las ratas se trataron con solución amortiguadora MES, pH 5.3, solas. Veinte minutos después de la inyección, los perfusionados del intersticio se recolectaron de los sitios de inyección como se describe en el Ejemplo 18. Las biopsias de la piel se recolectaron, se fijaron en fijador de Bouin y se procesaron para histología. Las secciones desparafinadas se tiñeron con Hematoxilina y Eosina, y Trichrome de Masson para la visualización del colágeno como se

describe en el Ejemplo 5. Las técnicas Western blot se llevaron a cabo como se describe en el Ejemplo 10.

Los resultados del análisis de histología y Western blot mostró que la degradación de la catepsina-L recombinante del colágeno en la rata Zucker fue dependiente de dosis. La interrupción de los septos fibrosos fue claramente visible la piel tratada 10 µg/mL de catepsina-L.

EJEMPLO 21

Efecto de la Consistencia Iónica Sobre el Efecto de la Catepsina-L en la Dermis de la Rata Zucker

El período de tiempo de la actividad enzimática de la catepsina-L inyectada en la dermis se estudió como una función de la consistencia iónica de la solución amortiguadora y la epinefrina.

A las ratas Zucker se les inyectó con 1 mL de 1200 U/ml de rHuPH20 seguido por 1 mL de 25 µg/mL de catepsina-L 1, 5, 10 y 50 mM de solución amortiguadora MES, NaCl 150 mM, pH 5.3. El perfusionado del intersticio se recolectó en 20 minutos después de la administración. Los valores de pH del perfusionado del fluido intersticial se registró usando tiras indicadoras de pH (EMD Chemicals, Inc., Gibbstown, NJ, Cat#9588) y la actividad enzimática de la and catepsina-L en la dermis

se midió como se describe en el Ejemplo 9. Los valores de pH del perfusionado térmico fue de 7.5 para la consistencia de la solución amortiguadora iónica baja (MES 1, 5, y 10 mM, pH5.3). El valor de pH del perfusionado dérmico fue de 6.5 cuando la catepsina-L se suministró en MES 50 mM, pH 5.3. No se detectó actividad enzimática medible cuando la catepsina-L se les suministró en la consistencia de la solución amortiguadora iónica baja (MES 1, 5, y 10 mM). Se detectó actividad enzimática robusta en el perfusionado del sitio de inyección administrado con la catepsina-L formulada en MES 50 mM. Estos resultados indicaron que la actividad enzimática de la catepsina-L se puede modular ajustadamente por la consistencia iónica de la solución amortiguadora.

EJEMPLO 22

Interrupción de los Septos Fibrosos por la Catepsina-L Inyectada Dentro de la Subdermis de la rata Zucker

El efecto de una sola dosis de catepsina-L inyectada dentro de la subdermis de la rata Zucker ratas estimó en 22 ratas Zucker macho tratadas con ya sea 10 o 100 µg/mL de catepsina-L en solución amortiguadora MES 50 mM, NaCl 150 mM, pH 5.3 después de la administración de 1200 U/ml de rHuPH20 en MES 50 mM, NaCl 150 mM, pH 5.3. Las

biopsias se tomaron una vez a la semana durante un periodo de 20 semanas y se analizaron histológicamente como se describe en el Ejemplo 5. Un solo tratamiento con ya sea 10 µg/ml o 100 µg/ml de dosis de catepsina-L dio por resultado una interrupción rápida de los septos fibrosos como se describe en el Ejemplo 17. El análisis histológico de las biopsias tomadas en la semana 4 indicó que el número de septos fibrosos fue más bajo en las áreas tratadas que en las áreas no tratadas. A partir de la semana 20 y adelante, la orientación vertical típica de los septos fibrosos no se observó en las área tratadas. Más bien la orientación del colágeno en la epidermis fue horizontal y paralela a la superficie de la piel, consisten con la remodelación del tejido.

EJEMPLO 23

La administración de Catepsina-L no está Asociada con Efectos Adversos

El estudio de seguridad de la catepsina-L intravascularmente no muestra efectos adversos obvios. Se les administró 25 g de catepsina recombinante a ratones balb/c machos (Charles River) y 200 g de catepsina recombinante a ratas Sprague Dawley macho (Harlan Laboratories) en MES 50 mM, NaCl 150 mM, pH 5.3 en concentraciones de hasta 12 mg/kg en la vena de la cola.

Los animales se observaron durante una semana para efectos adversos. No se registró efecto adverso mediante la observación lateral de la jaula.

EJEMPLO 24

La Catepsina-L Altera la Estructura de la Microestructura de los Septos Fibrosos en la Hipodermis de Cerdo

Cerdos Yorkshire anestesiados (SNS farms, Ramona, Ca) recibieron 5 mL de MES 50 mM, solución amortiguadora NaCl 150 mM en pH 5.3 que contiene 1200 LVmL de rHuPH20 a través de una aguja de mariposa de calibre 23 (Terumo, Leuven, Belgium Cat#CE0197) insertada dentro de la epidermis del flanco, seguido inmediatamente por i) 5 mL de 50 µg/ml de catepsina-L en MES 50 mM, solución amortiguadora NaCl 150 mM, pH 5.3; o ii) 50 µg de colagenasa bacteriana en HEPES 50 mM, solución amortiguadora NaCl 150 mM, pH 7.4. Los controles fueron solución amortiguadora MES 50 mM, NaCl 150 mM, pH 5.3; rHuPH20 solo pH 5.3; y catepsina-L en pH 7.4. se cosecharon biopsias completas en 2 horas, 24 horas y siete días después del tratamiento y se fijaron en el fijador de Bouin. Se cortaron secciones histológicas de seis mm y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina o con tinción de colágeno de Trichrome de Mason. Los cambios

totales caracterizador por descoloración de café intenso se observaron en los sitios inyectados con colagenasa, pero a un grado mucho menor en el sitio tratado con catepsina-L. No es observaron cambios totales en los sitios inyectados con los controles o en la piel no tratada. Estos resultados muestran que el tratamiento con catepsina-L está acompañado con mínimo sangrado comparado con la inyección de colagenasa bacteriana.

Los cambios totales correlacionados típicamente con los descubrimientos histológicos del sangrado del sitio de inyección subcutáneo substancial con colagenasa, pero sangrado mínimo con catepsina-L. La microarquitectura de los septos fibrosos se caracterizó por separación longitudinal, desintegración y angulación de las fibras de colágeno en la piel inyectada con catepsina-L y colagenasa bacteriana, comparada con los septos de colágeno densamente empacados en la piel tratada únicamente con solución amortiguadora MES. Los resultados de histología, sin embargo, mostraron un cambio más severo en la microestructura de los septos en el sitio tratado con colagenasa comparado con el sitio tratado con catepsina-L, consistente con los resultados de hemorragia. Además, el tratamiento con dosis de colagenasa bacteriana tan bajas como 5 µg/mL dieron por

resultado ramdomiolisis grave. Estos resultados demuestran que mientras que la catepsina-L degrada el colágeno y altera la estructura de los septos fibroso, sus efectos son más controlados que la colagenasa bacteriana debido a que la catepsina-L se inactiva rápidamente en pH fisiológico mientras que la colagenasa está activa durante un período de tiempo prolongado en pH fisiológico.

En otro estudio, los cerdos recibieron 5 mL de 120/ml U rHuPH20 en pH 5.3 seguido por 5 mL de catepsina-L recombinante en dosis que varían de 5 a 1000 µg/mL (5, 25, 50, 100, 200, 500 y 1000 µg/mL) en MES 50 mM, NaCl 150 mM, pH 5.3. Se cosecharon biopsias de piel gruesa completas en 2 y 24 horas después del tratamiento, se fijaron en el fijador de Bouin y se procesaron para H&E o con Trichrome Masson para la tinción de colágeno como se describe en el Ejemplo 5. El examen visual de la piel escisada 2 horas y 24 horas después de la inyección mostró que hubo un sangrado moderado en el sitio de inyección tratado con dosis de 25 µg/mL y arriba. La ramdomiolisis se observó solamente en el área de los sitios de inyección en las dosis altas de 500 µg/mL y 1000 µg/mL de la catepsina-L recombinante.

Ejemplo 25

Efecto de las Condiciones de Reducción en la Actividad Enzimática de Catepsina-L para un Substrato Fluorogénico

El efecto de los agentes de reducción en la actividad enzimática de catepsina-L se procesó por ensayo usando un sustrato fluorogénico fabricado personalizado, designado Z-His-Arg-Tyr-Arg-AMC (SEQ ID NO: 536; Z=:N-carbobenciloxi; AMC: 7-Amino-4-Metil Coumarin) (Biomatik Corp., Wilmington, DE). La actividad de catepsina-L en RFU/Sec se determinó en la presencia de cisteína (Spectrum Chemical, Gardena, CA; Catálogo # C1473) o TCEP (tris (2-carboxietil)fosfina) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO Cat. # C4706).

Se usó catepsina-L activada en una concentración de reserva de 7.85 mg/mL que contiene cisteína 5 mM. 2 ng/ml de catepsina-L se incubó con 20 µM de sustrato de péptido fluorogénico Z-His-Arg-Tyr-Arg-AMC a 37°C durante 30 minutos a 37°C en un volumen total de 200 µl de solución amortiguadora de citrato de sodio 50 mM pH 6.5, DMSO al 2%, Brij-35 al 0.01% que contiene la concentración apropiada de cisteína o TCEP como se indica en la Tabla 19A. Las incubaciones se realizaron en una microplaca de fondo opaco. La fluorescencia resultante se leyó en una emisión de excitación óptima 360nm - 460 nm para el sustrato en un lector de placa fluorescente (Molecular Devices, Spectramax

M5, Sunnyvale, CA). Después la respuesta de dosis se ajusta en el software Graphpad Prizm (Graphpad Software, La Jolla, CA), los ajustes de la curva tienen valores R^2 >0.998. Los resultados mostrados en la Tabla 19A a continuación indican que la presencia de un agente de reducción incrementa la actividad de catepsina-L

TABLA 19A: Efecto de los Agentes de Reducción en la actividad de Catepsina-L

µM Reductor	Actividad	% de actividad máximo
10000	413.577	99.7%
3333	414.853	100.0%
1111	303.383	73.1%
370	101.905	24.6%
123	17.821	4.3%
41	3.310	0.8%
14	1.384	0.3%
10000	358.5	88.4%
3333	405.4	100.0%
1111	399.5	98.5%
370	385.1	95.0%
123	388.9	95.9%
41	331.9	81.9%
14	172.1	42.5%
4.6	26.7	6.6%
1.5	0.7	0.2%

Ejemplo 26

Actividad Enzimática de catepsina-L en Sustratos

La catepsina-L en una concentración de 0.25 mg/ml se incubó con ya sea una de las siguientes tres proteínas (Colágeno Tipo I en 0.5 mg/ml; HSA en 0.25 mg/ml; y PH20 en 0.25 mg/ml) o como una mezcla de dos o tres a 37°C durante hasta 16 horas en una solución amortiguadora que contiene

ya sea acetato de sodio 50 mM pH 5, acetato de sodio 50 mM pH 6 ó Hepes 50 mM pH 7. En varios puntos de tiempo (0, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min, 240 min, y durante la noche), las alícuotas de las muestras se tomaron y analizaron por SDS-PAGE usando tinción azul. La degradación de la proteína por catepsina-L fue dependiente de la dosis y se observó para cada uno de los sustratos probados por una disminución visual en la intensidad de la proteína intacta. La degradación del colágeno tipo I, HAS y PH20 por catepsina L fue más completa en pH 5. La degradación disminuye en pH 6 y arriba. En pH neutro, la degradación de colágeno tipo I, HAS y PH20 por catepsina L fue mínima. Ya que la catepsina L es estable en pH 5, agregar un agente de reducción a la solución amortiguadora que tiene poco o ningún efecto en la degradación de colágeno, HAS y PH20 por catepsina L en pH 5. Ya que la catepsina L experimenta la autocatálisis ya que el pH se incrementa a neutro, agregar un agente de reducción en pH neutro que disminuye la autocatálisis de catepsina L y por ello incrementa la degradación de colágeno, HAS y PH20.

Ejemplo 27

Clonación y Expresión de hMMP-1

A. Clonación y Expresión de Alto Desempeño de la Colección hMMP-1

En este ejemplo, se creó una colección de metaloproteasa de matriz humana 1 (hMMP-1, por sus siglas en inglés) por clonación del ADN que codifica MMP-1 humano en un plásmido seguido por transformación y crecimiento/aislamiento de proteína. La colección se creó al introducir mutaciones en una secuencia de ADN humana MMP-1 precursora que tiene la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 534, que codifica el proMMP-1 zimógeno inactivo (establecida en la SEQ ID NO: 327), para generar variantes de aminoácido sencillas de MMP-I a través del dominio catalítico y dominio de ligadura rica en prolina del polipéptido. La colección hMMP-1 se diseñó para contener al menos 15 variantes de aminoácido en cada una de las 178 posiciones de aminoácidos dentro del dominio catalítico (aminoácidos 81-242 de SEQ ID NO: 327) y la región ligadora (aminoácidos 243-258 de SEQ ID NO: 327) de MMP-1 humano (Ver Tabla 20, a continuación).

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	Sustituciones de Aminoácido
F81	E; H; R; C; Q; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
V82	R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; M; W; I; L; A; P
L83	D; E; H; R; C; Q; T; Y; S; G; M; W; I; A; P
T84	D; E; H; R; C; Q; Y; S; G; F; I; V; L; A; P
E85	K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; M; V; L; A; P
G86	D; H; K; C; N; T; Y; S; F; M; W; I; V; L; P
N87	E; H; R; C; Q; Y; S; G; F; M; I; V; L; A; P
P88	D; E; H; K; R; C; Q; T; Y; G; W; I; V; L; A
R89	E; H; K; N; T; Y; S; G; F; M; W; V; L; A; P
W90	E; H; R; N; Q; T; S; G; F; M; I; V; L; A; P
E91	D; H; R; C; N; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; A
Q92	E; K; R; N; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; A; P
T93	D; E; K; R; N; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
H94	D; E; R; N; T; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
L95	D; E; H; K; R; C; T; Y; S; G; W; I; V; A; P
T96	E; H; R; C; N; Q; S; G; F; W; I; V; L;

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
	A; P
Y97	D; E; H; K; R; N; Q; T; S; G; W; V; L; A; P
R98	D; E; H; K; C; Y; S; G; F; M; W; V; L; A; P
I99	E; H; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; W; V; L; A; P
E100	D; H; R; N; T; Y; S; G; F; M; W; I; V; L; P
N101	D; H; K; R; C; T; Y; S; F; M; W; V; L; A; P
Y102	D; E; K; R; C; N; Q; S; G; F; M; V; L; A; P
T103	D; E; K; R; C; N; Q; Y; S; G; W; V; L; A; P
P104	D; E; H; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; V; L; A
D105	E; R; C; N; T; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
L106	D; H; R; C; N; T; Y; S; G; F; M; I; V; A; P
P107	D; K; R; C; T; Y; S; G; F; M; W; I; V; L; A
R108	E; K; C; N; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; A; P
A109	D; E; H; R; N; Q; T; Y; S; G; M; W; I; V; L;
D110	H; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; I; V; L; A; P
V111	D; E; K; R; C; Q; T; Y; S; G; W; I; L; A; P
D112	H; K; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
H113	D; E; R; N; T; Y; S; G; F; M; W; V; L; A; P
A114	E; R; C; N; Q; T; S; G; F; M; W; I; V; L; P
I115	D; E; H; K; R; C; Q; T; S; G; F; W; V; L; P
E116	D; H; K; R; C; N; Q; S; G; F; M; I; L; A; P
K117	D; E; H; R; N; Q; T; Y; S; G; F; W; L; A; P
A118	D; E; H; K; R; Q; T; S; G; F; W; I; V; L; P

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
F119	E; H; K; R; C; N; T; Y; S; G; W; V; L; A; P
Q120	D; E; H; K; R; C; N; T; Y; G; M; W; V; A; P
L121	E; H; K; R; C; N; Q; T; S; G; F; I; V; A; P
W122	E; H; K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; V; L; A; P
S123	D; H; K; R; C; N; Q; T; Y; G; F; M; W; I; V; L; A; P
N124	D; K; R; C; T; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
V125	D; E; H; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; W; A; P
T126	E; H; K; R; N; Q; S; G; F; M; W; V; L; A; P
P127	E; H; K; R; C; Q; T; S; F; M; W; I; V; L; A
L128	D; K; R; C; Q; T; S; G; F; M; W; I; V; A; P
T129	E; H; K; R; C; Y; S; G; F; M; I; V; L; A; P
F130	E; H; K; R; C; N; T; Y; S; G; I; V; L; A; P
T131	D; E; H; R; C; Q; Y; S; G; F; M; I; L; A; P
K132	D; E; H; R; T; Y; S; G; F; M; I; V; L; A; P
V133	D; E; H; K; R; C; N; T; S; G; M; W; L; A; P
S134	D; E; H; K; R; C; N; Q; T; Y; G; V; L; A; P
E135	D; H; R; N; Q; T; S; F; M; W; I; V; L; A; P
G136	D; E; H; R; C; N; T; S; M; W; I; V; L; A; P
Q137	E; H; K; R; C; N; T; Y; S; G; F; W; L; A; P
A138	D; E; H; R; C; Q; T; S; G; M; W; I; V; L; P
D139	E; H; R; C; N; Y; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
I140	D; E; H; K; R; C; T; Y; G; F; M; W; V; L; A
M141	D; E; H; R; C; N; T; Y; S; G; W; I; L;

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
	A; P
I142	K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; M; W; V; L; A; P
S143	E; H; R; C; N; Q; T; Y; G; M; W; I; L; A; P
F144	E; H; K; R; C; N; Q; T; S; G; M; W; V; L; P
V145	D; E; H; K; R; C; N; Q; T; S; G; W; L; A; P
R146	D; E; H; K; C; N; Q; T; Y; S; F; V; L; A; P
G147	E; H; R; C; Q; T; S; F; M; W; I; V; L; A; P
D148	E; K; R; C; N; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
H149	E; R; C; N; Q; T; Y; S; G; W; I; V; L; A; P
R150	D; E; H; K; N; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
D151	K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; M; W; V; L; A; P
N152	D; H; K; R; C; T; Y; S; G; F; W; I; L; A; P
S153	D; H; K; R; C; Q; T; Y; G; F; I; V; L; A; P
P154	H; K; R; C; N; Q; T; Y; S; F; W; I; V; L; A
F155	E; H; R; N; Q; T; Y; S; G; M; W; V; L; A; P
D156	E; H; K; R; C; T; Y; S; G; M; W; V; L; A; P
G157	D; H; K; R; N; Q; T; Y; S; F; M; V; L; A; P
P158	D; K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; A
G159	E; K; R; C; Q; T; Y; S; M; W; I; V; L; A; P
G160	E; H; R; C; N; Q; T; S; M; W; I; V; L; A; P
N161	E; H; R; C; Q; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; P
L162	D; E; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; W; I; A; P
A163	E; K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; I; V; L; P

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
H164	E; K; R; C; N; Q; Y; S; G; F; M; V; L; A; P
A165	D; H; K; R; N; Q; T; S; G; F; M; W; V; L; P
F166	E; H; K; R; C; N; S; G; M; W; I; V; L; A; P
Q167	D; E; K; R; N; T; Y; S; G; F; M; V; L; A; P
P168	D; H; R; C; N; T; S; G; F; M; W; I; V; L; A
G169	D; E; H; R; C; Q; T; S; M; W; I; V; L; A; P
P170	D; H; K; R; C; Q; T; S; G; F; M; W; I; L; A
G171	D; E; H; K; R; C; N; Q; Y; S; M; W; L; A; P
I172	D; E; R; C; N; Q; T; Y; G; M; W; V; L; A; P
G173	D; K; R; C; N; T; Y; S; F; M; W; V; L; A; P
G174	D; E; H; R; N; T; Y; S; F; M; W; V; L; A; P
D175	E; H; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; I; V; L; A; P
A176	D; E; K; R; C; N; Q; T; S; G; F; W; V; L; P
H177	D; R; C; N; Q; T; Y; S; G; W; I; V; L; A; P
F178	E; H; K; R; C; Q; T; Y; S; G; W; I; V; L; A; P
D179	E; K; R; C; N; Q; T; S; G; W; I; V; L; A; P
E180	D; K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; M; I; A; P
D181	E; K; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; V; L; A; P
E182	D; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; W; I; L; A; P
R183	E; H; K; C; N; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
W184	E; H; R; N; Q; T; S; G; F; M; I; V; L; A; P
T185	D; E; H; R; C; N; Q; Y; S; G; W; V; L; A; P
N186	D; E; H; R; C; Q; T; Y; S; G; F; V; L;

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
	A; P
N187	D; H; K; R; C; T; S; G; F; M; W; I; L; A; P
F188	D; E; H; K; R; N; Q; S; G; W; I; V; L; A; P
R189	D; E; H; K; C; N; Q; T; Y; G; W; V; L; A; P
E190	D; H; K; R; C; T; Y; S; G; M; I; V; L; A; P
Y191	D; E; H; K; R; C; Q; T; S; G; W; V; L; A; P
N192	D; H; K; R; C; Q; T; S; G; M; W; V; L; A; P
L193	D; E; K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; W; I; A; P
H194	E; K; Q; T; Y; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
R195	D; E; K; C; Q; T; Y; S; G; F; W; V; L; A; P
V196	D; E; H; K; R; Q; T; Y; S; G; M; I; L; A; P
A197	E; H; R; C; N; Q; T; Y; S; G; W; I; V; L; P
A198	D; E; H; K; R; T; Y; S; G; F; M; W; V; L; P
H199	E; K; R; C; N; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
E200	D; R; C; N; T; Y; S; G; F; M; W; I; V; A; P
L201	D; E; K; R; N; Q; T; S; G; M; W; I; V; A; P
G202	D; E; H; K; R; C; T; Y; S; M; I; V; L; A; P
H203	D; E; R; C; N; Q; T; Y; S; G; I; V; L; A; P
S204	D; H; K; R; N; Q; T; Y; G; W; I; V; L; A; P
L205	D; E; R; C; N; Q; T; S; G; M; W; I; V; A; P
G206	D; E; H; R; C; Q; T; S; M; W; I; V; L; A; P
L207	D; H; K; R; N; Q; Y; S; G; M; W; I; V; A; P
S208	D; E; K; R; C; N; Q; T; G; F; W; V; L; A; P

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
H209	D; R; C; N; Q; T; Y; S; G; F; W; V; L; A; P
S210	H; K; R; C; N; Q; T; G; F; W; I; V; L; A; P
T211	D; H; K; R; N; Q; S; G; F; M; W; V; L; A; P
D212	E; H; K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; V; L; A; P
I213	D; E; H; K; R; C; N; Q; T; S; G; F; M; V; L; A; P
G214	D; E; R; C; Q; T; Y; S; F; M; I; V; L; A; P
A215	D; H; K; R; C; N; Q; T; S; G; M; W; I; V; L; P
L216	D; E; K; R; C; Q; T; S; G; M; W; I; V; A; P
M217	D; H; K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; I; L; A; P
Y218	D; E; R; C; N; Q; S; G; F; W; I; V; L; A; P
P219	D; E; H; K; R; C; Q; T; S; G; F; W; V; L; A
S220	E; H; K; R; N; Q; T; G; F; M; I; V; L; A; P
Y221	E; K; R; C; N; Q; T; S; G; M; W; V; L; A; P
T222	D; H; R; C; N; Y; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
F223	E; H; K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; M; L; A; P
S224	D; H; K; R; C; Q; T; G; M; W; I; V; L; A; P
G225	D; E; H; K; R; C; N; Q; T; S; M; W; V; A; P
D226	E; H; R; C; N; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
V227	D; E; H; K; R; C; Q; T; Y; S; G; W; L; A; P
Q228	D; E; H; K; R; N; T; Y; S; G; M; W; L; A; P
L229	D; E; H; R; C; Q; T; Y; G; M; W; I; V; A; P
A230	D; H; R; C; N; T; Y; S; G; M; W; I; V; L; P
Q231	D; H; R; C; Y; S; G; F; M; W; I; V; L;

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
	A; P
D232	E; H; K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; W; V; L; P
D233	E; K; R; N; Q; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
I234	D; E; H; C; N; Q; T; Y; G; M; W; V; L; A; P
D235	E; H; R; C; N; Q; T; Y; S; G; I; V; L; A; P
G236	D; E; K; R; C; N; T; Y; S; F; M; I; V; L; P
I237	D; E; K; R; C; N; Q; T; Y; S; G; W; L; A; P
Q238	E; H; K; R; C; N; T; Y; S; G; F; W; I; L; P
A239	D; H; K; R; C; Q; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; P
I240	D; K; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; V; L; A; P
Y241	D; H; R; N; Q; T; S; G; M; W; I; V; L; A; P
G242	E; H; K; R; N; T; Y; S; F; W; I; V; L; A; P
R243	D; H; K; C; N; Q; T; Y; S; G; I; V; L; A; P
S244	D; E; H; R; Q; T; Y; G; F; M; W; V; L; A; P
Q245	E; H; K; R; C; T; S; G; F; M; W; I; V; L; P
N246	D; K; R; C; Q; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; A; P
P247	D; E; H; K; R; N; Q; T; S; G; F; I; V; L; A
V248	E; H; K; R; C; Q; T; Y; S; G; F; M; W; I; L; A
Q249	E; H; K; R; C; N; T; Y; G; W; I; V; L; A; P
P250	D; K; R; N; Q; T; Y; S; G; F; M; W; V; L; A
I251	D; E; K; R; C; Q; T; Y; S; G; W; V; L; A; P
G252	D; E; H; K; R; C; T; S; F; M; W; I; V; L; A; P
P253	E; K; R; C; N; Q; T; Y; G; M; W; I; V; L; A

Tabla 20: Colección hMMP-1	
Amino-ácido	**Sustituciones de Aminoácido**
Q254	D; E; R; C; T; Y; S; G; F; W; I; V; L; A; P
T255	E; H; K; R; C; N; Q; S; G; F; I; V; L; A; P
P256	E; K; R; C; N; Q; Y; S; G; F; M; I; V; L; A
K257	E; R; C; N; T; S; G; F; M; W; I; V; L; A; P
A258	D; E; R; N; Q; T; Y; G; F; M; W; I; V; L; P

El cADN que codifica cada mutante hMMP-1 individual se generó al cambiar el codón de tipo natural, que codifica cada una de las 178 posiciones de aminoácidos identificadas en la Tabla 21 a continuación, para un codón que codifica la sustitución del aminoácido deseada. Los codones de tipo natural se establecen en SEQ ID NO: 534. La SEQ ID NO: 534 también describe los aminoácidos codificados. Las sustituciones de aminoácidos y codones mutados correspondientes se enlistan en la Tabla 21, a continuación.

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
F81C	TGT	**T84L**	TTG	**N87S**	AGT	**W90H**	CAT
F81E	GAG	**T84D**	GAT	**N87I**	ATT	**W90M**	ATG
F81I	ATT	**T84R**	CGG	**N87C**	TGT	**W90R**	CGG
F81L	CTG	**T84I**	ATT	**N87A**	GCG	**W90E**	GAG
F81P	CCT	**T84S**	TCT	**N87G**	GGT	**W90N**	AAT
F81S	TCT	**T84G**	GGT	**N87Y**	TAT	**W90Q**	CAG
F81A	GCG	**T84Q**	CAG	**N87E**	GAG	**E91N**	AAT
F81M	ATG	**T84P**	CCT	**N87H**	CAT	**E91R**	CGG
F81G	GGG	**T84A**	GCG	**N87Q**	CAG	**E91W**	TGG
F81T	ACG	**T84C**	TGT	**P88C**	TGT	**E91G**	GGG
F81Q	CAG	**T84Y**	TAT	**P88K**	AAG	**E91V**	GTG
F81R	CGT	**T84F**	TTT	**P88W**	TGG	**E91Y**	TAT
F81W	TGG	**E85L**	CTG	**P88G**	GGG	**E91C**	TGT
F81H	CAT	**E85Q**	CAG	**P88L**	CTG	**E91H**	CAT
F81V	GTG	**E85P**	CCT	**P88Q**	CAG	**E91T**	ACG
V82I	ATT	**E85T**	ACT	**P88A**	GCG	**E91S**	AGT
V82C	TGT	**E85K**	AAG	**P88T**	ACG	**E91A**	GCG
V82A	GCG	**E85M**	ATG	**P88Y**	TAT	**E91I**	ATT
V82P	CCG	**E85G**	GGT	**P88R**	CGG	**E91D**	GAT
V82Y	TAT	**E85R**	CGT	**P88H**	CAT	**E91F**	TTT
V82M	ATG	**E85S**	TCT	**P88I**	ATT	**E91L**	TTG

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
V82Q	CAG	E85C	TGT	P88V	GTG	Q92V	GTT
V82F	TTT	E85Y	TAT	P88E	GAG	Q92Y	TAT
V82W	TGG	E85A	GCG	P88D	GAT	Q92L	CTG
V82N	AAT	E85N	AAT	R89V	GTG	Q92N	AAT
V82R	CGT	E85V	GTG	R89W	TGG	Q92E	GAG
V82G	GGT	E85F	TTT	R89M	ATG	Q92I	ATT
V82S	TCG	G86L	CTT	R89A	GCG	Q92T	ACT
V82L	TTG	G86P	CCG	R89T	ACG	Q92G	GGT
V82T	ACT	G86I	ATT	R89G	GGG	Q92P	CCG
L83A	GCG	G86T	ACT	R89S	TCT	Q92W	TGG
L83C	TGT	G86H	CAT	R89K	AAG	Q92F	TTT
L83D	GAT	G86D	GAT	R89F	TTT	Q92S	TCG
L83E	GAG	G86N	AAT	R89Y	TAT	Q92R	CGG
L83G	GGT	G86S	AGT	R89N	AAT	Q92K	AAG
L83H	CAT	G86K	AAG	R89H	CAT	Q92A	GCT
L83I	ATT	G86W	TGG	R89L	TTG	T93A	GCG
L83M	ATG	G86Y	TAT	R89E	GAG	T93L	CTT
L83P	CCG	G86V	GTT	R89P	CCT	T93M	ATG
L83Q	CAG	G86C	TGT	W90L	TTG	T93N	AAT
L83R	CGG	G86M	ATG	W90G	GGG	T93V	GTG
L83S	AGT	G86F	TTT	W90P	CCG	T93I	ATT
L83T	ACG	N87M	ATG	W90T	ACT	T93D	GAT
L83W	TGG	N87L	CTG	W90S	TCG	T93S	TCG
L83Y	TAT	N87P	CCG	W90V	GTG	T93R	CGG
T84V	GTT	N87V	GTT	W90I	ATT	T93W	TGG
T84E	GAG	N87R	CGT	W90A	GCT	T93F	TTT
T84H	CAT	N87F	TTT	W90F	TTT	T93P	CCT
T93G	GGG	Y97R	CGT	E100L	CTG	T103R	CGG
T93K	AAG	Y97V	GTG	E100H	CAT	T103Y	TAT
T93E	GAG	Y97A	GCT	E100D	GAT	T103N	AAT
H94L	CTG	Y97P	CCT	E100M	ATG	T103C	TGT
H94S	TCG	Y97L	CTT	E100G	GGT	T103Q	CAG
H94M	ATG	Y97T	ACG	E100W	TGG	T103W	TGG
H94R	CGG	Y97K	AAG	E100Y	TAT	T103P	CCG
H94E	GAG	Y97W	TGG	E100R	CGT	T103A	GCG
H94I	ATT	Y97H	CAT	E100S	TCT	T103G	GGG
H94D	GAT	Y97S	TCG	E100T	ACG	T103K	AAG
H94P	CCG	Y97E	GAG	E100F	TTT	P104G	GGG
H94A	GCG	Y97D	GAT	E100I	ATT	P104E	GAG
H94N	AAT	Y97N	AAT	E100N	AAT	P104T	ACT
H94F	TTT	Y97G	GGT	N101M	ATG	P104F	TTT
H94G	GGG	Y97Q	CAG	N101F	TTT	P104R	CGT
H94T	ACT	R98H	CAT	N101L	TTG	P104D	GAT
H94V	GTG	R98K	AAG	N101V	GTG	P104C	TGT
H94W	TGG	R98C	TGT	N101H	CAT	P104Q	CAG

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
L95E	GAG	**R98L**	CTG	**N101R**	CGG	**P104V**	GTG
L95Y	TAT	**R98M**	ATG	**N101C**	TGT	**P104Y**	TAT
L95R	CGG	**R98F**	TTT	**N101T**	ACT	**P104H**	CAT
L95A	GCT	**R98W**	TGG	**N101P**	CCT	**P104L**	TTG
L95G	GGG	**R98Y**	TAT	**N101W**	TGG	**P104S**	TCG
L95K	AAG	**R98P**	CCT	**N101K**	AAG	**P104A**	GCG
L95S	AGT	**R98E**	GAG	**N101S**	TCG	**P104M**	ATG
L95T	ACG	**R98A**	GCG	**N101D**	GAT	**D105A**	GCT
L95H	CAT	**R98G**	GGG	**N101A**	GCG	**D105C**	TGT
L95W	TGG	**R98V**	GTT	**N101Y**	TAT	**D105F**	TTT
L95V	GTG	**R98S**	TCG	**Y102R**	CGT	**D105G**	GGT
L95C	TGT	**R98D**	GAT	**Y102K**	AAG	**D105I**	ATT
L95P	CCT	**I99C**	TGT	**Y102V**	GTG	**D105L**	CTG
L95D	GAT	**I99E**	GAG	**Y102M**	ATG	**D105M**	ATG
L95I	ATT	**I99G**	GGG	**Y102P**	CCG	**D105N**	AAT
T96E	GAG	**I99H**	CAT	**Y102N**	AAT	**D105P**	CCT
T96R	CGG	**I99N**	AAT	**Y102G**	GGG	**D105R**	CGG
T96P	CCG	**I99P**	CCT	**Y102L**	CTG	**D105S**	TCG
T96S	TCG	**I99T**	ACG	**Y102D**	GAT	**D105T**	ACG
T96A	GCG	**I99V**	GTT	**Y102S**	TCG	**D105V**	GTT
T96L	TTG	**I99A**	GCG	**Y102F**	TTT	**D105W**	TGG
T96W	TGG	**I99F**	TTT	**Y102A**	GCT	**D105E**	GAG
T96N	AAT	**I99L**	CTG	**Y102E**	GAG	**L106P**	CCG
T96G	GGT	**I99R**	CGT	**Y102Q**	CAG	**L106D**	GAT
T96F	TTT	**I99S**	TCG	**Y102C**	TGT	**L106N**	AAT
T96Q	CAG	**I99Q**	CAG	**T103E**	GAG	**L106G**	GGT
T96H	CAT	**I99W**	TGG	**T103D**	GAT	**L106M**	ATG
T96V	GTT	**I99Y**	TAT	**T103S**	AGT	**L106A**	GCT
T96I	ATT	**E100V**	GTT	**T103L**	CTG	**L106R**	CGG
T96C	TGT	**E100P**	CCG	**T103V**	GTT	**L106Y**	TAT
L106T	ACG	**A109V**	GTT	**D112I**	ATT	**E116A**	GCG
L106V	GTG	**A109E**	GAG	**D112Y**	TAT	**E116C**	TGT
L106H	CAT	**A109L**	CTT	**D112L**	TTG	**E116D**	GAT
L106F	TTT	**A109H**	CAT	**H113T**	ACT	**E116F**	TTT
L106I	ATT	**D110P**	CCT	**H113L**	CTG	**E116G**	GGT
L106C	TGT	**D110F**	TTT	**H113M**	ATG	**E116H**	CAT
L106S	TCT	**D110Q**	CAG	**H113S**	TCG	**E116I**	ATT
P107L	TTG	**D110R**	CGG	**H113N**	AAT	**E116K**	AAG
P107W	TGG	**D110M**	ATG	**H113R**	AGG	**E116L**	CTG
P107T	ACT	**D110H**	CAT	**H113A**	GCT	**E116M**	ATG
P107S	TCG	**D110I**	ATT	**H113E**	GAG	**E116N**	AAT
P107R	CGG	**D110L**	CTT	**H113V**	GTG	**E116P**	CCG
P107Y	TAT	**D110V**	GTG	**H113Y**	TAT	**E116Q**	CAG
P107M	ATG	**D110T**	ACG	**H113F**	TTT	**E116R**	AGG
P107V	GTG	**D110S**	TCG	**H113D**	GAT	**E116S**	TCT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
P107D	GAT	**D110Y**	TAT	**H113W**	TGG	**K117H**	CAT
P107A	GCG	**D110G**	GGT	**H113G**	GGG	**K117T**	ACG
P107C	TGT	**D110C**	TGT	**H113P**	CCG	**K117Q**	CAG
P107K	AAG	**D110A**	GCG	**A114E**	GAG	**K117E**	GAG
P107F	TTT	**V111E**	GAG	**A114S**	TCG	**K117A**	GCG
P107I	ATT	**V111A**	GCT	**A114I**	ATT	**K117F**	TTT
P107G	GGT	**V111S**	TCT	**A114P**	CCT	**K117D**	GAT
R108P	CCT	**V111W**	TGG	**A114N**	AAT	**K117N**	AAT
R108G	GGT	**V111G**	GGT	**A114L**	CTT	**K117G**	GGT
R108T	ACG	**V111Y**	TAT	**A114T**	ACT	**K117W**	TGG
R108E	GAG	**V111P**	CCG	**A114F**	TTT	**K117Y**	TAT
R108A	GCG	**V111L**	CTG	**A114V**	GTT	**K117L**	TTG
R108Y	TAT	**V111D**	GAT	**A114G**	GGT	**K117S**	AGT
R108K	AAG	**V111K**	AAG	**A114C**	TGT	**K117P**	CCG
R108C	TGT	**V111T**	ACT	**A114M**	ATG	**K117R**	AGG
R108S	TCT	**V111Q**	CAG	**A114R**	AGG	**A118G**	GGG
R108F	TTT	**V111I**	ATT	**A114W**	TGG	**A118R**	CGT
R108W	TGG	**V111C**	TGT	**A114Q**	CAG	**A118W**	TGG
R108I	ATT	**V111R**	CGT	**I115F**	TTT	**A118K**	AAG
R108L	CTT	**D112A**	GCG	**I115T**	ACT	**A118P**	CCT
R108N	AAT	**D112M**	ATG	**I115H**	CAT	**A118V**	GTG
R108V	GTT	**D112V**	GTT	**I115G**	GGT	**A118L**	TTG
A109S	TCG	**D112R**	CGG	**I115K**	AAG	**A118D**	GAT
A109R	CGG	**D112K**	AAG	**I115E**	GAG	**A118S**	AGT
A109T	ACG	**D112P**	CCT	**I115S**	AGT	**A118F**	TTT
A109W	TGG	**D112Q**	CAG	**I115P**	CCT	**A118I**	ATT
A109I	ATT	**D112F**	TTT	**I115C**	TGT	**A118H**	CAT
A109Q	CAG	**D112G**	GGG	**I115L**	CTT	**A118E**	GAG
A109N	AAT	**D112C**	TGT	**I115Q**	CAG	**A118Q**	CAG
A109Y	TAT	**D112W**	TGG	**I115R**	CGG	**A118T**	ACT
A109G	GGG	**D112T**	ACT	**I115W**	TGG	**F119G**	GGG
A109M	ATG	**D112H**	CAT	**I115V**	GTT	**F119T**	ACT
A109D	GAT	**D112S**	TCT	**I115D**	GAT	**F119R**	CGG
F119L	TTG	**W122G**	GGG	**V125T**	ACG	**L128A**	GCG
F119N	AAT	**W122S**	TCG	**V125A**	GCT	**L128D**	GAT
F119S	AGT	**W122V**	GTT	**V125C**	TGT	**L128V**	GTG
F119C	TGT	**W122H**	CAT	**V125D**	GAT	**L128W**	TGG
F119P	CCG	**W122F**	TTT	**V125W**	TGG	**L128C**	TGT
F119W	TGG	**W122Y**	TAT	**V125R**	CGG	**L128K**	AAG
F119K	AAG	**W122K**	AAG	**V125E**	GAA	**T129G**	GGT
F119H	CAT	**W122Q**	CAG	**V125F**	TTT	**T129A**	GCT
F119A	GCG	**W122E**	GAG	**V125H**	CAT	**T129C**	TGT
F119V	GTT	**S123D**	GAT	**T126K**	AAG	**T129K**	AAG
F119Y	TAT	**S123L**	TTG	**T126V**	GTG	**T129F**	TTT
F119E	GAG	**S123A**	GCT	**T126G**	GGG	**T129Y**	TAT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
Q120K	AAG	**S123C**	TGT	**T126R**	CGG	**T129S**	TCG
Q120N	AAT	**S123I**	ATT	**T126L**	TTG	**T129R**	CGG
Q120A	GCG	**S123K**	AAG	**T126H**	CAT	**T129V**	GTT
Q120V	GTG	**S123N**	AAT	**T126M**	ATG	**T129L**	CTT
Q120D	GAT	**S123F**	TTT	**T126P**	CCG	**T129H**	CAT
Q120R	CGG	**S123Y**	TAT	**T126A**	GCG	**T129P**	CCT
Q120P	CCT	**S123M**	ATG	**T126N**	AAT	**T129E**	GAG
Q120W	TGG	**S123H**	CAT	**T126E**	GAG	**T129I**	ATT
Q120Y	TAT	**S123R**	CGG	**T126F**	TTT	**T129M**	ATG
Q120C	TGT	**S123W**	TGG	**T126W**	TGG	**F130L**	CTG
Q120H	CAT	**S123T**	ACG	**T126Q**	CAG	**F130P**	CCT
Q120T	ACT	**S123P**	CCT	**T126S**	AGT	**F130C**	TGT
Q120M	ATG	**S123G**	GGG	**P127C**	TGT	**F130R**	CGG
Q120E	GAG	**S123Q**	CAG	**P127F**	TTT	**F130Y**	TAT
Q120G	GGT	**S123V**	GTT	**P127T**	ACG	**F130H**	CAT
L121E	GAG	**N124G**	GGT	**P127E**	GAG	**F130I**	ATT
L121Q	CAG	**N124C**	TGT	**P127W**	TGG	**F130V**	GTT
L121P	CCT	**N124V**	GTG	**P127A**	GCT	**F130K**	AAG
L121R	CGG	**N124L**	CTT	**P127S**	AGT	**F130T**	ACT
L121C	TGT	**N124T**	ACG	**P127H**	CAT	**F130E**	GAG
L121G	GGG	**N124R**	CGT	**P127Q**	CAG	**F130A**	GCG
L121K	AAG	**N124M**	ATG	**P127K**	AAG	**F130N**	AAT
L121F	TTT	**N124S**	TCG	**P127R**	CGG	**F130G**	GGT
L121I	ATT	**N124P**	CCT	**P127I**	ATT	**F130S**	AGT
L121S	TCG	**N124A**	GCG	**P127V**	GTG	**T131F**	TTT
L121V	GTT	**N124K**	AAG	**P127L**	CTG	**T131P**	CCG
L121H	CAT	**N124F**	TTT	**P127M**	ATG	**T131A**	GCG
L121T	ACT	**N124W**	TGG	**L128F**	TTT	**T131S**	TCT
L121A	GCT	**N124I**	ATT	**L128M**	ATG	**T131G**	GGT
L121N	AAT	**N124D**	GAT	**L128T**	ACT	**T131I**	ATT
W122R	CGT	**V125G**	GGG	**L128R**	CGT	**T131L**	CTT
W122A	GCG	**V125Q**	CAG	**L128S**	TCG	**T131H**	CAT
W122N	AAT	**V125S**	TCG	**L128G**	GGT	**T131Q**	CAG
W122P	CCG	**V125P**	CCG	**L128I**	ATT	**T131D**	GAT
W122T	ACG	**V125M**	ATG	**L128Q**	CAG	**T131E**	GAG
W122L	CTT	**V125Y**	TAT	**L128P**	CCT	**T131C**	TGT
T131R	CGT	**E135V**	GTT	**A138C**	TGT	**M141S**	AGT
T131Y	TAT	**E135M**	ATG	**A138T**	ACG	**M141C**	TGT
T131M	ATG	**E135S**	TCG	**A138S**	TCT	**M141L**	CTG
K132G	GGT	**E135D**	GAT	**A138R**	CGT	**M141A**	GCG
K132V	GTG	**E135T**	ACG	**A138G**	GGG	**M141D**	GAT
K132L	TTG	**E135L**	CTG	**A138E**	GAG	**M141W**	TGG
K132A	GCT	**E135A**	GCG	**A138H**	CAT	**M141G**	GGT
K132P	CCG	**E135W**	TGG	**A138M**	ATG	**M141H**	CAT
K132F	TTT	**E135F**	TTT	**A138Q**	CAG	**M141Y**	TAT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
K132R	CGG	**E135P**	CCG	**A138I**	ATT	**M141N**	AAT
K132I	ATT	**E135R**	CGG	**A138D**	GAT	**I142L**	CTG
K132H	CAT	**E135N**	AAT	**A138W**	TGG	**I142M**	ATG
K132S	TCT	**E135H**	CAT	**D139R**	CGT	**I142G**	GGT
K132M	ATG	**E135Q**	CAG	**D139V**	GTT	**I142K**	AAG
K132D	GAT	**E135I**	ATT	**D139M**	ATG	**I142A**	GCT
K132T	ACT	**G136V**	GTG	**D139C**	TGT	**I142N**	AAT
K132Y	TAT	**G136W**	TGG	**D139P**	CCT	**I142W**	TGG
K132E	GAG	**G136D**	GAT	**D139S**	TCT	**I142P**	CCG
V133G	GGG	**G136M**	ATG	**D139L**	CTT	**I142Q**	CAG
V133E	GAG	**G136N**	AAT	**D139I**	ATT	**I142Y**	TAT
V133T	ACT	**G136A**	GCG	**D139H**	CAT	**I142V**	GTG
V133N	AAT	**G136L**	TTG	**D139A**	GCG	**I142T**	ACT
V133A	GCG	**G136C**	TGT	**D139G**	GGG	**I142R**	CGG
V133H	CAT	**G136P**	CCG	**D139F**	TTT	**I142S**	AGT
V133P	CCG	**G136T**	ACG	**D139N**	AAT	**I142F**	TTT
V133K	AAG	**G136R**	CGT	**D139W**	TGG	**S143P**	CCG
V133R	CGG	**G136S**	TCG	**D139Y**	TAT	**S143C**	TGT
V133L	CTT	**G136I**	ATT	**D139E**	GAG	**S143E**	GAG
V133W	TGG	**G136H**	CAT	**I140D**	GAT	**S143G**	GGT
V133C	TGT	**G136E**	GAG	**I140K**	AAG	**S143H**	CAT
V133D	GAT	**Q137A**	GCT	**I140A**	GCT	**S143R**	CGT
V133M	ATG	**Q137R**	CGG	**I140G**	GGG	**S143L**	TTG
V133S	AGT	**Q137G**	GGG	**I140C**	TGT	**S143Q**	CAG
S134V	GTT	**Q137K**	AAG	**I140Y**	TAT	**S143N**	AAT
S134H	CAT	**Q137H**	CAT	**I140V**	GTT	**S143W**	TGG
S134P	CCT	**Q137P**	CCT	**I140W**	TGG	**S143A**	GCT
S134G	GGG	**Q137S**	TCG	**I140F**	TTT	**S143T**	ACT
S134N	AAT	**Q137L**	CTG	**I140H**	CAT	**S143Y**	TAT
S134R	CGT	**Q137W**	TGG	**I140L**	CTG	**S143M**	ATG
S134L	CTG	**Q137F**	TTT	**I140R**	CGG	**S143I**	ATT
S134Q	CAG	**Q137T**	ACG	**I140E**	GAG	**F144K**	AAG
S134E	GAG	**Q137C**	TGT	**I140M**	ATG	**F144M**	ATG
S134Y	TAT	**Q137Y**	TAT	**I140T**	ACT	**F144E**	GAG
S134A	GCG	**Q137N**	AAT	**M141E**	GAG	**F144S**	AGT
S134K	AAG	**Q137E**	GAG	**M141I**	ATT	**F144L**	CTG
S134D	GAT	**A138V**	GTT	**M141R**	CGG	**F144W**	TGG
S134T	ACG	**A138L**	CTT	**M141T**	ACG	**F144P**	CCG
S134C	TGT	**A138P**	CCG	**M141P**	CCG	**F144R**	CGG
F144N	AAT	**G147V**	GTT	**R150H**	CAT	**P154L**	CTT
F144C	TGT	**G147Q**	CAG	**D151R**	CGT	**P154C**	TGT
F144G	GGT	**G147M**	ATG	**D151F**	TTT	**P154S**	TCT
F144T	ACT	**G147P**	CCT	**D151P**	CCG	**P154K**	AAG
F144Q	CAG	**D148R**	CGG	**D151W**	TGG	**P154I**	ATT
F144H	CAT	**D148I**	ATT	**D151Q**	CAG	**P154A**	GCT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
F144V	GTG	**D148T**	ACG	**D151L**	CTT	**P154T**	ACG
V145A	GCG	**D148G**	GGT	**D151S**	TCG	**P154H**	CAT
V145T	ACG	**D148L**	CTG	**D151G**	GGT	**P154Y**	TAT
V145L	CTG	**D148V**	GTT	**D151A**	GCT	**P154N**	AAT
V145P	CCG	**D148A**	GCG	**D151N**	AAT	**P154F**	TTT
V145K	AAG	**D148W**	TGG	**D151K**	AAG	**P154R**	CGT
V145N	AAT	**D148P**	CCG	**D151Y**	TAT	**P154Q**	CAG
V145D	GAT	**D148S**	TCG	**D151V**	GTT	**F155S**	TCT
V145H	CAT	**D148K**	AAG	**D151T**	ACT	**F155T**	ACT
V145R	CGG	**D148E**	GAG	**D151M**	ATG	**F155G**	GGT
V145Q	CAG	**D148M**	ATG	**N152G**	GGG	**F155N**	AAT
V145S	TCT	**D148N**	AAT	**N152C**	TGT	**F155R**	CGG
V145G	GGG	**D148C**	TGT	**N152F**	TTT	**F155W**	TGG
V145W	TGG	**H149W**	TGG	**N152L**	TTG	**F155L**	CTG
V145C	TGT	**H149A**	GCG	**N152P**	CCG	**F155Q**	CAG
V145E	GAG	**H149L**	TTG	**N152R**	CGG	**F155M**	ATG
R146T	ACG	**H149C**	TGT	**N152H**	CAT	**F155E**	GAG
R146L	CTG	**H149Q**	CAG	**N152T**	ACG	**F155A**	GCG
R146N	AAT	**H149T**	ACT	**N152Y**	TAT	**F155P**	CCT
R146H	CAT	**H149Y**	TAT	**N152K**	AAG	**F155V**	GTT
R146Q	CAG	**H149P**	CCG	**N152D**	GAT	**F155H**	CAT
R146K	AAG	**H149V**	GTT	**N152W**	TGG	**F155Y**	TAT
R146C	TGT	**H149R**	CGG	**N152I**	ATT	**D156H**	CAT
R146S	AGT	**H149G**	GGT	**N152A**	GCG	**D156L**	CTT
R146D	GAT	**H149E**	GAG	**N152S**	TCT	**D156E**	GAG
R146A	GCT	**H149S**	AGT	**S153I**	ATT	**D156A**	GCT
R146Y	TAT	**H149I**	ATT	**S153R**	CGG	**D156W**	TGG
R146P	CCT	**H149N**	AAT	**S153K**	AAG	**D156C**	TGT
R146V	GTT	**R150S**	TCG	**S153C**	TGT	**D156P**	CCT
R146E	GAG	**R150E**	GAG	**S153G**	GGG	**D156V**	GTT
R146F	TTT	**R150G**	GGG	**S153H**	CAT	**D156K**	AAG
G147R	CGT	**R150M**	ATG	**S153L**	CTT	**D156S**	TCT
G147F	TTT	**R150P**	CCG	**S153V**	GTT	**D156G**	GGG
G147I	ATT	**R150T**	ACG	**S153T**	ACG	**D156T**	ACT
G147L	CTG	**R150W**	TGG	**S153P**	CCT	**D156Y**	TAT
G147A	GCG	**R150A**	GCG	**S153A**	GCG	**D156R**	CGT
G147E	GAG	**R150N**	AAT	**S153F**	TTT	**D156M**	ATG
G147H	CAT	**R150K**	AAG	**S153D**	GAT	**G157K**	AAG
G147W	TGG	**R150L**	TTG	**S153Q**	CAG	**G157D**	GAT
G147T	ACG	**R150V**	GTT	**S153Y**	TAT	**G157F**	TTT
G147C	TGT	**R150D**	GAT	**P154V**	GTT	**G157R**	CGT
G147S	TCT	**R150I**	ATT	**P154W**	TGG	**G157H**	CAT
G157L	TTG	**G160M**	ATG	**A163E**	GAG	**F166C**	TGT
G157N	AAT	**G160C**	TGT	**A163T**	ACG	**F166E**	GAG
G157Y	TAT	**G160Q**	CAG	**A163Q**	CAG	**Q167D**	GAT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
G157S	TCG	G160V	GTT	A163I	ATT	Q167R	CGG
G157T	ACG	G160S	AGT	A163N	AAT	Q167A	GCG
G157A	GCT	G160E	GAG	H164L	CTT	Q167S	AGT
G157Q	CAG	G160L	CTT	H164M	ATG	Q167F	TTT
G157P	CCG	G160T	ACG	H164K	AAG	Q167Y	TAT
G157V	GTG	N161S	AGT	H164P	CCG	Q167P	CCG
G157M	ATG	N161C	TGT	H164C	TGT	Q167T	ACT
P158S	TCT	N161L	TTG	H164R	CGT	Q167V	GTG
P158Y	TAT	N161R	CGT	H164A	GCG	Q167L	CTG
P158R	CGG	N161G	GGT	H164V	GTG	Q167M	ATG
P158L	CTT	N161W	TGG	H164S	TCG	Q167N	AAT
P158V	GTG	N161Y	TAT	H164N	AAT	Q167G	GGG
P158C	TGT	N161E	GAG	H164G	GGG	Q167K	AAG
P158A	GCG	N161P	CCT	H164F	TTT	Q167E	GAG
P158W	TGG	N161T	ACG	H164Y	TAT	P168N	AAT
P158I	ATT	N161H	CAT	H164Q	CAG	P168F	TTT
P158F	TTT	N161I	ATT	H164E	GAG	P168R	CGG
P158Q	CAG	N161V	GTG	A165W	TGG	P168W	TGG
P158T	ACT	N161F	TTT	A165V	GTT	P168A	GCT
P158G	GGT	N161Q	CAG	A165G	GGG	P168T	ACG
P158K	AAG	L162A	GCT	A165K	AAG	P168V	GTT
P158N	AAT	L162G	GGG	A165L	TTG	P168G	GGG
P158D	GAT	L162C	TGT	A165P	CCT	P168C	TGT
G159R	CGG	L162P	CCG	A165Q	CAG	P168M	ATG
G159S	AGT	L162R	CGG	A165D	GAT	P168H	CAT
G159Q	CAG	L162I	ATT	A165H	CAT	P168L	CTT
G159P	CCT	L162S	TCT	A165F	TTT	P168S	AGT
G159V	GTG	L162D	GAT	A165S	AGT	P168I	ATT
G159K	AAG	L162M	ATG	A165T	ACT	P168D	GAT
G159A	GCG	L162E	GAG	A165R	CGG	G169H	CAT
G159Y	TAT	L162T	ACT	A165N	AAT	G169A	GCG
G159E	GAG	L162Y	TAT	A165M	ATG	G169E	GAG
G159T	ACG	L162F	TTT	F166G	GGG	G169C	TGT
G159M	ATG	L162W	TGG	F166S	TCG	G169S	TCG
G159I	ATT	L162Q	CAG	F166L	CTT	G169L	CTG
G159W	TGG	A163R	CGT	F166V	GTG	G169V	GTT
G159L	CTG	A163G	GGG	F166P	CCT	G169T	ACG
G159C	TGT	A163Y	TAT	F166N	AAT	G169R	CGG
G160A	GCG	A163P	CCT	F166R	CGT	G169W	TGG
G160H	CAT	A163S	AGT	F166A	GCG	G169M	ATG
G160N	AAT	A163L	CTT	F166K	AAG	G169I	ATT
G160W	TGG	A163C	TGT	F166H	CAT	G169P	CCG
G160R	CGG	A163K	AAG	F166W	TGG	G169D	GAT
G160P	CCG	A163V	GTG	F166I	ATT	G169Q	CAG
G160I	ATT	A163F	TTT	F166M	ATG	P170L	CTT

460

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
P170R	CGG	**G173S**	AGT	**A176L**	CTG	**D179I**	ATT
P170I	ATT	**G173A**	GCG	**A176P**	CCT	**D179R**	CGT
P170T	ACG	**G173R**	AGG	**A176N**	AAT	**D179N**	AAT
P170F	TTT	**G173N**	AAT	**A176G**	GGT	**D179W**	TGG
P170Q	CAG	**G173T**	ACG	**A176S**	TCT	**D179Q**	CAG
P170G	GGG	**G173D**	GAT	**A176R**	CGT	**D179V**	GTG
P170S	TCT	**G173V**	GTT	**A176K**	AAG	**D179C**	TGT
P170H	CAT	**G173F**	TTT	**A176D**	GAT	**E180M**	ATG
P170C	TGT	**G173M**	ATG	**A176W**	TGG	**E180P**	CCT
P170M	ATG	**G173Y**	TAT	**H177T**	ACG	**E180K**	AAG
P170K	AAG	**G173P**	CCG	**H177P**	CCG	**E180Y**	TAT
P170W	TGG	**G174R**	CGT	**H177Q**	CAG	**E180Q**	CAG
P170D	GAT	**G174A**	GCG	**H177A**	GCG	**E180R**	CGG
P170A	GCG	**G174E**	GAG	**H177S**	TCG	**E180A**	GCG
G171S	TCT	**G174F**	TTT	**H177G**	GGG	**E180T**	ACT
G171M	ATG	**G174H**	CAT	**H177W**	TGG	**E180I**	ATT
G171N	AAT	**G174T**	ACT	**H177L**	CTG	**E180F**	TTT
G171P	CCT	**G174D**	GAT	**H177V**	GTT	**E180C**	TGT
G171R	CGG	**G174S**	AGT	**H177I**	ATT	**E180G**	GGG
G171Y	TAT	**G174P**	CCG	**H177R**	CGG	**E180S**	TCG
G171A	GCT	**G174W**	TGG	**H177N**	AAT	**E180N**	AAT
G171Q	CAG	**G174V**	GTT	**H177Y**	TAT	**E180D**	GAT
G171H	CAT	**G174N**	AAT	**H177C**	TGT	**D181S**	TCG
G171L	CTT	**G174Y**	TAT	**H177D**	GAT	**D181Q**	CAG
G171W	TGG	**G174M**	ATG	**F178G**	GGT	**D181P**	CCT
G171C	TGT	**G174L**	CTT	**F178C**	TGT	**D181Y**	TAT
G171K	AAG	**D175I**	ATT	**F178W**	TGG	**D181R**	CGT
G171E	GAG	**D175T**	ACG	**F178R**	CGG	**D181V**	GTT
G171D	GAT	**D175N**	AAT	**F178K**	AAG	**D181F**	TTT
I172Y	TAT	**D175V**	GTT	**F178S**	AGT	**D181A**	GCT
I172T	ACG	**D175S**	TCG	**F178H**	CAT	**D181T**	ACG
I172P	CCT	**D175R**	CGG	**F178P**	CCT	**D181L**	TTG
I172A	GCG	**D175G**	GGG	**F178V**	GTT	**D181E**	GAG
I172L	CTT	**D175A**	GCG	**F178A**	GCT	**D181K**	AAG
I172Q	CAG	**D175F**	TTT	**F178Q**	CAG	**D181M**	ATG
I172E	GAG	**D175C**	TGT	**F178Y**	TAT	**D181C**	TGT
I172C	TGT	**D175Q**	CAG	**F178I**	ATT	**D181G**	GGT
I172M	ATG	**D175Y**	TAT	**F178T**	ACT	**E182C**	TGT
I172D	GAT	**D175L**	CTG	**F178L**	CTG	**E182P**	CCT
I172V	GTT	**D175H**	CAT	**F178E**	GAG	**E182S**	AGT
I172R	CGT	**D175P**	CCG	**D179P**	CCT	**E182T**	ACG
I172G	GGG	**D175E**	GAG	**D179L**	TTG	**E182R**	CGG
I172W	TGG	**A176F**	TTT	**D179E**	GAG	**E182D**	GAT
I172N	AAT	**A176Q**	CAG	**D179G**	GGG	**E182A**	GCT
G173C	TGT	**A176V**	GTG	**D179S**	AGT	**E182F**	TTT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
G173L	CTG	A176E	GAG	D179A	GCT	E182L	CTT
G173K	AAG	A176T	ACT	D179K	AAG	E182I	ATT
G173W	TGG	A176C	TGT	D179T	ACT	E182Y	TAT
E182Q	CAG	T185D	GAT	R189K	AAG	N192S	TCG
E182W	TGG	N186G	GGG	R189P	CCG	N192W	TGG
E182M	ATG	N186A	GCT	R189E	GAG	N192G	GGG
E182G	GGT	N186T	ACT	R189V	GTT	N192D	GAT
R183P	CCT	N186R	CGT	R189D	GAT	N192V	GTG
R183K	AAG	N186L	TTG	R189Y	TAT	N192A	GCT
R183W	TGG	N186P	CCG	R189C	TGT	N192T	ACT
R183E	GAG	N186S	AGT	R189A	GCT	N192K	AAG
R183A	GCT	N186V	GTG	R189H	CAT	N192C	TGT
R183T	ACG	N186Q	CAG	R189W	TGG	N192M	ATG
R183L	CTT	N186H	CAT	R189N	AAT	L193P	CCG
R183N	AAT	N186C	TGT	R189T	ACT	L193G	GGG
R183H	CAT	N186E	GAG	R189Q	CAG	L193F	TTT
R183V	GTG	N186F	TTT	E190A	GCG	L193S	TCG
R183C	TGT	N186Y	TAT	E190H	CAT	L193W	TGG
R183M	ATG	N186D	GAT	E190V	GTG	L193A	GCT
R183I	ATT	N187R	CGG	E190P	CCG	L193R	CGT
R183G	GGT	N187M	ATG	E190C	TGT	L193Q	CAG
R183S	TCT	N187S	TCT	E190G	GGT	L193E	GAG
W184G	GGG	N187T	ACG	E190R	CGG	L193K	AAG
W184H	CAT	N187L	CTG	E190I	ATT	L193N	AAT
W184L	CTG	N187W	TGG	E190S	TCG	L193I	ATT
W184E	GAG	N187F	TTT	E190T	ACT	L193T	ACT
W184P	CCT	N187K	AAG	E190M	ATG	L193D	GAT
W184N	AAT	N187I	ATT	E190L	TTG	L193Y	TAT
W184A	GCG	N187A	GCT	E190K	AAG	H194S	AGT
W184T	ACT	N187P	CCG	E190Y	TAT	H194E	GAG
W184R	CGG	N187D	GAT	E190D	GAT	H194K	AAG
W184Q	CAG	N187G	GGG	Y191T	ACT	H194Q	CAG
W184V	GTG	N187C	TGT	Y191H	CAT	H194V	GTT
W184S	TCT	N187H	CAT	Y191G	GGG	H194T	ACT
W184M	ATG	F188P	CCG	Y191L	TTG	H194L	CTG
W184I	ATT	F188I	ATT	Y191P	CCT	H194Y	TAT
W184F	TTT	F188N	AAT	Y191Q	CAG	H194F	TTT
T185R	CGT	F188S	AGT	Y191K	AAG	H194G	GGT
T185Y	TAT	F188Q	CAG	Y191D	GAT	H194I	ATT
T185W	TGG	F188K	AAG	Y191A	GCG	H194W	TGG
T185H	CAT	F188G	GGG	Y191W	TGG	H194M	ATG
T185G	GGG	F188W	TGG	Y191S	TCT	H194A	GCT
T185P	CCT	F188E	GAG	Y191V	GTT	H194P	CCT
T185S	TCG	F188H	CAT	Y191E	GAG	R195C	TGT
T185V	GTT	F188D	GAT	Y191R	CGT	R195F	TTT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
T185Q	CAG	F188A	GCG	Y191C	TGT	R195W	TGG
T185N	AAT	F188L	CTT	N192R	CGG	R195T	ACT
T185C	TGT	F188R	CGT	N192L	CTG	R195L	CTG
T185L	CTT	F188V	GTT	N192Q	CAG	R195G	GGT
T185A	GCG	R189L	TTG	N192P	CCT	R195Q	CAG
T185E	GAG	R189G	GGG	N192H	CAT	R195K	AAG
R195S	TCT	A198F	TTT	L201N	AAT	L205S	TCT
R195A	GCT	A198W	TGG	G202T	ACG	L205G	GGT
R195D	GAT	A198Y	TAT	G202Y	TAT	L205P	CCT
R195P	CCT	A198D	GAT	G202E	GAG	L205E	GAG
R195Y	TAT	H199I	ATT	G202V	GTG	L205V	GTG
R195E	GAG	H199P	CCG	G202S	TCT	L205M	ATG
R195V	GTG	H199G	GGT	G202L	CTG	L205N	AAT
V196T	ACG	H199N	AAT	G202I	ATT	L205C	TGT
V196D	GAT	H199S	TCG	G202M	ATG	L205I	ATT
V196G	GGG	H199L	TTG	G202H	CAT	L205A	GCG
V196E	GAG	H199M	ATG	G202C	TGT	L205R	CGG
V196A	GCG	H199A	GCG	G202R	CGT	L205W	TGG
V196S	AGT	H199C	TGT	G202P	CCT	L205Q	CAG
V196Q	CAG	H199K	AAG	G202A	GCT	G206I	ATT
V196P	CCG	H199R	CGT	G202K	AAG	G206V	GTG
V196R	CGT	H199V	GTG	G202D	GAT	G206A	GCG
V196H	CAT	H199W	TGG	H203Y	TAT	G206C	TGT
V196Y	TAT	H199T	ACT	H203E	GAG	G206S	TCG
V196I	ATT	H199E	GAG	H203R	CGG	G206P	CCG
V196L	CTG	E200P	CCG	H203Q	CAG	G206L	TTG
V196K	AAG	E200G	GGG	H203P	CCG	G206D	GAT
V196M	ATG	E200A	GCT	H203G	GGG	G206M	ATG
A197G	GGT	E200T	ACG	H203T	ACT	G206R	CGG
A197S	AGT	E200I	ATT	H203D	GAT	G206Q	CAG
A197L	CTT	E200W	TGG	H203L	TTG	G206E	GAG
A197P	CCG	E200R	CGG	H203N	AAT	G206H	CAT
A197V	GTG	E200F	TTT	H203A	GCT	G206T	ACG
A197Y	TAT	E200M	ATG	H203S	TCT	G206W	TGG
A197Q	CAG	E200D	GAT	H203V	GTT	L207S	TCT
A197R	CGG	E200V	GTG	H203I	ATT	L207Y	TAT
A197T	ACT	E200C	TGT	H203C	TGT	L207A	GCG
A197I	ATT	E200S	TCT	S204R	CGG	L207R	CGT
A197H	CAT	E200Y	TAT	S204N	AAT	L207P	CCG
A197E	GAG	E200N	AAT	S204A	GCG	L207Q	CAG
A197W	TGG	L201A	GCG	S204T	ACT	L207N	AAT
A197N	AAT	L201R	CGG	S204Y	TAT	L207K	AAG
A197C	TGT	L201E	GAG	S204V	GTG	L207M	ATG
A198T	ACG	L201P	CCT	S204L	CTT	L207W	TGG
A198K	AAG	L201G	GGT	S204H	CAT	L207H	CAT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
A198S	TCG	L201V	GTT	S204D	GAT	L207D	GAT
A198H	CAT	L201T	ACG	S204Q	CAG	L207V	GTT
A198G	GGT	L201I	ATT	S204G	GGG	L207I	ATT
A198E	GAG	L201S	TCT	S204W	TGG	L207G	GGT
A198P	CCG	L201W	TGG	S204I	ATT	S208D	GAT
A198L	TTG	L201Q	CAG	S204K	AAG	S208V	GTT
A198R	CGT	L201D	GAT	S204P	CCT	S208P	CCT
A198V	GTT	L201M	ATG	L205T	ACG	S208G	GGT
A198M	ATG	L201K	AAG	L205D	GAT	S208A	GCG
S208K	AAG	T211Q	CAG	G214A	GCT	M217A	GCG
S208N	AAT	T211S	TCG	G214D	GAT	M217H	CAT
S208F	TTT	T211A	GCG	G214F	TTT	M217I	ATT
S208Q	CAG	T211F	TTT	G214Y	TAT	M217D	GAT
S208W	TGG	T211D	GAT	G214M	ATG	Y218C	TGT
S208T	ACG	T211W	TGG	G214C	TGT	Y218F	TTT
S208E	GAG	T211L	CTG	A215L	CTG	Y218W	TGG
S208C	TGT	D212E	GAG	A215Q	CAG	Y218L	CTG
S208R	CGT	D212A	GCG	A215M	ATG	Y218A	GCG
S208L	CTT	D212K	AAG	A215G	GGT	Y218P	CCG
H209T	ACG	D212R	CGG	A215W	TGG	Y218R	CGG
H209Y	TAT	D212T	ACG	A215S	AGT	Y218N	AAT
H209R	CGG	D212N	AAT	A215T	ACG	Y218V	GTG
H209Q	CAG	D212G	GGG	A215V	GTT	Y218Q	CAG
H209A	GCT	D212S	TCT	A215N	AAT	Y218I	ATT
H209G	GGG	D212P	CCG	A215P	CCG	Y218D	GAT
H209N	AAT	D212Q	CAG	A215H	CAT	Y218S	TCG
H209P	CCT	D212V	GTT	A215K	AAG	Y218G	GGG
H209W	TGG	D212L	TTG	A215I	ATT	Y218E	GAG
H209V	GTT	D212F	TTT	A215R	CGT	P219L	TTG
H209D	GAT	D212H	CAT	A215C	TGT	P219C	TGT
H209S	AGT	D212Y	TAT	A215D	GAT	P219V	GTG
H209F	TTT	I213Q	CAG	L216A	GCT	P219D	GAT
H209L	CTG	I213T	ACT	L216C	TGT	P219F	TTT
H209C	TGT	I213C	TGT	L216D	GAT	P219A	GCG
S210C	TGT	I213P	CCT	L216E	GAG	P219T	ACT
S210G	GGT	I213H	CAT	L216G	GGG	P219E	GAG
S210I	ATT	I213A	GCG	L216I	ATT	P219Q	CAG
S210R	CGT	I213V	GTT	L216K	AAG	P219R	CGG
S210L	CTG	I213G	GGG	L216M	ATG	P219H	CAT
S210V	GTG	I213N	AAT	L216P	CCT	P219G	GGG
S210H	CAT	I213L	CTT	L216Q	CAG	P219K	AAG
S210N	AAT	I213S	AGT	L216R	CGG	P219S	TCG
S210F	TTT	I213M	ATG	L216S	TCT	P219W	TGG
S210P	CCG	I213R	CGG	L216T	ACT	S220R	CGT
S210W	TGG	I213K	AAG	L216V	GTG	S220A	GCG

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
S210Q	CAG	I213F	TTT	L216W	TGG	S220Q	CAG
S210T	ACG	I213D	GAT	M217P	CCT	S220T	ACT
S210K	AAG	I213E	GAG	M217Y	TAT	S220L	CTT
S210A	GCG	G214L	TTG	M217T	ACG	S220K	AAG
T211P	CCG	G214Q	CAG	M217C	TGT	S220G	GGG
T211R	CGT	G214S	TCT	M217S	AGT	S220H	CAT
T211K	AAG	G214T	ACT	M217L	CTG	S220E	GAG
T211G	GGG	G214V	GTG	M217N	AAT	S220M	ATG
T211M	ATG	G214I	ATT	M217R	CGG	S220V	GTT
T211N	AAT	G214R	CGT	M217Q	CAG	S220P	CCG
T211V	GTG	G214P	CCG	M217K	AAG	S220I	ATT
T211H	CAT	G214E	GAG	M217G	GGG	S220F	TTT
S220N	AAT	S224T	ACG	V227K	AAG	A230S	TCG
Y221W	TGG	S224Q	CAG	V227L	CTG	A230C	TGT
Y221K	AAG	S224R	CGG	V227P	CCT	A230V	GTT
Y221Q	CAG	S224P	CCG	V227S	TCT	A230T	ACT
Y221C	TGT	S224I	ATT	V227T	ACT	A230Y	TAT
Y221N	AAT	S224V	GTT	V227W	TGG	A230M	ATG
Y221P	CCT	S224L	TTG	V227Y	TAT	A230N	AAT
Y221V	GTT	S224C	TGT	V227G	GGG	A230H	CAT
Y221A	GCG	S224K	AAG	V227H	CAT	Q231I	ATT
Y221G	GGG	S224D	GAT	V227Q	CAG	Q231A	GCT
Y221R	CGG	S224H	CAT	V227R	CGT	Q231F	TTT
Y221S	TCG	S224M	ATG	Q228A	GCT	Q231P	CCT
Y221M	ATG	S224A	GCT	Q228D	GAT	Q231Y	TAT
Y221T	ACG	S224W	TGG	Q228E	GAG	Q231R	CGT
Y221L	CTT	G225D	GAT	Q228G	GGT	Q231L	CTG
Y221E	GAG	G225R	CGT	Q228H	CAT	Q231D	GAT
T222L	TTG	G225Q	CAG	Q228K	AAG	Q231G	GGT
T222Y	TAT	G225M	ATG	Q228L	CTG	Q231V	GTT
T222R	CGT	G225P	CCT	Q228M	ATG	Q231W	TGG
T222V	GTT	G225W	TGG	Q228N	AAT	Q231S	AGT
T222P	CCT	G225S	TCT	Q228P	CCG	Q231H	CAT
T222S	AGT	G225E	GAG	Q228R	CGG	Q231C	TGT
T222A	GCT	G225V	GTT	Q228S	TCT	Q231M	ATG
T222H	CAT	G225T	ACG	Q228T	ACG	D232H	CAT
T222G	GGG	G225K	AAG	Q228W	TGG	D232G	GGG
T222M	ATG	G225N	AAT	Q228Y	TAT	D232R	CGT
T222F	TTT	G225C	TGT	L229R	CGG	D232P	CCT
T222C	TGT	G225H	CAT	L229A	GCG	D232Y	TAT
T222I	ATT	G225A	GCG	L229T	ACG	D232N	AAT
T222N	AAT	D226S	TCT	L229Q	CAG	D232S	TCG
T222W	TGG	D226W	TGG	L229P	CCT	D232F	TTT
T222D	GAT	D226R	CGG	L229E	GAG	D232V	GTG
F223L	TTG	D226A	GCT	L229W	TGG	D232K	AAG

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
F223T	ACG	**D226N**	AAT	**L229M**	ATG	**D232W**	TGG
F223C	TGT	**D226T**	ACT	**L229I**	ATT	**D232Q**	CAG
F223R	CGT	**D226E**	GAG	**L229G**	GGT	**D232E**	GAG
F223N	AAT	**D226L**	CTT	**L229C**	TGT	**D232T**	ACT
F223P	CCT	**D226P**	CCT	**L229Y**	TAT	**D232L**	CTG
F223E	GAG	**D226H**	CAT	**L229D**	GAT	**D233Q**	CAG
F223G	GGG	**D226G**	GGT	**L229H**	CAT	**D233P**	CCG
F223Q	CAG	**D226I**	ATT	**L229V**	GTG	**D233S**	TCT
F223A	GCG	**D226M**	ATG	**A230L**	TTG	**D233T**	ACG
F223S	TCT	**D226V**	GTG	**A230G**	GGT	**D233A**	GCG
F223Y	TAT	**D226C**	TGT	**A230W**	TGG	**D233W**	TGG
F223H	CAT	**V227A**	GCT	**A230P**	CCG	**D233G**	GGT
F223K	AAG	**V227C**	TGT	**A230D**	GAT	**D233R**	CGT
F223M	ATG	**V227D**	GAT	**A230R**	CGT	**D233E**	GAG
S224G	GGG	**V227E**	GAG	**A230I**	ATT	**D233N**	AAT
D233V	GTG	**G236N**	AAT	**I240G**	GGG	**R243L**	CTT
D233M	ATG	**G236F**	TTT	**I240Q**	CAG	**R243A**	GCG
D233L	CTG	**I237S**	TCG	**I240P**	CCG	**R243H**	CAT
D233K	AAG	**I237L**	CTG	**I240R**	CGG	**R243Q**	CAG
D233I	ATT	**I237R**	CGT	**I240S**	TCG	**R243S**	AGT
I234A	GCT	**I237Q**	CAG	**I240K**	AAG	**R243I**	ATT
I234T	ACG	**I237K**	AAG	**I240V**	GTG	**R243C**	TGT
I234V	GTT	**I237D**	GAT	**I240D**	GAT	**R243N**	AAT
I234W	TGG	**I237A**	GCG	**I240A**	GCG	**R243Y**	TAT
I234E	GAG	**I237T**	ACG	**I240C**	TGT	**R243G**	GGG
I234G	GGT	**I237E**	GAG	**I240L**	CTT	**R243D**	GAT
I234L	CTT	**I237C**	TGT	**I240F**	TTT	**R243V**	GTG
I234H	CAT	**I237G**	GGG	**I240Y**	TAT	**S244P**	CCG
I234M	ATG	**I237P**	CCT	**I240M**	ATG	**S244L**	CTT
I234N	AAT	**I237Y**	TAT	**I240T**	ACG	**S244W**	TGG
I234Y	TAT	**I237W**	TGG	**Y241V**	GTT	**S244M**	ATG
I234P	CCT	**I237N**	AAT	**Y241A**	GCT	**S244V**	GTT
I234D	GAT	**Q238G**	GGG	**Y241G**	GGG	**S244Q**	CAG
I234Q	CAG	**Q238H**	CAT	**Y241H**	CAT	**S244D**	GAT
I234C	TGT	**Q238S**	TCG	**Y241R**	CGG	**S244E**	GAG
D235H	CAT	**Q238Y**	TAT	**Y241P**	CCG	**S244T**	ACG
D235G	GGG	**Q238F**	TTT	**Y241Q**	CAG	**S244H**	CAT
D235A	GCG	**Q238E**	GAG	**Y241L**	TTG	**S244G**	GGT
D235P	CCG	**Q238L**	TTG	**Y241T**	ACG	**S244A**	GCT
D235L	CTT	**Q238W**	TGG	**Y241S**	AGT	**S244F**	TTT
D235V	GTG	**Q238P**	CCG	**Y241W**	TGG	**S244Y**	TAT
D235E	GAG	**Q238R**	AGG	**Y241N**	AAT	**S244R**	CGT
D235R	CGT	**Q238C**	TGT	**Y241M**	ATG	**Q245P**	CCT
D235Q	CAG	**Q238N**	AAT	**Y241I**	ATT	**Q245I**	ATT
D235T	ACG	**Q238I**	ATT	**Y241D**	GAT	**Q245F**	TTT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
D235C	TGT	**Q238T**	ACG	**G242A**	GCG	**Q245V**	GTT
D235S	TCG	**Q238K**	AAG	**G242F**	TTT	**Q245M**	ATG
D235N	AAT	**A239S**	TCT	**G242L**	CTT	**Q245T**	ACT
D235Y	TAT	**A239Q**	CAG	**G242N**	AAT	**Q245E**	GAG
D235I	ATT	**A239T**	ACG	**G242P**	CCT	**Q245S**	TCG
G236M	ATG	**A239P**	CCT	**G242W**	TGG	**Q245R**	CGG
G236R	CGG	**A239V**	GTG	**G242T**	ACG	**Q245G**	GGT
G236D	GAT	**A239L**	CTG	**G242R**	CGT	**Q245H**	CAT
G236S	TCT	**A239Y**	TAT	**G242V**	GTT	**Q245L**	CTT
G236T	ACT	**A239I**	ATT	**G242S**	TCG	**Q245K**	AAG
G236C	TGT	**A239C**	TGT	**G242I**	ATT	**Q245W**	TGG
G236K	AAG	**A239G**	GGG	**G242Y**	TAT	**Q245C**	TGT
G236E	GAG	**A239W**	TGG	**G242H**	CAT	**N246W**	TGG
G236P	CCG	**A239F**	TTT	**G242E**	GAG	**N246R**	CGG
G236I	ATT	**A239K**	AAG	**G242K**	AAG	**N246A**	GCG
G236Y	TAT	**A239H**	CAT	**R243P**	CCG	**N246F**	TTT
G236L	CTG	**A239R**	CGT	**R243K**	AAG	**N246G**	GGT
G236V	GTT	**A239D**	GAT	**R243T**	ACG	**N246P**	CCT
N246V	GTT	**Q249G**	GGT	**G252P**	CCT	**T255L**	TTG
N246Q	CAG	**Q249N**	AAT	**G252H**	CAT	**T255H**	CAT
N246Y	TAT	**Q249K**	AAG	**G252C**	TGT	**P256S**	AGT
N246C	TGT	**Q249I**	ATT	**G252V**	GTT	**P256V**	GTG
N246I	ATT	**Q249Y**	TAT	**G252I**	ATT	**P256F**	TTT
N246L	TTG	**Q249V**	GTG	**P253C**	TGT	**P256Y**	TAT
N246S	TCT	**Q249L**	TTG	**P253G**	GGT	**P256I**	ATT
N246T	ACT	**Q249H**	CAT	**P253Q**	CAG	**P256A**	GCT
N246K	AAG	**P250L**	CTG	**P253I**	ATT	**P256L**	CTT
N246D	GAT	**P250S**	TCG	**P253L**	CTG	**P256G**	GGT
P247A	GCG	**P250R**	CGG	**P253R**	CGG	**P256N**	AAT
P247D	GAT	**P250Y**	TAT	**P253A**	GCT	**P256R**	CGG
P247E	GAG	**P250M**	ATG	**P253E**	GAG	**P256Q**	CAG
P247F	TTT	**P250F**	TTT	**P253Y**	TAT	**P256E**	GAG
P247G	GGG	**P250A**	GCT	**P253W**	TGG	**P256K**	AAG
P247H	CAT	**P250K**	AAG	**P253M**	ATG	**P256M**	ATG
P247I	ATT	**P250G**	GGT	**P253V**	GTG	**P256C**	TGT
P247K	AAG	**P250N**	AAT	**P253T**	ACT	**K257C**	TGT
P247L	CTG	**P250T**	ACT	**P253K**	AAG	**K257M**	ATG
P247N	AAT	**P250W**	TGG	**P253N**	AAT	**K257V**	GTT
P247Q	CAG	**P250D**	GAT	**Q254R**	CGT	**K257A**	GCT
P247R	CGT	**P250V**	GTG	**Q254G**	GGG	**K257E**	GAG
P247S	TCG	**P250Q**	CAG	**Q254W**	TGG	**K257S**	TCT
P247T	ACG	**I251A**	GCG	**Q254T**	ACT	**K257L**	CTT
P247V	GTT	**I251Q**	CAG	**Q254A**	GCT	**K257I**	ATT
V248W	TGG	**I251G**	GGG	**Q254F**	TTT	**K257G**	GGG
V248L	CTG	**I251L**	CTG	**Q254D**	GAT	**K257N**	AAT

Tabla 21. Codones que codifican cada sustitución de aminoácido							
Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón	Mutación	Codón
V248Q	CAG	**I251K**	AAG	**Q254P**	CCG	**K257F**	TTT
V248M	ATG	**I251R**	CGT	**Q254L**	CTG	**K257W**	TGG
V248Y	TAT	**I251E**	GAG	**Q254C**	TGT	**K257R**	CGG
V248G	GGG	**I251D**	GAT	**Q254Y**	TAT	**K257P**	CCG
V248C	TGT	**I251T**	ACG	**Q254I**	ATT	**K257T**	ACT
V248R	CGG	**I251C**	TGT	**Q254E**	GAG	**A258Q**	CAG
V248A	GCG	**I251Y**	TAT	**Q254V**	GTG	**A258Y**	TAT
V248H	CAT	**I251P**	CCT	**Q254S**	TCT	**A258W**	TGG
V248I	ATT	**I251S**	TCT	**T255I**	ATT	**A258G**	GGG
V248T	ACT	**I251W**	TGG	**T255Q**	CAG	**A258L**	TTG
V248K	AAG	**I251V**	GTT	**T255P**	CCG	**A258F**	TTT
V248S	TCG	**G252F**	TTT	**T255R**	CGT	**A258M**	ATG
V248F	TTT	**G252W**	TGG	**T255C**	TGT	**A258N**	AAT
V248E	GAG	**G252A**	GCG	**T255N**	AAT	**A258V**	GTG
Q249T	ACT	**G252R**	CGG	**T255S**	AGT	**A258T**	ACG
Q249W	TGG	**G252L**	CTT	**T255V**	GTG	**A258I**	ATT
Q249R	CGG	**G252E**	GAG	**T255E**	GAG	**A258D**	GAT
Q249E	GAG	**G252D**	GAT	**T255G**	GGG	**A258R**	CGT
Q249A	GCT	**G252K**	AAG	**T255K**	AAG	**A258E**	GAG
Q249P	CCG	**G252S**	TCG	**T255A**	GCT	**A258P**	CCG
Q249C	TGT	**G252T**	ACG	**T255F**	TTT	**T255L**	TTG

El ADN que codifica cada miembro de colección individual se generó de acuerdo con protocolos de síntesis de ADN estándares y expresó usando técnicas de biología molecular de rutina. Brevemente, el ADN se ligó en el vector pET303CTHis (Invitrogen, SEQ ID NO: 533) usando técnicas de biología molecular de rutina. El plásmido que contiene un mutante hMMP-1 individual se transformó en células BL21 (DE3) *E. coli* (Tigen, Beijing, China) usando las recomendaciones de los fabricantes. El proceso se repitió para todos los miembros de la colección. El cultivo de transformación se usó para inocular 1 mL de medio LB que contiene aditivos de

ampicilina. El cultivo se hizo crecer a 37°C con agitación durante 16 horas. La expresión de la proteína se indujo por la adición de isopropil-β-D-tiogalactosido 1 mM (IPTG) y el cultivo se incubó a 25°C con agitación. Después de 6 horas, las células se peletizaron por centrifugación a 6,000 g durante 10 minutos y el sobrenadante se removió. La proteína periplásmica se enriqueció al incubar las células en 50 µl de solución amortiguadora OS (Tris-HCV 200 mM, pH 7.5, sacarosa al 20%, EDTA 1 mM) con 4 µl de ADNsa (10 µg/ml), 4 µl de ARNsa (10 µg/ml), y 4 µl de lisozima (10 µg/ml) durante 10 minutos a 25°C. 50 µl de agua se agregó a cada pozo seguido por centrifugación a 6000 g durante 10 minutos para remover los desechos celulares. El sobrenadante, que contiene la proteína hMMP-1, se almacenó a -20°C. La actividad de los sobrenadantes se separaron por exclusión como se describe en los siguientes ejemplos.

B. Clonación y expresión de hMMP-1 de tipo natural

En este ejemplo, hMMP-1 de tipo natural se expresó individualmente en tanto células *E. coli* como CHO-S.

1. Expresión en *E. coli*

La hMMP-1 de tipo natural (clon BAP006_10, que tiene una secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 534) se

clonó en el vector pET303CTHis (Invitrogen, SEQ ID NO: 533) e hizo crecer en BL21(DE3) de *E. coli*. El vector pET303CTHis contiene una tag His de terminal C (SEQ ID NO: 235). La expresión de la proteína se indujo durante la adición de isopropil-β-D-tiogalactosido 1 mM (IPTG) como se describe arriba. Después de la expresión, la proteína se enriqueció como se describe en el Ejemplo 27A, y purificó posteriormente usando una columna HiTrap Ni^{2+} (GE Healthcare) de acuerdo con los protocolos de biología molecular estándares. La expresion y purificación se vigilaron por SDS/PAGE y análisis Western blot.

2. Expresión en células CHO-S

La hMMP-1 de tipo natural (clon BAP006_2, que tiene una secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 534) se expresó en células CHO-S y se secretó en el medio. La proteína hMMP-1 de tipo natural se purificó usando una columna HiTrap Ni^{2+} (GE Healthcare) de acuerdo con protocolos de biología molecular estándares.

Ejemplo 28

Determinación de la Actividad Enzimática de los Mutantes hMMP-1 usando un sustrato de péptido fluorogénico

En este ejemplo, la colección mutante de hMMP-1,

generada en el Ejemplo 27, se separó por exclusión usando un ensayo de actividad de fluorescencia de alto desempeño para identificar los mutantes hMMP-1 sensibles a la temperatura. Para separar por exclusión los mutantes hMMP-1 sensibles temporalmente, la actividad enzimática de cada mutante individual se determinó a 25°C y 37°C y/o 34°C, usando un sustrato fluorogénico comercialmente disponible, péptido IX, designado como Mca-K-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH2 (SEQ ID NO: 535; Mca=(7-Metoxicoumarino-4-il)acetil; Dpa=N-3-(2,4,-Dinitrofenil)-L-2,3-diaminopropionilo; R&D Systems, Minneapolis, MN, Cat # ES010). El sustrato de péptido contiene un grupo 7-metoxicoumarino altamente fluorescente que se apaga por transferencia de energía de resonancia al grupo 2,4-dinitrofenilo. El hMMP-1 activado desdobla el enlace de amida entre glicina y leucina resultando en un incremento en la fluorescencia liberada. Las reacciones se realizaron inicialmente en un ensayo de 96 pozos y confirmaron usando un formato de tubo de 14 ml.

A. Ensayo de 96 pozos

Antes de evaluar la actividad de los sobrenadante, los sobrenadantes se trataron con un agente de procesamiento para activar la forma zimógena inactiva en una enzima activa. Brevemente, 4 µl de cada sobrenadante mutante hMMP-1 generado

en el Ejemplo 27 se agregó hasta 100 µl de TCNB (Tris 50 nM, $CaCl_2$ 10 mM, NaCl 150 mM, Brij 35 al 0.05%, pH 7.5) con 1 mM del acetato de p-aminofenilmercúrico del agente de procesamiento (APMA, por sus siglas en inglés) en una placa de 96 pozos. La solución se incubó a la temperatura de reacción (ya sea 25°C o 37°C) durante 2 horas. Esta etapa de activación desdobla el pro-péptido y genera el hMMP-1 maduro.

Después de la activación, 1.6 µl de TCNB que contiene sustrato fluorescente Mca-K-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH_2 620µM se agregó a cada pozo a una concentración final de 10 µM, en la temperatura de reacción indicada (ya sea 25°C o 37°C) durante 1 hora. La fluorescencia se detectó al medir la fluorescencia en un lector de placa fluorescente en excitación 320 nm/emisión 405 nm. Las unidades de fluorescencia relativas (RFU) se determinaron. El sobrenadante de células transformadas de plásmido/vector y hMMP-1 de tipo natural se usaron como controles positivos y negativos. Las reacciones duplicadas se realizaron para cada muestra, temperatura de reacción, y control positivo y negativo.

De la selección inicial de 2687 mutantes hMMP-1, 199 éxitos primarios supuestos se identificaron (ver Tabla 22) con actividad reducida a 37°C. Estos mutantes hMMP-1 se volvieron a separar por exclusión, usando el mismo ensayo, y 104 éxitos primarios se confirmaron (ver Tabla 23, a

continuación). Los mutantes hMMP-1 que fueron activos a 25°C y tienen al menos una disminución al 16% en la actividad a 37°C (por ejemplo, la relación de las actividades a 25°C o 37°C (25°C/37°C) es mayor que o igual a 1.2) se consideraron para confirmarse los éxitos sensibles a la temperatura primarios. La Tabla 22, a continuación, enlista la mutación hMMP-1, el RFU promedio a 25°C y 37°C, y la relación de las actividades (25°C/37°C). La tabla también enlista el fenotipo de temperatura: ABAJO, indica que la relación (25°C/37°C) de la actividad del mutante se disminuye comparado con la relación (25°C/37°C) de la actividad del tipo natural, esto es disminuye mayor que 16% de la actividad del tipo natural; NEUTRO, indica que la relación (25°C/37°C) de la actividad del mutante es similar a la relación (25°C/37°C) de la actividad de tipo natural, esto es dentro del 16% de la actividad del tipo natural; y ARRIBA, indica que la relación (25°C/37°C) de la actividad del mutante se incrementa comparada con la relación (25°C/37°C) de la actividad del tipo natural, esto es incrementa más del 16% de la actividad del tipo natural.

La Tabla 22, a continuación, también enlista las actividades residuales en 25°C y 37°C, como se compara con el hMMP-1 de tipo natural. La actividad residual es la relación de la actividad mutante hMMP-1 contra la actividad hMMP-1 de

tipo natural en la temperatura indicada, ya sea 25°C o 37°C. Varios de los mutantes hMMP-1 tienen actividades que fueron comparables con, o mayores que, hMMP-1 de tipo natural a 25°C mientras que todos muestran actividades disminuidas a 37°C, por ello reconfirmando su actividad disminuida en temperaturas elevadas.

Tabla 22. Resultados de la Selección Inicial para Mutantes hMMP-1 Sensibles a Temperatura

Fenotipo de temperatura	Mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU promedio 25 °C	RFU promedio 37 °C	Relación 25°C/ 37°C	Actividad residual 25 °C	Actividad residual Mut/p 37 °C
Neutro	T84F	479	6312.72	6453.46	0.98	1.10	1.27
Neutro	E85F	480	6092.47	6362.37	0.96	1.06	1.26
Arriba	L95K	328	1333.28	1191.46	1.12	0.15	0.14
Abajo	L95I	329	1707.98	2294.02	0.74	0.30	0.45
Abajo	R98D	481	2905.96	3867.31	0.75	0.33	0.47
Abajo	I99Q	482	3318.21	4623.91	0.72	0.37	0.56
Abajo	E100V	457	3980.72	5009.20	0.79	1.26	1.01
Neutro	E100R	451	7410.11	7964.52	0.93	0.83	0.96
Neutro	E100S	454	3768.09	4664.58	0.81	0.42	0.56
Neutro	E100T	453	6985.28	7478.12	0.93	0.79	0.90
Neutro	E100F	455	6709.27	7436.60	0.90	0.75	0.90
Neutro	E100I	456	8824.19	8458.79	1.04	0.99	1.02
Neutro	E100N	452	8809.68	8215.63	1.07	0.99	0.99
Neutro	T103Y	458	1181.09	1423.76	0.83	0.37	0.29
Neutro	P104A	484	8861.30	8360.82	1.06	1.00	1.01
Arriba	P104M	483	6709.44	7118.65	0.94	0.88	0.75
Arriba	D105A	340	2674.16	1227.06	2.18	0.65	0.24
Arriba	D105F	336	2009.56	1221.58	1.65	0.49	0.24
Arriba	D105G	335	2407.89	1686.68	1.43	0.58	0.34
Arriba	D105I	338	1732.38	1105.99	1.57	0.42	0.22
Arriba	D105L	339	1563.61	859.56	1.82	0.38	0.17
Arriba	D105N	332	3766.72	1475.08	2.55	0.91	0.29
Arriba	D105R	331	3892.02	2016.90	1.93	0.94	0.40
Arriba	D105S	334	3646.49	2727.22	1.34	0.88	0.54
Arriba	D105T	333	2513.64	1729.46	1.45	0.61	0.34
Arriba	D105W	337	2565.93	1855.05	1.38	0.62	0.37
Neutro	D105E	330	4000.92	3366.64	1.19	0.59	0.45
Neutro	L106C	485	2995.56	3678.33	0.81	0.34	0.44
Neutro	L106S	486	2730.64	2899.36	0.94	0.31	0.35

Neutro	A109H	487	7206.01	7536.96	0.96	0.81	0.91
Neutro	D110A	488	4179.59	5112.44	0.82	0.47	0.62
Neutro	V111R	489	2401.69	2925.16	0.82	0.27	0.35
Neutro	D112S	490	7203.69	7600.93	0.95	0.81	0.92
Neutro	A118T	491	745.83	665.63	1.12	0.13	0.13
Abajo	S123V	492	3220.29	4504.25	0.71	0.41	0.60
Neutro	N124D	493	6218.73	6620.92	0.94	0.92	0.88
Neutro	T126S	494	7114.42	6856.69	1.04	1.06	0.91
Arriba	G147P	495	494.94	392.93	1.26	0.07	0.05
Arriba	R150P	345	2291.14	828.28	2.77	0.31	0.12
Neutro	R150V	344	6869.28	6604.61	1.04	1.20	1.30
Neutro	R150D	341	7230.41	6033.28	1.20	1.26	1.19
Abajo	R150I	343	3120.05	4082.34	0.76	0.39	0.55
Neutro	R150H	342	8281.04	8056.17	1.03	1.05	1.08
Arriba	D151G	346	1073.32	733.89	1.46	0.20	0.11
Neutro	N152A	497	6669.94	5660.16	1.18	1.17	1.12
Abajo	N152S	496	4607.85	8096.31	0.57	0.58	1.08
Neutro	S153T	459	10530.07	8798.72	1.20	1.44	1.24
Arriba	F155L	347	1322.13	864.19	1.53	0.25	0.13
Arriba	F155A	348	1250.93	760.12	1.65	0.23	0.11
Arriba	D156H	349	2722.09	2081.55	1.31	0.51	0.31
Arriba	D156L	356	2548.30	1597.53	1.60	0.48	0.24
Arriba	D156A	357	2679.29	1734.45	1.54	0.50	0.26
Arriba	D156W	354	1575.39	1268.36	1.24	0.30	0.19
Arriba	D156V	355	1400.88	766.80	1.83	0.26	0.11
Arriba	D156K	350	1292.89	966.62	1.34	0.24	0.14
Arriba	D156T	352	2871.09	1843.03	1.56	0.54	0.27
Arriba	D156R	351	2431.23	1545.89	1.57	0.46	0.23
Arriba	D156M	353	817.96	502.82	1.63	0.12	0.07
Neutro	P158T	500	4204.23	3507.76	1.20	0.53	0.47
Neutro	P158G	501	6277.86	5496.27	1.14	0.79	0.73
Neutro	P158K	498	6860.82	6680.30	1.03	0.87	0.89
Neutro	P158N	499	3656.04	3874.48	0.94	0.46	0.52
Arriba	G159V	363	2453.98	732.46	3.35	0.34	0.10
Arriba	G159T	359	5059.91	1734.12	2.92	0.69	0.24
Arriba	G159M	360	5905.06	4874.00	1.21	0.75	0.65
Neutro	G159I	362	5725.99	5357.20	1.07	0.72	0.72
Neutro	G159W	361	6787.40	6287.71	1.08	0.86	0.84
Neutro	G159L	364	8231.62	7638.64	1.08	1.04	1.02
Neutro	G159C	358	2897.77	3053.86	0.95	0.37	0.41
Neutro	P170D	502	1434.38	1462.91	0.98	0.25	0.29
Neutro	P170A	503	2733.72	2793.24	0.98	0.48	0.55
Arriba	G171P	462	1570.74	1204.39	1.30	0.27	0.17
Neutro	G171E	461	1154.96	1199.65	0.96	0.20	0.24
Neutro	G171D	460	791.81	690.33	1.15	0.14	0.14
Arriba	A176F	365	10486.82	6516.31	1.61	1.31	0.78
Neutro	A176W	366	482.38	414.85	1.16	0.06	0.06

Neutro	F178T	504	560.54	487.01	1.15	0.10	0.10
Arriba	F178L	505	1788.95	1314.38	1.36	0.31	0.26
Arriba	D179N	368	2433.73	812.01	3.00	0.26	0.10
Arriba	D179V	369	604.63	490.35	1.23	0.11	0.10
Arriba	D179C	367	613.81	503.76	1.22	0.11	0.10
Arriba	E180Y	374	6655.19	5379.42	1.24	0.72	0.63
Neutro	E180R	371	6932.51	6309.81	1.10	0.75	0.74
Arriba	E180T	373	3718.16	2425.13	1.53	0.40	0.29
Arriba	E180F	377	7014.78	5382.78	1.30	0.76	0.63
Arriba	E180G	376	5952.65	4547.28	1.31	1.04	0.90
Arriba	E180S	375	5217.80	3977.60	1.31	0.91	0.78
Arriba	E180N	372	6534.65	4843.84	1.35	1.14	0.96
Arriba	E180D	370	7738.70	6277.22	1.23	1.35	1.24
Neutro	D181T	380	6867.00	6057.09	1.13	0.74	0.71
Arriba	D181L	382	1727.20	1274.09	1.36	0.19	0.15
Arriba	D181K	378	1087.36	696.83	1.56	0.12	0.08
Arriba	D181C	379	549.29	447.40	1.23	0.10	0.09
Arriba	D181G	381	2764.20	2056.56	1.34	0.48	0.41
Arriba	E182T	384	2995.97	1779.42	1.68	0.32	0.21
Arriba	E182Q	383	1393.28	804.84	1.73	0.15	0.09
Arriba	E182M	386	649.73	524.43	1.24	0.11	0.10
Neutro	E182G	385	604.92	543.78	1.11	0.11	0.11
Arriba	R183G	507	7326.36	6021.39	1.22	1.28	1.19
Arriba	R183S	506	7896.17	6240.74	1.27	1.38	1.23
Arriba	T185R	390	1728.04	851.07	2.03	0.20	0.10
Arriba	T185Y	392	937.75	540.66	1.73	0.11	0.07
Arriba	T185H	389	1448.04	783.89	1.85	0.17	0.10
Arriba	T185G	393	3922.30	1990.15	1.97	0.46	0.24
Arriba	T185V	394	1648.14	897.66	1.84	0.19	0.11
Arriba	T185Q	391	1594.81	583.93	2.73	0.19	0.07
Arriba	T185A	395	1599.64	711.08	2.25	0.19	0.09
Arriba	T185E	388	1324.02	703.76	1.88	0.16	0.09
Neutro	T185D	387	485.86	418.67	1.16	0.06	0.06
Arriba	N187R	398	1042.36	709.74	1.47	0.12	0.09
Arriba	N187M	402	1731.67	995.07	1.74	0.20	0.12
Neutro	N187W	403	1694.86	1425.68	1.19	0.20	0.17
Arriba	N187F	401	1240.41	731.98	1.69	0.15	0.09
Arriba	N187K	397	2331.93	1140.19	2.05	0.27	0.14
Arriba	N187I	404	1444.98	683.03	2.12	0.17	0.08
Arriba	N187A	405	4379.80	2616.49	1.67	0.52	0.32
Neutro	N187G	400	535.06	514.10	1.04	0.07	0.07
Neutro	N187C	399	1804.28	1860.67	0.97	0.23	0.25
Neutro	N187H	396	1143.07	1071.67	1.07	0.14	0.14
Arriba	F188V	508	7116.29	5860.00	1.21	1.24	1.16
Neutro	R189N	509	7842.39	6675.36	1.17	1.37	1.32
Neutro	R189T	511	7610.10	6459.94	1.18	1.33	1.27
Neutro	R189Q	510	7465.37	6396.79	1.17	1.30	1.26

Arriba	E190G	465	5313.99	4365.93	1.22	0.75	0.48
Arriba	E190Y	464	7243.54	5742.33	1.26	1.27	1.13
Arriba	E190D	463	7910.21	6468.78	1.22	1.38	1.28
Arriba	Y191V	466	1553.58	1254.11	1.24	0.19	0.14
Arriba	N192H	468	2274.24	1058.80	2.15	0.32	0.12
Arriba	N192S	470	2043.65	1630.74	1.25	0.29	0.18
Arriba	N192D	467	4213.33	2216.40	1.90	0.59	0.24
Arriba	N192C	469	1310.46	987.31	1.33	0.18	0.11
Neutro	H194P	471	5264.79	5058.19	1.04	0.74	0.56
Arriba	R195C	407	4231.32	1853.20	2.28	0.60	0.20
Neutro	R195W	410	5099.23	4524.84	1.13	0.72	0.50
Neutro	R195L	412	5073.57	4520.73	1.12	0.72	0.50
Arriba	R195G	409	5269.21	3025.93	1.74	0.74	0.33
Arriba	R195Q	408	1958.69	1361.83	1.44	0.28	0.15
Arriba	R195A	413	5605.90	3852.81	1.46	0.79	0.42
Arriba	R195D	406	2724.53	1907.81	1.43	0.38	0.21
Arriba	R195V	411	1711.48	1037.62	1.65	0.24	0.11
Arriba	A197C	512	4012.80	3140.52	1.28	0.70	0.62
Neutro	A198G	414	2610.82	2368.26	1.10	0.37	0.26
Arriba	A198L	416	1339.94	726.74	1.84	0.19	0.08
Arriba	A198M	415	1384.46	999.55	1.39	0.20	0.11
Arriba	G206A	418	4554.61	2702.11	1.69	0.47	0.30
Arriba	G206S	417	1226.37	919.66	1.33	0.13	0.10
Arriba	L207R	472	3476.88	1332.44	2.61	0.36	0.15
Neutro	L207V	475	656.95	550.54	1.19	0.08	0.07
Neutro	L207I	474	645.37	550.32	1.17	0.08	0.07
Arriba	L207G	473	610.01	484.35	1.26	0.08	0.06
Neutro	S208R	513	7639.06	6465.10	1.18	1.34	1.28
Arriba	S208L	514	7811.78	6354.14	1.23	1.37	1.25
Arriba	S210V	419	1190.35	856.63	1.39	0.29	0.17
Neutro	S210A	420	1682.05	1546.97	1.09	0.25	0.21
Neutro	T211L	515	2376.23	2102.07	1.13	0.35	0.28
Arriba	D212G	477	1011.62	657.28	1.54	0.24	0.13
Neutro	D212H	476	4696.49	4001.41	1.17	0.70	0.53
Arriba	Y218S	421	3702.49	3099.73	1.19	0.58	0.43
Arriba	F223C	424	3115.11	2488.91	1.25	0.53	0.35
Arriba	F223E	422	7194.34	5884.03	1.22	1.22	0.83
Arriba	F223G	426	3236.56	2599.04	1.25	0.55	0.36
Arriba	F223A	428	5226.86	3982.92	1.31	0.89	0.56
Arriba	F223S	425	6006.80	4916.07	1.22	1.02	0.69
Neutro	F223K	423	4021.97	3712.91	1.08	0.60	0.49
Neutro	F223M	427	525.66	441.29	1.19	0.08	0.06
Arriba	V227C	433	4040.96	3278.65	1.23	0.68	0.46
Arriba	V227D	429	1190.09	731.34	1.63	0.20	0.10
Arriba	V227E	430	5381.63	2605.20	2.07	0.91	0.37
Arriba	V227L	438	4883.98	4000.68	1.22	0.83	0.56
Arriba	V227S	435	3863.33	3131.47	1.23	0.65	0.44

Arriba	V227W	437	1845.46	1374.06	1.34	0.31	0.19
Neutro	V227G	436	1040.74	883.01	1.18	0.15	0.12
Arriba	V227H	431	689.20	504.65	1.37	0.10	0.07
Arriba	V227Q	434	696.97	506.11	1.38	0.10	0.07
Neutro	V227R	432	664.31	561.06	1.18	0.10	0.07
Arriba	Q228P	439	2862.74	1291.55	2.22	1.33	0.44
Arriba	L229A	442	2627.78	2118.07	1.24	1.22	0.72
Arriba	L229T	440	3780.54	1464.25	2.58	1.75	0.50
Arriba	L229I	441	1158.56	828.94	1.40	0.54	0.28
Arriba	A230V	478	5030.94	3433.18	1.47	2.33	1.17
Arriba	D233E	443	2881.17	1918.57	1.50	1.33	0.65
Arriba	I234A	447	1458.10	1018.50	1.43	0.31	0.18
Arriba	I234T	446	1451.51	1188.67	1.22	0.31	0.21
Arriba	I234E	444	1301.06	840.09	1.55	0.27	0.15
Arriba	I234Q	445	1095.18	837.53	1.31	0.23	0.15
Arriba	I237L	518	2880.14	2240.61	1.29	0.61	0.39
Abajo	I237W	517	4188.38	5663.94	0.74	0.62	0.75
Neutro	I237N	516	5368.49	6271.59	0.86	0.80	0.83
Arriba	I240S	449	2033.91	1204.66	1.69	0.32	0.15
Neutro	I240A	450	2099.13	1776.41	1.18	0.33	0.23
Arriba	I240C	448	970.78	650.04	1.49	0.15	0.08
Neutro	I251S	519	8445.88	7160.96	1.18	1.07	0.96
Neutro	I251W	520	7305.95	6974.26	1.05	0.92	0.93
Neutro	Q254S	521	7768.13	8801.19	0.88	1.15	1.17
Neutro	T255H	522	8243.01	7352.60	1.12	1.22	0.98
Neutro	P256C	523	4674.45	4633.67	1.01	0.69	0.62
Neutro	K257P	525	8039.60	7464.88	1.08	1.19	0.99
Neutro	K257T	524	9346.88	8849.42	1.06	1.39	1.18
Neutro	A258P	526	10414.06	9178.82	1.13	1.55	1.22

TABLA 23: HITs reconfirmados

Fenotipo de temperatura	Mutación hMMP-1	SEQ ID NO
Arriba	L95K	328
Abajo	E100V	457
Neutro	T103Y	458
Arriba	D105A	340
Arriba	D105F	336
Arriba	D105G	335
Arriba	D105I	338
Arriba	D105L	339
Arriba	D105N	332
Arriba	D105R	331
Arriba	D105S	334
Arriba	D105T	333

Arriba	D105W	337
Arriba	R150P	345
Arriba	D151G	346
Neutral	S153T	459
Arriba	F155L	347
Arriba	F155A	348
Arriba	D156H	349
Arriba	D156L	356
Arriba	D156A	357
Arriba	D156W	354
Arriba	D156V	355
Arriba	D156K	350
Arriba	D156T	352
Arriba	D156R	351
Arriba	G159V	363
Arriba	G159T	359
Arriba	G171P	462
Arriba	A176F	365
Arriba	D179N	368
Arriba	E180Y	374
Neutro	E180R	371
Arriba	E180T	373
Arriba	E180F	377
Neutro	D181T	380
Arriba	D181L	382
Arriba	D181K	378
Arriba	E182T	384
Arriba	E182Q	383
Arriba	T185R	390
Arriba	T185Y	392
Arriba	T185H	389
Arriba	T185G	393
Arriba	T185V	394
Arriba	T185Q	391
Arriba	T185A	395
Arriba	T185E	388
Arriba	N187R	398
Arriba	N187M	402
Neutro	N187W	403
Arriba	N187F	401
Arriba	N187K	397
Arriba	N187I	404
Arriba	N187A	405
Arriba	E190G	465
Arriba	Y191V	466
Arriba	N192H	468
Arriba	N192S	470

Arriba	N192D	467
Arriba	N192C	469
Neutro	H194P	471
Arriba	R195C	407
Neutro	R195W	410
Neutro	R195L	412
Arriba	R195G	409
Arriba	R195Q	408
Arriba	R195A	413
Arriba	R195D	406
Arriba	R195V	411
Neutro	A198G	414
Arriba	A198L	416
Arriba	A198M	415
Arriba	G206A	418
Arriba	G206S	417
Arriba	L207R	472
Arriba	S210V	419
Arriba	D212G	477
Arriba	Y218S	421
Arriba	F223C	424
Arriba	F223E	422
Arriba	F223G	426
Arriba	F223A	428
Arriba	F223S	425
Arriba	V227C	433
Arriba	V227D	429
Arriba	V227E	430
Arriba	V227L	438
Arriba	V227S	435
Arriba	V227W	437
Arriba	Q228P	439
Arriba	L229A	442
Arriba	L229T	440
Arriba	L229I	441
Arriba	A230V	478
Arriba	D233E	443
Arriba	I234A	447
Arriba	I234T	446
Arriba	I234E	444
Arriba	I234Q	445
Arriba	I237L	518
Arriba	I240S	449
Neutro	I240A	450
Arriba	I240C	448

B. Expresión de proteína 14-mL

En este ejemplo, los mutantes hMMP-1 que se identificaron como éxitos primarios sensibles a la temperatura en el Ejemplo 28A se expresaron en 14 ml de tubos de cultivos y su actividad enzimática se midió a 25°C, 34°C y 37°C durante 1 hora, 2 horas o durante la noche con objeto de verificar el fenotipo deseado de la actividad disminuida a temperaturas elevadas. La proteína se expresó y purificó como en el Ejemplo 27 con la excepción de que la expresión se realizó en tubos de 14 ml en vez de una placa de 96 pozos.

Cuatro (4) µl de cada sobrenadante mutante hMMP-1 se transfirió a una microplaca de 96 pozos. Los sobrenadantes se activaron con APMA como se describe en el Ejemplo 28A arriba, excepto que la solución se incubó a la temperatura de reacción de 25°C, 34°C, o 37°C durante 2 horas. Como arriba, después de la activación, 100 µl de TCNB que contiene 10 µM de sustrato fluorescente Mca-K-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH_2 se agregó a cada tubo en la temperatura de reacción indicada (25°C, 34°C o 37°C) durante una hora. El hMMP-1 de tipo natural se usó como un control positivo y el sobrenadante de células transformadas con el vector se usó como un control negativo. La fluorescencia se detectó al medir la fluorescencia en un lector de placa fluorescente en excitación 320 nm/emisión 405 nm. Las unidades de fluorescencia relativas (RFU) se determinaron. Las reacciones duplicadas se realizaron

para cada muestra, temperatura de reacción, y control positivo y negativo. Los datos se muestran en la Tabla 24A (1 hora de incubación); Tabla 24B (2 horas de incubaciones) y Tabla 24C (durante la noche incubación), a continuación. Los mutantes que fueron activos a 25°C pero demuestran al menos una actividad disminuida al 33% a 34°C o 37°C (esto es tienen una relación de actividad a 25°C y 34°C o una relación de actividad de 25°C y 37°C igual a o mayor que 1.5 bajo cualquiera de las condiciones de punto de tiempo probadas se identificaron como éxitos sensibles a la temperatura. Las Tablas 24A-24C, a continuación, enlistan la mutación hMMP-1, la RFU a 25°C, 34°C y 37°C, y la relación de las actividades (en tanto 25°C/34°C y 25°C/37°C) de 64 mutantes hMMP-1 cuya actividad enzimática disminuida a temperaturas elevadas se confirmaron. Algunos de los mutantes hMMP-1, fueron perceptibles más activos a 25°C que a una temperatura elevada. Por ejemplo, el mutante hMMP-1 D179N (SEQ ID NO: 368) fue 87.5% más activo a 25°C que a 37°C después de una incubación durante la noche (ver por ejemplo Tabla 24C). Adicionalmente, aunque los niveles de expresión, y por lo tanto valores RFU generales, varían en experimentos diferentes, las relaciones de las actividades siguen siendo las mismas. Por ejemplo, el D156T mutante se probó dos veces (ver Tabla 24C a continuación) y aunque cada prueba da valores RFU de datos diferentes la relación de los valores fueron similares y

consistentemente dentro del parámetro de la relación 1.5.

Tabla 24A. Mutantes hMMP-1 sensibles a la temperatura, 1 hora de incubación

Mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 37 °C	Relación 25°C/ 34°C	Relación 25°C/ 37°C
L95K	328	2677.64	553.00	572.70	4.84	4.68
D105A	340	3496.48	697.79	1119.92	5.01	3.12
D105F	336	1749.85	554.69	685.49	3.15	2.55
D105G	335	7450.35	2196.32	3514.50	3.39	2.12
D105I	338	4720.96	638.42	943.44	7.39	5.00
D105L	339	2636.80	490.04	552.90	5.38	4.77
D105N	332	7487.95	776.33	1513.73	9.65	4.95
D105R	331	1732.70	641.23	736.92	2.70	2.35
D105S	334	8637.40	3782.36	6510.05	2.28	1.33
D105W	337	4263.51	1321.69	2422.77	3.23	1.76
D105T	333	2666.45	770.72	1685.33	3.46	1.58
R150P	345	7568.19	1678.59	2010.33	4.51	3.76
D151G	346	973.47	517.98	595.63	1.88	1.63
F155A	348	1800.92	592.07	596.31	3.04	3.02
D156K	350	8718.91	1733.90	1839.60	5.03	4.74
D156T	352	8034.06	2216.02	2255.25	3.63	3.56
D156L	356	1825.01	528.43	619.10	3.45	2.95
D156A	357	1495.21	450.17	496.04	3.32	3.01
D156W	354	1006.97	463.48	493.84	2.17	2.04
D156V	355	1140.60	484.30	504.38	2.36	2.26
D156T	352	2796.00	581.90	743.53	4.80	3.76
D156H	349	3489.60	578.59	711.59	6.03	4.90
D156R	351	4983.67	678.23	734.95	7.35	6.78
G159V	363	3416.77	705.80	739.87	4.84	4.62
G159T	359	4081.99	1732.63	1865.15	2.36	2.19
A176F	365	967.31	539.31	517.16	1.79	1.87
D179N	368	4105.85	492.00	513.37	8.35	8.00
E180Y	374	8803.90	3904.31	5268.18	2.25	1.67
E180T	373	5957.38	1155.89	1430.72	5.15	4.16
E180F	377	7484.41	2677.89	3141.69	2.79	2.38
D181L	382	1629.22	559.04	549.09	2.91	2.97
D181K	378	844.40	570.98	569.44	1.48	1.48
E182T	384	2244.96	653.93	668.01	3.43	3.36
E182Q	383	1066.68	583.87	582.84	1.83	1.83
T185R	390	1599.19	867.00	872.66	1.84	1.83
T185H	389	3616.30	1601.20	1842.01	2.26	1.96
T185Q	391	4365.21	1512.02	1899.46	2.89	2.30
T185A	395	1374.00	567.04	608.05	2.42	2.26
T185E	388	2145.28	1263.20	1399.76	1.70	1.53
N187R	398	1659.90	955.75	1054.91	1.74	1.57

N187M	402	2842.50	1343.95	1464.36	2.12	1.94
N187F	401	1846.10	716.62	786.07	2.58	2.35
N187K	397	2428.31	1703.73	1914.84	1.43	1.27
N187I	404	2455.44	717.51	773.59	3.42	3.17
R195V	411	3121.02	1947.80	2132.94	1.60	1.46
A198L	416	4547.61	1570.19	2061.87	2.90	2.21
A198M	415	1948.92	1101.86	1535.22	1.77	1.27
G206A	418	667.50	543.90	540.79	1.23	1.23
G206S	417	608.46	427.44	412.07	1.42	1.48
S210V	419	1952.12	961.54	1791.55	2.03	1.09
Y218S	421	1674.47	1531.03	1573.00	1.09	1.06
F223E	422	5837.16	2747.99	4955.08	2.12	1.18
V227C	433	1138.96	684.05	722.68	1.67	1.58
V227E	430	5892.76	653.81	803.12	9.01	7.34
V227W	437	716.50	607.92	646.75	1.18	1.11
Q228P	439	676.11	488.99	495.88	1.38	1.36
L229T	440	768.59	492.66	491.49	1.56	1.56
L229I	441	1470.04	753.87	1231.17	1.95	1.19
D233E	443	1195.07	959.25	1056.45	1.25	1.13
I234A	447	1402.15	1014.61	1127.63	1.38	1.24
I234T	446	857.79	644.52	712.49	1.33	1.20
I234E	444	2281.82	591.10	762.52	3.86	2.99
I240S	449	2678.36	776.88	1314.40	3.45	2.04
I240C	448	1540.91	474.82	666.63	3.25	2.31

Tabla 24B. Mutantes hMMP-1 sensibles a la temperatura, 2 horas de incubación

Mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 37 °C	Relación 25°C/ 34°C	Relación 25°C/ 37°C
L95K	328	4650.42	748.29	746.89	6.21	6.23
D105A	340	5669.31	824.07	1336.14	6.88	4.24
D105F	336	2980.00	623.89	818.63	4.78	3.64
D105G	335	8821.81	2759.24	4313.40	3.20	2.05
D105I	338	6832.34	780.32	1110.07	8.76	6.15
D105L	339	4206.38	534.24	607.46	7.87	6.92
D105N	332	8920.05	918.13	1727.44	9.72	5.16
D105R	331	2821.20	722.46	813.68	3.90	3.47
D105S	334	9355.63	4607.18	7274.97	2.03	1.29
D105W	337	6663.80	1690.93	3081.59	3.94	2.16
D105T	333	4457.16	974.63	2220.03	4.57	2.01
R150P	345	8750.30	2315.11	2497.86	3.78	3.50
D151G	346	1264.62	589.27	616.51	2.15	2.05
F155A	348	2824.01	779.72	746.59	3.62	3.78
D156K	350	8576.47	2210.63	2310.30	3.88	3.71
D156T	352	8727.27	2679.17	2752.35	3.26	3.17
D156L	356	2916.24	576.84	688.08	5.06	4.24

D156A	357	2299.63	533.68	554.21	4.31	4.15
D156W	354	1502.86	539.74	575.12	2.78	2.61
D156V	355	1593.06	534.71	542.36	2.98	2.94
D156T	352	4469.68	690.87	848.14	6.47	5.27
D156H	349	5387.79	698.77	819.82	7.71	6.57
D156R	351	7020.81	793.83	872.40	8.84	8.05
G159V	363	4673.44	856.78	838.46	5.45	5.57
G159T	359	6704.95	2294.40	2347.74	2.92	2.86
A176F	365	1609.85	654.43	618.72	2.46	2.60
D179N	368	5660.69	644.51	656.31	8.78	8.63
E180Y	374	8557.09	4979.24	6079.36	1.72	1.41
E180T	373	7870.99	1532.35	1794.15	5.14	4.39
E180F	377	8508.13	3597.75	3975.22	2.36	2.14
D181L	382	2710.97	619.39	611.92	4.38	4.43
D181K	378	1130.63	625.01	608.68	1.81	1.86
E182T	384	3702.08	791.23	826.28	4.68	4.48
E182Q	383	1331.50	639.84	623.11	2.08	2.14
T185R	390	2637.31	1187.63	1183.37	2.22	2.23
T185H	389	5593.77	2278.26	2534.15	2.46	2.21
T185Q	391	7006.87	2250.58	2642.74	3.11	2.65
T185A	395	2474.96	663.82	707.09	3.73	3.50
T185E	388	3948.43	2088.15	2091.32	1.89	1.89
N187R	398	3006.08	1352.97	1421.87	2.22	2.11
N187M	402	4934.44	1811.35	1893.07	2.72	2.61
N187F	401	3227.96	877.21	931.04	3.68	3.47
N187K	397	4182.49	2425.34	2652.79	1.72	1.58
N187I	404	4218.55	849.11	887.80	4.97	4.75
R195V	411	4847.81	2724.92	2984.10	1.78	1.62
A198L	416	6756.76	2056.50	2642.76	3.29	2.56
A198M	415	3777.50	1708.61	2155.58	2.21	1.75
G206A	418	872.27	603.01	586.57	1.45	1.49
G206S	417	932.69	492.65	463.60	1.89	2.01
S210V	419	3349.95	1249.47	2314.86	2.68	1.45
Y218S	421	2878.50	2373.98	2350.27	1.21	1.22
F223E	422	8318.70	3685.68	6209.93	2.26	1.34
V227C	433	1998.67	950.01	992.19	2.10	2.01
V227E	430	7904.54	839.00	1015.12	9.42	7.79
V227W	437	996.55	729.20	787.87	1.37	1.26
Q228P	439	1082.56	607.78	586.63	1.78	1.85
L229T	440	1221.05	580.15	564.49	2.10	2.16
L229I	441	2790.27	1050.86	1803.44	2.66	1.55
D233E	443	2195.02	1393.95	1454.71	1.57	1.51
I234A	447	2375.42	1473.70	1594.08	1.61	1.49
I234T	446	1199.18	713.83	796.81	1.68	1.50
I234E	444	3920.02	705.86	923.57	5.55	4.24
I240S	449	3867.71	973.97	1575.05	3.97	2.46
I240C	448	2688.75	561.91	853.66	4.78	3.15

Tabla 24C. Mutantes hMMP-1 sensibles a la temperatura, durante la noche de incubación

Mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 37 °C	Relación 25°C/ 34°C	Relación 25°C/ 37°C
L95K	328	7744.34	1803.12	1677.96	4.29	4.62
D105A	340	8466.62	1302.84	1931.17	6.50	4.38
D105F	336	6725.59	938.60	1173.23	7.17	5.73
D105G	335	8940.06	3560.75	5390.32	2.51	1.66
D105I	338	8394.32	1614.57	1958.96	5.20	4.29
D105L	339	6546.78	957.95	1070.51	6.83	6.12
D105N	332	9119.04	1459.16	2347.74	6.25	3.88
D105R	331	5775.25	1407.06	1499.57	4.10	3.85
D105S	334	9300.85	5584.70	8234.95	1.67	1.13
D105W	337	8617.36	2851.22	4593.06	3.02	1.88
D105T	333	7910.47	1899.25	3292.01	4.17	2.40
R150P	345	9011.11	3533.16	3559.66	2.55	2.53
D151G	346	1956.65	959.80	1097.68	2.04	1.78
F155A	348	4891.89	2016.76	1843.31	2.43	2.65
D156K	350	8696.27	3968.92	3858.90	2.19	2.25
D156T	352	8972.20	3971.43	3854.84	2.26	2.33
D156L	356	5254.55	972.64	1232.94	5.40	4.26
D156A	357	3585.37	1098.25	1110.73	3.26	3.23
D156W	354	2570.24	1091.27	1206.22	2.36	2.13
D156V	355	2208.99	954.21	997.64	2.31	2.21
D156T	352	7229.28	1256.02	1540.11	5.76	4.69
D156H	349	7587.19	1451.49	1763.27	5.23	4.30
D156R	351	8622.23	1735.02	1846.71	4.97	4.67
G159V	363	6555.27	1821.53	1683.20	3.60	3.89
G159T	359	9105.95	3210.57	3160.07	2.84	2.88
A176F	365	4191.69	1414.21	1336.32	2.96	3.14
D179N	368	7317.57	1504.84	1485.28	4.86	4.93
E180Y	374	9281.77	6080.89	6894.61	1.53	1.35
E180T	373	8475.04	2585.89	2809.15	3.28	3.02
E180F	377	9360.74	5183.25	5335.15	1.81	1.75
D181L	382	4534.34	1078.98	1000.80	4.20	4.53
D181K	378	1869.47	946.27	928.55	1.98	2.01
E182T	384	6752.25	1483.52	1496.55	4.55	4.51
E182Q	383	2212.75	1065.07	1035.24	2.08	2.14
T185R	390	6281.97	2425.71	2300.61	2.59	2.73
T185H	389	8531.85	3164.69	3515.59	2.70	2.43
T185Q	391	9044.23	3639.00	4012.93	2.49	2.25
T185A	395	6156.97	1110.68	1059.61	5.54	5.81
T185E	388	8479.18	3868.06	3892.33	2.19	2.18
N187R	398	7593.11	2415.63	2370.01	3.14	3.20

N187M	402	8605.76	2769.52	2720.28	3.11	3.16
N187F	401	7352.85	1612.23	1704.23	4.56	4.31
N187K	397	8667.36	3458.94	3709.62	2.51	2.34
N187I	404	8306.40	1459.25	1465.77	5.69	5.67
R195V	411	8634.05	4648.03	4960.91	1.86	1.74
A198L	416	8795.36	3469.36	4181.78	2.54	2.10
A198M	415	8352.73	3215.69	3637.79	2.60	2.30
G206A	418	2492.53	1038.14	974.96	2.40	2.56
G206S	417	2845.84	908.82	808.42	3.13	3.52
S210V	419	7104.17	2441.96	3939.90	2.91	1.80
Y218S	421	7740.61	4057.37	4093.29	1.91	1.89
F223E	422	9650.44	4849.58	7645.34	1.99	1.26
V227C	433	5833.84	2207.20	2432.82	2.64	2.40
V227E	430	8630.90	2283.07	2152.81	3.78	4.01
V227W	437	3070.92	1370.13	1456.45	2.24	2.11
Q228P	439	3673.33	1162.95	1081.32	3.16	3.40
L229T	440	3543.75	1103.34	1030.05	3.21	3.44
L229I	441	7333.92	1832.18	3268.93	4.00	2.24
D233E	443	6694.93	2570.71	2661.43	2.60	2.52
I234A	447	6250.56	3890.90	4043.80	1.61	1.55
I234T	446	3507.08	1099.58	1228.23	3.19	2.86
I234E	444	7541.73	1365.08	1901.96	5.52	3.97
I240S	449	4376.99	2108.15	2592.19	2.08	1.69
I240C	448	6170.51	1174.96	2223.23	5.25	2.78

La Tabla 25 a continuación describe la actividad residual (la relación de mutante hMMP-1 RFU/p hMMP-1 RFU) de los mutantes hMMP-1 seguidos de incubación durante la noche con el péptido fluorescente. La actividad de mutantes a 25°C, 34°C, o 37°C se compararon con la actividad de hMMP-1 de tipo natural en las temperaturas respectivas. A 25°C, cinco mutantes hMMP-1 (E180F, E180Y, D156T, D156K, R150P) fueron más activos que hMMP-1 de tipo natural como se indica por una actividad residual >1. A temperaturas elevadas, todos de los mutantes hMMP-1 muestran una disminución general en la actividad cuando se comparan con hMMP-1 de tipo natural a la misma temperatura, de esta manera confirman el fenotipo de los mutantes hMMP-1 como mutantes sensibles a la temperatura.

Tabla 25. Actividad Residual de Mutantes Sensibles a la Temperatura hMMP-1 durante la noche de incubación

Mutación hMMP-1	SEQ ID NO	Actividad residual 25 °C	Actividad residual 34 °C	Actividad residual 37 °C
L95K	328	0.80	0.20	0.20
D105A	340	0.93	0.15	0.22
D105F	336	0.74	0.11	0.13
D105G	335	0.99	0.42	0.60
D105I	338	0.93	0.19	0.22
D105L	339	0.72	0.11	0.12
D105N	332	1.01	0.17	0.26
D105R	331	0.64	0.16	0.17
D105S	334	1.03	0.65	0.92
D105W	337	0.95	0.33	0.51
D105T	333	0.87	0.22	0.37
R150P	345	0.99	0.41	0.44
D151G	346	0.22	0.11	0.12
F155A	348	0.51	0.22	0.22
D156K	350	0.97	0.46	0.46
D156T	352	1.00	0.46	0.46
D156L	356	0.58	0.11	0.14
D156A	357	0.40	0.13	0.12
D156W	354	0.28	0.13	0.14
D156V	355	0.24	0.11	0.11
D156T	352	0.80	0.15	0.17
D156H	349	0.84	0.17	0.20
D156R	351	0.95	0.20	0.21
G159V	363	0.73	0.21	0.20
G159T	359	1.00	0.37	0.39
A176F	365	0.43	0.16	0.16
D179N	368	0.81	0.17	0.18
E180Y	374	1.02	0.70	0.85
E180T	373	0.93	0.30	0.35
E180F	377	1.03	0.60	0.66
D181L	382	0.50	0.12	0.12
D181K	378	0.21	0.11	0.11
E182T	384	0.74	0.17	0.18
E182Q	383	0.24	0.12	0.13
T185R	390	0.69	0.28	0.28
T185H	389	0.94	0.37	0.43
T185Q	391	1.00	0.42	0.49
T185A	395	0.68	0.13	0.13
T185E	388	0.93	0.45	0.48
N187R	398	0.84	0.28	0.29
N187M	402	0.95	0.32	0.33
N187F	401	0.81	0.19	0.21
N187K	397	0.95	0.40	0.46
N187I	404	0.92	0.17	0.18
R195V	411	0.96	0.54	0.59
A198L	416	0.98	0.40	0.49
A198M	415	0.87	0.36	0.42
G206A	418	0.27	0.12	0.12
G206S	417	0.31	0.10	0.10
S210V	419	0.78	0.29	0.44

Y218S	421	0.85	0.47	0.50
F223E	422	1.07	0.57	0.86
V227C	433	0.64	0.26	0.27
V227E	430	0.95	0.27	0.24
V227W	437	0.34	0.16	0.16
Q228P	439	0.38	0.13	0.13
L229T	440	0.37	0.12	0.12
L229I	441	0.76	0.20	0.38
D233E	443	0.69	0.28	0.31
I234A	447	0.69	0.45	0.45
I234T	446	0.39	0.13	0.14
I234E	444	0.83	0.16	0.21
I240S	449	0.48	0.25	0.29
I240C	448	0.68	0.14	0.25

C. Aciertos de Mutante Superior hMMP-1

Catorce (14) posiciones se identificaron en las posiciones de aciertos superiores: 95, 105, 150, 156, 159, 179, 180, 182, 185, 187, 198, 227, 234 y 240. Veintitrés (23) mutantes hMMP-1 en 14 posiciones se seleccionaron como aciertos superiores con base en dos criterios, incluyendo: 1) la relación de las actividades (25°C hasta 37°C y 25°C hasta 34°C); y 2) la actividad (en RFU). Todos de los mutantes enlistados en la Tabla 26 a continuación tienen una actividad mayor que 2000 y una relación de 25°C hasta 37°C mayor que 2. Los once Aciertos identificados como un ** son los Aciertos que están en el intervalo alto para tanto la relación o actividades y el nivel de actividad, y se usaron para desarrollar una colección combinatoria como se describe en el Ejemplo 29.

Tabla 26: Aciertos superiores			
L95K**	D105I	D105N**	D105L
D105A	D105G	R150P**	D156R
D156H	D156K**	D156T**	G159V**
G159T	D179N**	E180T**	E180F
E182T	T185Q	N187I	A198L**
V227E**	I234E	I240S**	

Ejemplo 29

Colección Variante hMMP-1 Combinatoria

En este ejemplo, una colección variante hMMP-1 combinatoria se generó de los mutantes seleccionados en el Ejemplo 28C y mostrados en la Tabla 26 con un asterisco doble. (**). Los mutantes en las posiciones 182, 185 y 187 se excluyeron en la generación de la colección combinatoria debido a la importancia de estas posiciones para la actividad catalítica hMMP-1. La colección contiene cada combinación posible de variantes de aminoácido para cada uno de los mutantes seleccionados. La Tabla 27 describe todas las combinaciones de mutante contenidas en la colección. Las posiciones indicadas están con respecto a las posiciones correspondientes para los residuos de aminoácidos de hMMP-1 establecidos en la SEQ ID NO: 327. Cada fila y columna indican un polipéptido que contiene las mutaciones anotadas. Por ejemplo, 156K 179N 227E, se refiere a un polipéptido que contiene tres reemplazos de

aminoácido en las posiciones correspondientes a las posiciones establecidas en la SEQ ID NO: 327: D por K en la posición 156, D por N en la posición 179 y V por E en la posición 227. La colección se generó y expresó como se describe en el Ejemplo 27.

Tabla 27. Mutantes de Colección combinatoria

95K	150P 156T	156K 179N 227E	150P 156T 240S
105N	105N 240S	156K 179N 198L	150P 156T 227E
150P	105N 227E	156K 179N 180T	150P 156T 198L
156K	105N 198L	156K 159V 240S	150P 156T 180T
156T	105N 180T	156K 159V 227E	150P 156T 179N
159V	105N 179N	156K 159V 198L	150P 156T 159V
179N	105N 159V	156K 159V 180T	105N 227E 240S
180T	105N 156K	156K 159V 179N	105N 198L 240S
198L	105N 156T	156T 227E 240S	105N 198L 227E
227E	105N 150P	156T 198L 240S	105N 180T 240S
240S	95K 240S	156T 198L 227E	105N 180T 227E
227E 240S	95K 227E	156T 180T 240S	105N 180T 198L
198L 240S	95K 198L	156T 180T 227E	105N 179N 240S
198L 227E	95K 180T	156T 180T 198L	105N 179N 227E
180T 240S	95K 179N	156T 179N 240S	105N 179N 198L
180T 227E	95K 159V	156T 179N 227E	105N 179N 180T
180T 198L	95K 156T	156T 179N 198L	105N 159V 240S
179N 240S	95K 150P	156T 179N 180T	105N 159V 227E
179N 227E	95K 105N	156T 159V 240S	105N 159V 198L
179N 198L	95K 156K	156T 159V 227E	105N 159V 180T
179N 180T	180T 227E 240S	156T 159V 198L	105N 159V 179N
159V 240S	180T 198L 240S	156T 159V 180T	105N 156K 240S
159V 227E	180T 198L 227E	156T 159V 179N	105N 156K 227E
159V 198L	179N 227E 240S	150P 227E 240S	105N 156K 198L
159V 180T	179N 198L 240S	198L 227E 240S	105N 156K 180T
159V 179N	179N 198L 227E	150P 198L 240S	105N 156K 179N
156K 240S	179N 180T 240S	150P 198L 227E	105N 156K 159V
156K 227E	179N 180T 227E	150P 180T 240S	105N 156T 240S
156K 198L	179N 180T 198L	150P 180T 227E	105N 156T 227E

156K 180T	159V 227E 240S	150P 180T 198L	105N 156T 198L
156K 179N	159V 198L 240S	150P 179N 240S	105N 156T 180T
156K 159V	159V 198L 227E	150P 179N 227E	105N 156T 179N
156T 240S	159V 180T 240S	150P 179N 198L	105N 156T 159V
156T 227E	159V 180T 227E	150P 179N 180T	105N 150P 240S
156T 198L	159V 180T 198L	150P 159V 240S	105N 150P 227E
156T 180T	159V 179N 240S	150P 159V 227E	105N 150P 198L
156T 179N	159V 179N 227E	150P 159V 198L	105N 150P 180T
156T 159V	159V 179N 198L	150P 159V 180T	105N 150P 179N
150P 240S	159V 179N 180T	150P 159V 179N	105N 150P 159V
150P 227E	156K 227E 240S	150P 156K 240S	105N 150P 156K
150P 198L	156K 198L 240S	150P 156K 227E	105N 150P 156T
150P 180T	156K 198L 227E	150P 156K 198L	95K 227E 240S
150P 179N	156K 180T 240S	150P 156K 180T	95K 198L 240S
150P 156K	156K 180T 227E	156K 180T 198L	150P 156K 179N
150P 159V	156K 179N 240S	150P 156K 159V	95K 180T 240S

95K 180T 227E	179N 180T 198L 240S	156T 159V 180T 198L
95K 180T 198L	179N 180T 198L 227E	156T 159V 179N 240S
95K 179N 240S	159V 198L 227E 240S	156T 159V 179N 227E
95K 179N 227E	159V 180T 227E 240S	156T 159V 179N 198L
95K 179N 198L	159V 180T 198L 240S	156T 159V 179N 180T
95K 179N 180T	159V 180T 198L 227E	150P 198L 227E 240S
95K 159V 240S	159V 179N 227E 240S	150P 180T 227E 240S
95K 159V 227E	159V 179N 198L 240S	150P 180T 198L 240S
95K 159V 198L	159V 179N 198L 227E	150P 180T 198L 227E
95K 159V 180T	159V 179N 180T 240S	150P 179N 227E 240S
95K 159V 179N	159V 179N 180T 227E	150P 179N 198L 240S
95K 156K 240S	159V 179N 180T 198L	150P 179N 198L 227E
95K 156K 227E	156K 198L 227E 240S	150P 179N 180T 240S
95K 156K 198L	156K 180T 227E 240S	150P 179N 180T 227E
95K 156K 180T	156K 180T 198L 240S	150P 179N 180T 198L
95K 156K 179N	156K 180T 198L 227E	150P 159V 227E 240S
95K 156K 159V	156K 179N 227E 240S	150P 159V 198L 240S
95K 198L 227E	156K 179N 198L 240S	150P 159V 198L 227E
95K 156T 240S	156K 179N 198L 227E	150P 159V 180T 240S
95K 156T 227E	156K 179N 180T 240S	150P 159V 180T 227E
95K 156T 198L	156K 179N 180T 227E	150P 159V 180T 198L
95K 156T 180T	156K 179N 180T 198L	150P 159V 179N 240S
95K 156T 179N	156K 159V 227E 240S	150P 159V 179N 227E
95K 156T 159V	156K 159V 198L 240S	150P 159V 179N 198L
95K 150P 240S	156K 159V 198L 227E	150P 159V 179N 180T
95K 150P 227E	156K 159V 180T 240S	150P 156K 227E 240S
95K 150P 198L	156K 159V 180T 227E	150P 156K 198L 240S
95K 150P 180T	156K 159V 180T 198L	150P 156K 198L 227E
95K 150P 179N	156K 159V 179N 240S	150P 156K 180T 240S
95K 150P 159V	156K 159V 179N 227E	150P 156K 180T 227E
95K 150P 156K	156K 159V 179N 198L	150P 156K 180T 198L

95K 150P 156T	156K 159V 179N 180T	150P 156K 179N 240S
95K 105N 240S	156T 198L 227E 240S	150P 156K 179N 227E
95K 105N 227E	156T 180T 227E 240S	150P 156K 179N 198L
95K 105N 198L	156T 180T 198L 240S	150P 156K 179N 180T
95K 105N 180T	156T 180T 198L 227E	150P 156K 159V 240S
95K 105N 179N	156T 179N 227E 240S	150P 156K 159V 227E
95K 105N 159V	156T 179N 198L 240S	156T 179N 180T 240S
95K 105N 156K	156T 179N 198L 227E	156T 179N 180T 227E
95K 105N 156T	156T 159V 227E 240S	156T 179N 180T 198L
95K 105N 150P	156T 159V 198L 240S	150P 156T 227E 240S
180T 198L 227E 240S	156T 159V 198L 227E	150P 156T 198L 240S
179N 198L 227E 240S	156T 159V 180T 240S	150P 156T 198L 227E
179N 180T 227E 240S	156T 159V 180T 227E	150P 156T 180T 240S
150P 156T 180T 227E	105N 156T 198L 240S	95K 180T 198L 227E
150P 156T 180T 198L	105N 156T 180T 227E	95K 179N 180T 227E
150P 156T 179N 240S	105N 156T 180T 198L	95K 179N 180T 198L
150P 156T 179N 227E	105N 156T 179N 240S	95K 159V 227E 240S
150P 156T 179N 198L	105N 156T 179N 227E	95K 159V 198L 240S
150P 156T 179N 180T	105N 156T 179N 198L	95K 159V 198L 227E
150P 156T 159V 240S	105N 156T 179N 180T	95K 159V 180T 240S
150P 156T 159V 227E	105N 156T 159V 240S	95K 159V 180T 227E
150P 156T 159V 198L	105N 156T 159V 227E	95K 159V 180T 198L
150P 156T 159V 180T	105N 156T 159V 198L	95K 159V 179N 240S
150P 156T 159V 179N	105N 156T 159V 180T	95K 159V 179N 227E
105N 198L 227E 240S	105N 156T 159V 179N	95K 159V 179N 198L
105N 180T 227E 240S	105N 150P 227E 240S	95K 159V 179N 180T
105N 180T 198L 240S	105N 150P 198L 240S	95K 156K 227E 240S
105N 180T 198L 227E	105N 150P 198L 227E	95K 156K 198L 240S
105N 179N 227E 240S	105N 150P 180T 240S	95K 156K 198L 227E
105N 179N 198L 240S	105N 150P 180T 227E	95K 156K 180T 240S
105N 179N 198L 227E	105N 150P 180T 198L	95K 156K 180T 227E
105N 179N 180T 240S	105N 150P 179N 240S	95K 156K 180T 198L
105N 179N 180T 227E	105N 150P 179N 227E	95K 156K 179N 240S
105N 179N 180T 198L	105N 150P 179N 198L	95K 156K 179N 227E
105N 159V 227E 240S	105N 150P 179N 180T	95K 156K 179N 198L
105N 159V 198L 240S	105N 150P 159V 240S	95K 156K 179N 180T
105N 159V 198L 227E	105N 150P 159V 227E	95K 156K 159V 240S
105N 159V 180T 240S	105N 150P 159V 198L	95K 156K 159V 227E
105N 159V 180T 227E	105N 150P 159V 180T	95K 156K 159V 198L
105N 159V 180T 198L	105N 150P 159V 179N	95K 156K 159V 180T
105N 159V 179N 240S	105N 150P 156K 240S	95K 156K 159V 179N
105N 159V 179N 227E	105N 150P 156K 227E	95K 156T 227E 240S
105N 159V 179N 198L	105N 150P 156K 198L	95K 156T 198L 240S
105N 159V 179N 180T	105N 150P 156K 180T	95K 156T 198L 227E
105N 156K 227E 240S	105N 156K 180T 227E	95K 156T 180T 240S
105N 156K 198L 240S	105N 156K 180T 198L	105N 150P 156K 179N
105N 156K 198L 227E	105N 156K 179N 240S	105N 150P 156K 159V

105N 156K 180T 240S	105N 156K 179N 227E	105N 150P 156T 240S
150P 156K 159V 198L	105N 156K 179N 198L	105N 150P 156T 227E
150P 156K 159V 180T	105N 156K 179N 180T	105N 150P 156T 198L
150P 156K 159V 179N	105N 150P 156T 179N	105N 150P 156T 180T
105N 156K 159V 240S	105N 150P 156T 159V	95K 156T 179N 198L
105N 156K 159V 227E	95K 198L 227E 240S	95K 156T 179N 180T
105N 156K 159V 198L	95K 180T 227E 240S	95K 156T 159V 240S
105N 156K 159V 180T	95K 180T 198L 240S	95K 156T 159V 227E
105N 156K 159V 179N	95K 179N 227E 240S	95K 156T 159V 198L
105N 156T 227E 240S	95K 179N 198L 240S	95K 156T 159V 180T
105N 156T 198L 227E	95K 179N 198L 227E	95K 156T 159V 179N
105N 156T 180T 240S	95K 179N 180T 240S	95K 150P 227E 240S

95K 150P 198L 240S	95K 105N 156K 179N
95K 150P 198L 227E	95K 105N 156K 159V
95K 150P 180T 240S	95K 105N 156T 240S
95K 150P 180T 227E	95K 105N 156T 227E
95K 150P 180T 198L	95K 105N 156T 198L
95K 150P 179N 240S	95K 105N 156T 180T
95K 150P 179N 227E	95K 105N 156T 179N
95K 150P 179N 198L	95K 105N 156T 159V
95K 150P 179N 180T	95K 105N 150P 240S
95K 150P 159V 240S	95K 105N 150P 227E
95K 150P 159V 227E	95K 105N 150P 198L
95K 150P 159V 198L	95K 105N 150P 180T
95K 150P 159V 180T	95K 105N 150P 179N
95K 150P 159V 179N	95K 105N 150P 159V
95K 150P 156K 240S	95K 105N 150P 156K
95K 150P 156K 227E	95K 105N 150P 156T
95K 150P 156K 198L	95K 105N 179N 227E
95K 150P 156K 180T	95K 105N 179N 198L
95K 150P 156K 179N	95K 105N 179N 180T
95K 150P 156K 159V	95K 105N 159V 240S
95K 150P 156T 240S	156K 159V 179N 198L 227E
95K 150P 156T 227E	179N 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156T 198L	159V 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156T 180T	159V 179N 198L 227E 240S
95K 150P 156T 179N	159V 179N 180T 227E 240S
95K 150P 156T 159V	159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 227E 240S	159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 198L 240S	156K 180T 198L 227E 240S
95K 105N 198L 227E	156K 179N 198L 227E 240S
95K 105N 180T 240S	156K 179N 180T 227E 240S
95K 105N 180T 227E	156K 179N 180T 198L 240S
95K 105N 180T 198L	156K 179N 180T 198L 227E
95K 105N 179N 240S	156K 159V 198L 227E 240S
95K 156T 180T 227E	156K 159V 180T 227E 240S
95K 156T 180T 198L	156K 159V 180T 198L 240S

95K 156T 179N 240S	156K 159V 180T 198L 227E
95K 156T 179N 227E	156K 159V 179N 227E 240S
95K 105N 159V 227E	156K 159V 179N 198L 240S
95K 105N 159V 198L	150P 156K 159V 198L 227E
95K 105N 159V 180T	156K 159V 179N 180T 240S
95K 105N 159V 179N	156K 159V 179N 180T 227E
95K 105N 156K 240S	156K 159V 179N 180T 198L
95K 105N 156K 227E	156T 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 198L	156T 179N 198L 227E 240S
95K 105N 156K 180T	156T 179N 180T 227E 240S
156T 179N 180T 198L 240S	150P 156K 159V 179N 180T
156T 179N 180T 198L 227E	150P 156T 198L 227E 240S
156T 159V 198L 227E 240S	150P 156T 180T 227E 240S
156T 159V 180T 227E 240S	150P 156T 180T 198L 240S
156T 159V 180T 198L 240S	150P 156T 180T 198L 227E
156T 159V 180T 198L 227E	150P 156T 179N 227E 240S
156T 159V 179N 227E 240S	150P 156T 179N 198L 240S
156T 159V 179N 198L 240S	150P 156T 179N 198L 227E
156T 159V 179N 198L 227E	150P 156T 179N 180T 240S
156T 159V 179N 180T 240S	150P 156T 179N 180T 227E
156T 159V 179N 180T 227E	150P 156T 179N 180T 198L
156T 159V 179N 180T 198L	150P 156T 159V 227E 240S
150P 180T 198L 227E 240S	150P 156T 159V 198L 240S
150P 179N 198L 227E 240S	150P 156T 159V 198L 227E
150P 179N 180T 227E 240S	150P 156T 159V 180T 240S
150P 179N 180T 198L 240S	150P 156T 159V 180T 227E
150P 179N 180T 198L 227E	150P 156T 159V 180T 198L
150P 159V 198L 227E 240S	150P 156T 159V 179N 240S
150P 159V 180T 227E 240S	150P 156T 159V 179N 227E
150P 159V 180T 198L 240S	150P 159V 180T 198L 227E
150P 159V 179N 227E 240S	150P 156T 159V 179N 180T
150P 159V 179N 198L 240S	105N 180T 198L 227E 240S
150P 159V 179N 198L 227E	105N 179N 198L 227E 240S
150P 159V 179N 180T 240S	105N 179N 180T 227E 240S
150P 159V 179N 180T 227E	105N 179N 180T 198L 240S
150P 159V 179N 180T 198L	105N 179N 180T 198L 227E
150P 156K 198L 227E 240S	105N 159V 198L 227E 240S
150P 156K 180T 227E 240S	105N 159V 180T 227E 240S
150P 156K 180T 198L 240S	105N 159V 180T 198L 240S
150P 156K 180T 198L 227E	105N 159V 180T 198L 227E
150P 156K 179N 227E 240S	105N 159V 179N 227E 240S
150P 156K 179N 198L 240S	105N 159V 179N 198L 240S
150P 156K 179N 198L 227E	105N 159V 179N 198L 227E
150P 156K 179N 180T 240S	105N 159V 179N 180T 240S
150P 156K 179N 180T 227E	105N 159V 179N 180T 227E
150P 156K 179N 180T 198L	105N 159V 179N 180T 198L
150P 156K 159V 227E 240S	105N 156K 198L 227E 240S

150P 156K 159V 198L 240S	105N 156K 180T 227E 240S
105N 156K 180T 198L 240S	105N 150P 179N 180T 240S
150P 156K 159V 180T 240S	105N 156K 180T 198L 227E
150P 156K 159V 180T 227E	105N 156K 179N 227E 240S
150P 156K 159V 180T 198L	105N 156K 179N 198L 240S
150P 156K 159V 179N 240S	105N 156K 179N 198L 227E
150P 156K 159V 179N 227E	105N 156K 179N 180T 240S
150P 156K 159V 179N 198L	105N 156K 179N 180T 227E
105N 156K 179N 180T 198L	105N 150P 159V 180T 227E
105N 156K 159V 227E 240S	105N 150P 159V 180T 198L
105N 156K 159V 198L 240S	105N 150P 159V 179N 240S
105N 156K 159V 198L 227E	105N 150P 159V 179N 227E
105N 156K 159V 180T 240S	105N 150P 159V 179N 198L
105N 156K 159V 180T 227E	105N 150P 159V 179N 180T
105N 156K 159V 180T 198L	105N 150P 156K 227E 240S
105N 156K 159V 179N 240S	105N 150P 156K 198L 240S
105N 156K 159V 179N 227E	105N 150P 156K 198L 227E
105N 156K 159V 179N 198L	105N 150P 156K 180T 240S
105N 156K 159V 179N 180T	105N 150P 156K 180T 227E
105N 156T 198L 227E 240S	105N 150P 156K 180T 198L
105N 156T 180T 227E 240S	105N 150P 156K 179N 240S
105N 156T 180T 198L 240S	105N 150P 156K 179N 227E
105N 156T 180T 198L 227E	105N 150P 156K 179N 198L
105N 156T 179N 227E 240S	105N 150P 156K 179N 180T
105N 156T 179N 198L 240S	105N 150P 156K 159V 240S
105N 156T 179N 198L 227E	105N 150P 156K 159V 227E
105N 156T 179N 180T 240S	105N 150P 156K 159V 198L
150P 156T 159V 179N 198L	105N 156T 179N 180T 227E
105N 156T 179N 180T 198L	105N 150P 156K 159V 179N
105N 156T 159V 227E 240S	105N 150P 156T 227E 240S
105N 156T 159V 198L 240S	105N 150P 156T 198L 240S
105N 156T 159V 198L 227E	105N 150P 156T 198L 227E
105N 156T 159V 180T 240S	105N 150P 156T 180T 240S
105N 156T 159V 180T 227E	105N 150P 156T 180T 227E
105N 156T 159V 180T 198L	105N 150P 156T 180T 198L
105N 156T 159V 179N 240S	105N 150P 156T 179N 240S
105N 156T 159V 179N 227E	105N 150P 156T 179N 227E
105N 156T 159V 179N 198L	105N 150P 156T 179N 198L
105N 156T 159V 179N 180T	105N 150P 156T 179N 180T
105N 150P 198L 227E 240S	105N 150P 156T 159V 240S
105N 150P 180T 227E 240S	105N 150P 156T 159V 227E
105N 150P 180T 198L 240S	105N 150P 156T 159V 198L
105N 150P 180T 198L 227E	105N 150P 156T 159V 180T
105N 150P 179N 227E 240S	105N 150P 156T 159V 179N
105N 150P 179N 198L 240S	95K 180T 198L 227E 240S
105N 150P 179N 198L 227E	95K 179N 198L 227E 240S
95K 179N 180T 227E 240S	95K 156T 159V 198L 227E

105N 150P 179N 180T 227E	95K 179N 180T 198L 240S
105N 150P 179N 180T 198L	95K 179N 180T 198L 227E
105N 150P 159V 227E 240S	95K 159V 198L 227E 240S
105N 150P 159V 198L 240S	95K 159V 180T 227E 240S
105N 150P 159V 198L 227E	95K 159V 180T 198L 240S
105N 150P 159V 180T 240S	95K 159V 180T 198L 227E
95K 159V 179N 227E 240S	95K 156T 159V 179N 180T
95K 159V 179N 198L 240S	95K 150P 198L 227E 240S
95K 159V 179N 198L 227E	95K 150P 180T 227E 240S
95K 159V 179N 180T 240S	95K 150P 180T 198L 240S
95K 159V 179N 180T 227E	95K 150P 180T 198L 227E
95K 159V 179N 180T 198L	95K 150P 179N 227E 240S
95K 156K 198L 227E 240S	95K 150P 179N 198L 240S
95K 156K 180T 227E 240S	95K 150P 179N 198L 227E
95K 156K 180T 198L 240S	95K 150P 179N 180T 240S
95K 156K 180T 198L 227E	95K 150P 179N 180T 227E
95K 156K 179N 227E 240S	95K 150P 179N 180T 198L
95K 156K 179N 198L 240S	95K 150P 159V 227E 240S
95K 156K 179N 198L 227E	95K 150P 159V 198L 240S
95K 156K 179N 180T 240S	95K 150P 159V 198L 227E
95K 156K 179N 180T 227E	95K 150P 159V 180T 240S
95K 156K 179N 180T 198L	95K 150P 159V 180T 227E
95K 156K 159V 227E 240S	95K 150P 159V 180T 198L
95K 156K 159V 198L 240S	95K 150P 159V 179N 240S
95K 156K 159V 198L 227E	95K 150P 159V 179N 227E
105N 150P 156K 159V 180T	95K 156K 159V 180T 240S
95K 156K 159V 180T 227E	95K 150P 159V 179N 180T
95K 156K 159V 180T 198L	95K 150P 156K 227E 240S
95K 156K 159V 179N 240S	95K 150P 156K 198L 240S
95K 156K 159V 179N 227E	95K 150P 156K 198L 227E
95K 156K 159V 179N 198L	95K 150P 156K 180T 240S
95K 156K 159V 179N 180T	95K 150P 156K 180T 227E
95K 156T 198L 227E 240S	95K 150P 156K 180T 198L
95K 156T 180T 227E 240S	95K 150P 156K 179N 240S
95K 156T 180T 198L 240S	95K 150P 156K 179N 227E
95K 156T 180T 198L 227E	95K 150P 156K 179N 198L
95K 156T 179N 227E 240S	95K 150P 156K 179N 180T
95K 156T 179N 198L 240S	95K 150P 156K 159V 240S
95K 156T 179N 198L 227E	95K 150P 156K 159V 227E
95K 156T 179N 180T 240S	95K 150P 156K 159V 198L
95K 156T 179N 180T 227E	95K 150P 156K 159V 180T
95K 156T 179N 180T 198L	95K 150P 156K 159V 179N
95K 156T 159V 227E 240S	95K 150P 156T 227E 240S
95K 156T 159V 198L 240S	95K 150P 156T 198L 240S
95K 150P 156T 198L 227E	95K 105N 156K 159V 198L
95K 156T 159V 180T 240S	95K 150P 156T 180T 240S
95K 156T 159V 180T 227E	95K 150P 156T 180T 227E

95K 156T 159V 180T 198L	95K 150P 156T 180T 198L
95K 156T 159V 179N 240S	95K 150P 156T 179N 240S
95K 156T 159V 179N 227E	95K 150P 156T 179N 227E
95K 156T 159V 179N 198L	95K 150P 156T 179N 198L
95K 150P 156T 179N 180T	95K 105N 156T 180T 227E
95K 150P 156T 159V 240S	95K 105N 156T 180T 198L
95K 150P 156T 159V 227E	95K 105N 156T 179N 240S
95K 150P 156T 159V 198L	95K 105N 156T 179N 227E
95K 150P 156T 159V 180T	95K 105N 156T 179N 198L
95K 150P 156T 159V 179N	95K 105N 156T 179N 180T
95K 105N 198L 227E 240S	95K 105N 156T 159V 240S
95K 105N 180T 227E 240S	95K 105N 156T 159V 227E
95K 105N 180T 198L 240S	95K 105N 156T 159V 198L
95K 105N 180T 198L 227E	95K 105N 156T 159V 180T
95K 105N 179N 227E 240S	95K 105N 156T 159V 179N
95K 105N 179N 198L 240S	95K 105N 150P 227E 240S
95K 105N 179N 198L 227E	95K 105N 150P 198L 240S
95K 105N 179N 180T 240S	95K 105N 150P 198L 227E
95K 105N 179N 180T 227E	95K 105N 150P 180T 240S
95K 105N 179N 180T 198L	95K 105N 150P 180T 227E
95K 105N 159V 227E 240S	95K 105N 150P 180T 198L
95K 105N 159V 198L 240S	95K 105N 150P 179N 240S
95K 105N 159V 198L 227E	95K 105N 150P 179N 227E
95K 150P 159V 179N 198L	95K 105N 159V 180T 240S
95K 105N 159V 180T 227E	95K 105N 150P 179N 180T
95K 105N 159V 180T 198L	95K 105N 150P 159V 240S
95K 105N 159V 179N 240S	95K 105N 150P 159V 227E
95K 105N 159V 179N 227E	95K 105N 150P 159V 198L
95K 105N 159V 179N 198L	95K 105N 150P 159V 180T
95K 105N 159V 179N 180T	95K 105N 150P 159V 179N
95K 105N 156K 227E 240S	95K 105N 150P 156K 240S
95K 105N 156K 198L 240S	95K 105N 150P 156K 227E
95K 105N 156K 198L 227E	95K 105N 150P 156K 198L
95K 105N 156K 180T 240S	95K 105N 150P 156K 180T
95K 105N 156K 180T 227E	95K 105N 150P 156K 179N
95K 105N 156K 180T 198L	95K 105N 150P 156K 159V
95K 105N 156K 179N 240S	95K 105N 150P 156T 240S
95K 105N 156K 179N 227E	95K 105N 150P 156T 227E
95K 105N 156K 179N 198L	95K 105N 150P 156T 198L
95K 105N 156K 179N 180T	95K 105N 150P 156T 180T
95K 105N 156K 159V 240S	95K 105N 150P 156T 179N
95K 105N 156K 159V 227E	95K 105N 150P 156T 159V
95K 105N 150P 179N 198L	150P 156T 159V 179N 198L 240S
95K 105N 156K 159V 180T	159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 159V 179N	156K 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156T 227E 240S	156K 159V 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156T 198L 240S	156K 159V 179N 198L 227E 240S

95K 105N 156T 198L 227E	156K 159V 179N 180T 227E 240S
95K 105N 156T 180T 240S	156K 159V 179N 180T 198L 240S
150P 156T 159V 179N 198L 227E	105N 159V 179N 198L 227E 240S
150P 156T 159V 179N 180T 240S	105N 159V 179N 180T 227E 240S
150P 156T 159V 179N 180T 227E	105N 159V 179N 180T 198L 240S
150P 156T 159V 179N 180T 198L	105N 159V 179N 180T 198L 227E
105N 179N 180T 198L 227E 240S	105N 156K 180T 198L 227E 240S
105N 159V 180T 198L 227E 240S	105N 156K 179N 198L 227E 240S
156K 159V 179N 180T 198L 227E	105N 156K 179N 180T 227E 240S
156T 179N 180T 198L 227E 240S	105N 156K 179N 180T 198L 240S
156T 159V 180T 198L 227E 240S	105N 156K 179N 180T 198L 227E
156T 159V 179N 198L 227E 240S	105N 156K 159V 198L 227E 240S
156T 159V 179N 180T 227E 240S	105N 156K 159V 180T 227E 240S
156T 159V 179N 180T 198L 240S	105N 156K 159V 180T 198L 240S
156T 159V 179N 180T 198L 227E	105N 156K 159V 180T 198L 227E
150P 179N 180T 198L 227E 240S	105N 156K 159V 179N 227E 240S
150P 159V 180T 198L 227E 240S	105N 156K 159V 179N 198L 240S
150P 159V 179N 198L 227E 240S	105N 156K 159V 179N 198L 227E
150P 159V 179N 180T 227E 240S	105N 156K 159V 179N 180T 240S
150P 159V 179N 180T 198L 240S	105N 156K 159V 179N 180T 227E
150P 159V 179N 180T 198L 227E	105N 156K 159V 179N 180T 198L
150P 156K 180T 198L 227E 240S	105N 156T 180T 198L 227E 240S
150P 156K 179N 198L 227E 240S	105N 156T 179N 198L 227E 240S
150P 156K 179N 180T 227E 240S	105N 156T 179N 180T 227E 240S
150P 156K 179N 180T 198L 240S	105N 156T 179N 180T 198L 240S
150P 156K 179N 180T 198L 227E	105N 156T 179N 180T 198L 227E
150P 156K 159V 198L 227E 240S	105N 156T 159V 198L 227E 240S
150P 156K 159V 180T 227E 240S	105N 156T 159V 180T 227E 240S
150P 156K 159V 180T 198L 240S	105N 156T 159V 180T 198L 240S
150P 156K 159V 180T 198L 227E	105N 156T 159V 180T 198L 227E
150P 156K 159V 179N 227E 240S	105N 156T 159V 179N 227E 240S
150P 156K 159V 179N 198L 240S	105N 156T 159V 179N 198L 240S
150P 156K 159V 179N 198L 227E	105N 156T 159V 179N 198L 227E
150P 156K 159V 179N 180T 240S	105N 156T 159V 179N 180T 240S
150P 156K 159V 179N 180T 227E	105N 156T 159V 179N 180T 227E
150P 156K 159V 179N 180T 198L	105N 156T 159V 179N 180T 198L
150P 156T 180T 198L 227E 240S	105N 150P 180T 198L 227E 240S
150P 156T 179N 198L 227E 240S	105N 150P 179N 198L 227E 240S
150P 156T 179N 180T 227E 240S	105N 150P 179N 180T 227E 240S
150P 156T 179N 180T 198L 240S	105N 150P 179N 180T 198L 240S
150P 156T 179N 180T 198L 227E	105N 150P 156T 159V 180T 227E
150P 156T 159V 198L 227E 240S	105N 150P 159V 179N 227E 240S
150P 156T 159V 180T 227E 240S	105N 150P 159V 179N 198L 240S
150P 156T 159V 180T 198L 240S	105N 150P 159V 179N 198L 227E
150P 156T 159V 180T 198L 227E	105N 150P 159V 179N 180T 240S
150P 156T 159V 179N 227E 240S	105N 150P 159V 179N 180T 227E
105N 150P 179N 180T 198L 227E	105N 150P 159V 179N 180T 198L

105N 150P 156K 198L 227E 240S	95K 159V 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156K 180T 227E 240S	95K 159V 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156K 180T 198L 240S	95K 159V 179N 180T 227E 240S
105N 150P 156K 180T 198L 227E	95K 159V 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156K 179N 227E 240S	95K 159V 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156K 179N 198L 240S	95K 156K 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156K 179N 198L 227E	95K 156K 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156K 179N 180T 240S	95K 156K 179N 180T 227E 240S
105N 150P 156K 179N 180T 227E	95K 156K 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156K 179N 180T 198L	95K 156K 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156K 159V 227E 240S	95K 156K 159V 198L 227E 240S
105N 150P 156K 159V 198L 240S	95K 156K 159V 180T 227E 240S
105N 150P 156K 159V 198L 227E	95K 156K 159V 180T 198L 240S
105N 150P 156K 159V 180T 240S	95K 156K 159V 180T 198L 227E
105N 150P 156K 159V 180T 227E	95K 156K 159V 179N 227E 240S
105N 150P 156K 159V 180T 198L	95K 156K 159V 179N 198L 240S
105N 150P 156K 159V 179N 240S	95K 156K 159V 179N 198L 227E
105N 150P 156K 159V 179N 227E	95K 156K 159V 179N 180T 240S
105N 150P 156K 159V 179N 198L	95K 156K 159V 179N 180T 227E
105N 150P 156K 159V 179N 180T	95K 156K 159V 179N 180T 198L
105N 150P 159V 198L 227E 240S	95K 156T 180T 198L 227E 240S
105N 150P 159V 180T 227E 240S	95K 156T 179N 198L 227E 240S
105N 150P 159V 180T 198L 240S	95K 156T 179N 180T 227E 240S
105N 150P 159V 180T 198L 227E	95K 156T 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156T 198L 227E 240S	95K 156T 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156T 180T 227E 240S	95K 156T 159V 198L 227E 240S
105N 150P 156T 180T 198L 240S	95K 156T 159V 180T 227E 240S
105N 150P 156T 180T 198L 227E	95K 156T 159V 180T 198L 240S
105N 150P 156T 179N 227E 240S	95K 156T 159V 180T 198L 227E
105N 150P 156T 179N 198L 240S	95K 156T 159V 179N 227E 240S
105N 150P 156T 179N 198L 227E	95K 156T 159V 179N 198L 240S
105N 150P 156T 179N 180T 240S	95K 156T 159V 179N 198L 227E
105N 150P 156T 179N 180T 227E	95K 156T 159V 179N 180T 240S
105N 150P 156T 179N 180T 198L	95K 156T 159V 179N 180T 227E
105N 150P 156T 159V 227E 240S	95K 156T 159V 179N 180T 198L
105N 150P 156T 159V 198L 240S	95K 150P 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 198L 227E	95K 150P 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 180T 240S	95K 150P 179N 180T 227E 240S
95K 150P 179N 180T 198L 240S	95K 150P 156T 159V 180T 240S
105N 150P 156T 159V 180T 198L	95K 150P 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156T 159V 179N 240S	95K 150P 159V 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 227E	95K 150P 159V 180T 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 198L	95K 150P 159V 180T 198L 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T	95K 150P 159V 180T 198L 227E
95K 179N 180T 198L 227E 240S	95K 150P 159V 179N 227E 240S
95K 150P 159V 179N 198L 240S	95K 105N 179N 198L 227E 240S
95K 150P 159V 179N 198L 227E	95K 105N 179N 180T 227E 240S

95K 150P 159V 179N 180T 240S	95K 105N 179N 180T 198L 240S
95K 150P 159V 179N 180T 227E	95K 105N 179N 180T 198L 227E
95K 150P 159V 179N 180T 198L	95K 105N 159V 198L 227E 240S
95K 150P 156K 198L 227E 240S	95K 105N 159V 180T 227E 240S
95K 150P 156K 180T 227E 240S	95K 105N 159V 180T 198L 240S
95K 150P 156K 180T 198L 240S	95K 105N 159V 180T 198L 227E
95K 150P 156K 180T 198L 227E	95K 105N 159V 179N 227E 240S
95K 150P 156K 179N 227E 240S	95K 105N 159V 179N 198L 240S
95K 150P 156K 179N 198L 240S	95K 105N 159V 179N 198L 227E
95K 150P 156K 179N 198L 227E	95K 105N 159V 179N 180T 240S
95K 150P 156K 179N 180T 240S	95K 105N 159V 179N 180T 227E
95K 150P 156K 179N 180T 227E	95K 105N 159V 179N 180T 198L
95K 150P 156K 179N 180T 198L	95K 105N 156K 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 227E 240S	95K 105N 156K 180T 227E 240S
95K 150P 156K 159V 198L 240S	95K 105N 156K 180T 198L 240S
95K 150P 156K 159V 198L 227E	95K 105N 156K 180T 198L 227E
95K 150P 156K 159V 180T 240S	95K 105N 156K 179N 227E 240S
95K 150P 156K 159V 180T 227E	95K 105N 156K 179N 198L 240S
95K 150P 156K 159V 180T 198L	95K 105N 156K 179N 198L 227E
95K 150P 156K 159V 179N 240S	95K 105N 156K 179N 180T 240S
95K 150P 156K 159V 179N 227E	95K 105N 156K 179N 180T 227E
95K 150P 156K 159V 179N 198L	95K 105N 156K 179N 180T 198L
95K 150P 156K 159V 179N 180T	95K 105N 156K 159V 227E 240S
95K 150P 156T 198L 227E 240S	95K 105N 156K 159V 198L 240S
95K 150P 156T 180T 227E 240S	95K 105N 156K 159V 198L 227E
95K 150P 156T 180T 198L 240S	95K 105N 156K 159V 180T 240S
95K 150P 156T 180T 198L 227E	95K 105N 156K 159V 180T 227E
95K 150P 156T 179N 227E 240S	95K 105N 156K 159V 180T 198L
95K 150P 156T 179N 198L 240S	95K 105N 156K 159V 179N 240S
95K 150P 156T 179N 198L 227E	95K 105N 156K 159V 179N 227E
95K 150P 156T 179N 180T 240S	95K 105N 156K 159V 179N 198L
95K 150P 156T 179N 180T 227E	95K 105N 156K 159V 179N 180T
95K 150P 156T 179N 180T 198L	95K 105N 156T 198L 227E 240S
95K 150P 156T 159V 227E 240S	95K 105N 156T 180T 227E 240S
95K 150P 156T 159V 198L 240S	95K 105N 156T 180T 198L 240S
95K 150P 156T 159V 198L 227E	95K 105N 156T 179N 227E 240S
95K 150P 156T 159V 180T 227E	95K 105N 156T 179N 198L 240S
95K 150P 156T 159V 180T 198L	95K 105N 156T 179N 198L 227E
95K 150P 156T 159V 179N 240S	95K 105N 156T 179N 180T 240S
95K 150P 156T 159V 179N 227E	95K 105N 156T 179N 180T 227E
95K 150P 156T 159V 179N 198L	95K 105N 156T 179N 180T 198L
95K 150P 156T 159V 179N 180T	95K 105N 156T 159V 227E 240S
95K 105N 180T 198L 227E 240S	95K 105N 156T 159V 198L 240S
95K 105N 156T 159V 198L 227E	
95K 105N 156T 159V 180T 240S	
95K 105N 156T 159V 180T 227E	
95K 105N 156T 159V 180T 198L	

95K 105N 156T 159V 179N 240S
95K 105N 156T 159V 179N 227E
95K 105N 156T 159V 179N 198L
95K 105N 156T 159V 179N 180T
95K 105N 150P 198L 227E 240S
95K 105N 150P 180T 227E 240S
95K 105N 150P 180T 198L 240S
95K 105N 150P 180T 198L 227E
95K 105N 150P 179N 227E 240S
95K 105N 150P 179N 198L 240S
95K 105N 150P 179N 198L 227E
95K 105N 150P 179N 180T 240S
95K 105N 150P 179N 180T 227E
95K 105N 150P 179N 180T 198L
95K 105N 150P 159V 227E 240S
95K 105N 150P 159V 198L 240S
95K 105N 150P 159V 198L 227E
95K 105N 150P 159V 180T 240S
95K 105N 150P 159V 180T 227E
95K 105N 150P 159V 180T 198L
95K 105N 150P 159V 179N 240S
95K 105N 150P 159V 179N 227E
95K 105N 150P 156K 179N 198L
95K 105N 150P 156K 179N 180T
95K 105N 150P 156K 159V 240S
95K 105N 150P 156K 159V 227E
95K 105N 150P 156K 159V 198L
95K 105N 150P 156K 159V 180T
95K 105N 150P 156K 159V 179N
95K 105N 150P 159V 179N 198L
95K 105N 150P 159V 179N 180T
95K 105N 150P 156K 227E 240S
95K 105N 150P 156K 198L 240S
95K 105N 150P 156K 198L 227E
95K 105N 150P 156K 180T 240S
95K 105N 150P 156K 180T 227E
95K 105N 150P 156K 180T 198L
95K 105N 150P 156T 227E 240S
95K 105N 150P 156T 198L 240S
95K 105N 150P 156T 198L 227E
95K 105N 150P 156T 180T 240S
95K 105N 150P 156T 180T 227E
95K 105N 150P 156T 180T 198L
95K 105N 150P 156T 179N 240S
95K 105N 150P 156T 179N 227E
95K 105N 150P 156T 179N 198L
95K 105N 150P 156T 179N 180T

95K 105N 150P 156T 159V 240S
95K 105N 150P 156T 159V 227E
95K 105N 150P 156T 159V 198L
95K 105N 150P 156T 159V 180T
95K 105N 150P 156T 159V 179N
95K 105N 150P 156K 179N 240S
95K 105N 150P 156K 179N 227E
95K 105N 156T 180T 198L 227E
156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
150P 159V 179N 180T 198L 227E 240S
150P 156K 179N 180T 198L 227E 240S
150P 156K 159V 180T 198L 227E 240S
150P 156K 159V 179N 198L 227E 240S
150P 156K 159V 179N 180T 227E 240S
150P 156K 159V 179N 180T 198L 240S
150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E
150P 156T 179N 180T 198L 227E 240S
150P 156T 159V 180T 198L 227E 240S
150P 156T 159V 179N 198L 227E 240S
150P 156T 159V 179N 180T 227E 240S
150P 156T 159V 179N 180T 198L 240S
150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E
105N 156K 179N 180T 198L 227E 240S
105N 156K 159V 180T 198L 227E 240S
105N 156K 159V 179N 198L 227E 240S
105N 156K 159V 179N 180T 198L 240S
105N 156K 159V 179N 180T 198L 227E
105N 159V 179N 180T 198L 227E 240S
105N 156K 159V 179N 180T 227E 240S
105N 156T 159V 179N 180T 198L 227E
105N 156T 179N 180T 198L 227E 240S
105N 150P 179N 180T 198L 227E 240S
105N 150P 159V 180T 198L 227E 240S
105N 150P 159V 179N 198L 227E 240S
105N 150P 159V 179N 180T 227E 240S
105N 150P 159V 179N 180T 198L 240S
105N 150P 159V 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156K 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156K 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156K 179N 180T 227E 240S
105N 150P 156K 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156K 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156K 159V 198L 227E 240S
105N 150P 156K 159V 180T 227E 240S
105N 150P 156K 159V 180T 198L 240S
105N 150P 156K 159V 180T 198L 227E

105N 150P 156K 159V 179N 227E 240S
105N 150P 156K 159V 179N 198L 240S
105N 150P 156K 159V 179N 198L 227E
105N 150P 156K 159V 179N 180T 240S
105N 150P 156K 159V 179N 180T 227E
105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L
105N 150P 156T 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156T 179N 180T 227E 240S
105N 150P 156T 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156T 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156T 159V 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 180T 227E 240S
105N 150P 156T 159V 180T 198L 240S
105N 150P 156T 159V 180T 198L 227E
105N 150P 156T 159V 179N 198L 240S
105N 150P 156T 159V 179N 198L 227E
105N 150P 156T 180T 198L 227E 240S
105N 156T 159V 179N 198L 227E 240S
105N 156T 159V 179N 180T 198L 240S
105N 156T 159V 179N 180T 227E 240S
105N 156T 159V 180T 198L 227E 240S
95K 156T 159V 179N 198L 227E 240S
95K 156T 159V 179N 180T 227E 240S
95K 156T 159V 179N 180T 198L 240S
95K 156T 159V 179N 180T 198L 227E
95K 150P 179N 180T 198L 227E 240S
95K 150P 159V 180T 198L 227E 240S
95K 150P 159V 179N 198L 227E 240S
95K 150P 159V 179N 180T 227E 240S
95K 150P 159V 179N 180T 198L 240S
95K 150P 159V 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156T 159V 179N 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T 227E
105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L
95K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 156K 179N 180T 198L 227E 240S
95K 156K 159V 180T 198L 227E 240S
95K 156K 159V 179N 198L 227E 240S
95K 156K 159V 179N 180T 227E 240S
95K 156K 159V 179N 180T 198L 240S
95K 156K 159V 179N 180T 198L 227E
95K 156T 179N 180T 198L 227E 240S
95K 156T 159V 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 179N 180T 227E
95K 150P 156K 159V 179N 180T 198L
95K 150P 156T 180T 198L 227E 240S

95K 150P 156T 179N 198L 227E 240S
95K 150P 156T 179N 180T 227E 240S
95K 150P 156T 179N 180T 198L 240S
95K 150P 156T 179N 180T 198L 227E
95K 150P 156T 159V 198L 227E 240S
95K 150P 156T 159V 180T 227E 240S
95K 150P 156T 159V 180T 198L 240S
95K 150P 156T 159V 180T 198L 227E
95K 150P 156T 159V 179N 227E 240S
95K 150P 156T 159V 179N 198L 240S
95K 150P 156T 159V 179N 198L 227E
95K 150P 156T 159V 179N 180T 240S
95K 150P 156T 159V 179N 180T 227E
95K 150P 156K 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156K 179N 198L 227E 240S
95K 150P 156K 179N 180T 227E 240S
95K 150P 156K 179N 180T 198L 240S
95K 150P 156K 179N 180T 198L 227E
95K 150P 156K 159V 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 180T 227E 240S
95K 150P 156K 159V 180T 198L 240S
95K 150P 156K 159V 180T 198L 227E
95K 150P 156K 159V 179N 227E 240S
95K 150P 156K 159V 179N 198L 240S
95K 150P 156K 159V 179N 198L 227E
95K 150P 156K 159V 179N 180T 240S
95K 105N 156K 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 179N 198L 227E 240S
95K 105N 156K 179N 180T 227E 240S
95K 105N 156K 179N 180T 198L 240S
95K 105N 156K 179N 180T 198L 227E
95K 105N 156K 159V 198L 227E 240S
95K 105N 156K 159V 180T 227E 240S
95K 105N 156K 159V 180T 198L 240S
95K 105N 156K 159V 180T 198L 227E
95K 105N 156K 159V 179N 227E 240S
95K 105N 156K 159V 179N 198L 240S
95K 105N 156K 159V 179N 198L 227E
95K 105N 156K 159V 179N 180T 240S
95K 105N 156K 159V 179N 180T 227E
95K 105N 156K 159V 179N 180T 198L
95K 105N 156T 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156T 159V 179N 180T 198L
95K 105N 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 159V 180T 198L 227E 240S
95K 105N 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 159V 179N 180T 227E 240S

95K 105N 159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 156T 159V 180T 198L 227E
95K 105N 156T 159V 179N 227E 240S
95K 105N 156T 159V 179N 198L 240S
95K 105N 156T 159V 179N 198L 227E
95K 105N 156T 159V 179N 180T 240S
95K 105N 156T 159V 179N 180T 227E
95K 105N 156T 159V 179N 180T 198L
95K 105N 150P 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 179N 180T 227E 240S
95K 105N 150P 179N 180T 198L 240S
95K 105N 150P 179N 180T 198L 227E
95K 105N 150P 159V 198L 227E 240S
95K 105N 150P 159V 180T 227E 240S
95K 105N 150P 159V 180T 198L 240S
95K 105N 150P 159V 180T 198L 227E
95K 105N 150P 159V 179N 227E 240S
95K 105N 150P 159V 179N 198L 240S
95K 105N 150P 159V 179N 198L 227E
95K 105N 150P 159V 179N 180T 240S
95K 105N 150P 159V 179N 180T 227E
95K 105N 150P 159V 179N 180T 198L
95K 105N 150P 156K 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 179N 227E 240S
95K 105N 150P 156T 179N 198L 240S
95K 105N 150P 156T 179N 198L 227E
95K 105N 150P 156T 179N 180T 240S
95K 105N 150P 156T 179N 180T 227E
95K 105N 150P 156T 179N 180T 198L
95K 105N 150P 156T 159V 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 198L 240S
95K 105N 150P 156T 159V 198L 227E
95K 105N 150P 156T 159V 180T 240S
95K 105N 150P 156T 159V 180T 227E
95K 105N 150P 156T 159V 180T 198L
95K 105N 150P 156T 159V 179N 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 227E
95K 105N 150P 156T 159V 179N 198L
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T
95K 105N 156T 179N 198L 227E 240S
95K 105N 156T 179N 180T 227E 240S
95K 105N 156T 179N 180T 198L 240S
95K 105N 156T 179N 180T 198L 227E
95K 105N 156T 159V 198L 227E 240S
95K 105N 156T 159V 180T 227E 240S

95K 105N 156T 159V 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156K 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156K 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156K 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156K 179N 227E 240S
95K 105N 150P 156K 179N 198L 240S
95K 105N 150P 156K 179N 198L 227E
95K 105N 150P 156K 179N 180T 240S
95K 105N 150P 156K 179N 180T 227E
95K 105N 150P 156K 179N 180T 198L
95K 105N 150P 156K 159V 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 198L 240S
95K 105N 150P 156K 159V 198L 227E
95K 105N 150P 156K 159V 180T 240S
95K 105N 150P 156K 159V 180T 227E
95K 105N 150P 156K 159V 180T 198L
95K 105N 150P 156K 159V 179N 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 227E
95K 105N 150P 156K 159V 179N 198L
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T
95K 105N 150P 156T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156T 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156T 180T 198L 227E
105N 150P 156K 159V 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156K 159V 179N 180T 227E 240S
105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E
105N 150P 156T 179N 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E
95K 150P 156T 159V 179N 180T 198L 240S
95K 150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 159V 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 156K 159V 179N 180T 227E 240S
95K 105N 156K 159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 156K 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 156T 179N 180T 198L 227E 240S
95K 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 150P 159V 179N 180T 198L 227E 240S

95K 150P 156K 179N 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 159V 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 179N 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156T 159V 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156T 159V 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 227E
105N 150P 156K 159V 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156K 179N 180T 198L 227E 240S
105N 150P 159V 179N 180T 198L 227E 240S
105N 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
105N 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 179N 180T 198L 240S
95K 105N 150P 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156T 159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 156T 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 156T 159V 179N 180T 227E 240S
95K 105N 156T 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 156T 159V 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 179N 180T 198L 240S
95K 150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E
95K 150P 156K 159V 179N 180T 227E 240S
95K 150P 156T 159V 179N 180T 227E 240S
95K 150P 156T 159V 179N 198L 227E 240S
95K 150P 156T 159V 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156T 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L
95K 105N 150P 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 159V 179N 180T 227E 240S
95K 105N 150P 159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 150P 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156K 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 179N 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156K 179N 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156K 179N 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156K 159V 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156K 159V 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156K 159V 179N 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 198L 240S

95K 105N 150P 156K 159V 179N 198L 227E
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 227E
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L
95K 105N 150P 156T 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 179N 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 198L 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 198L 227E
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 240S
105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156T 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E
95K 105N 150P 156K 159V 179N 180T 198L 227E 240S
95K 105N 150P 156T 159V 179N 180T 198L 227E 240S

Ejemplo 30

Reversibilidad de la Actividad Enzimática Después de la Disminución en Temperatura

En este ejemplo, los mutantes hMMP-1 sensibles a la temperatura que se confirmaron en el Ejemplo 28B se procesaron por ensayo adicional para determinar si la actividad enzimática a 25°C fue reversible o irreversible

seguida de exposición posterior a temperaturas elevadas seguidas por un regreso hasta 25°C. Los mutantes hMMP-1 se expresaron en tubos de cultivo de 14 ml, como se describen en el Ejemplo 28B. Los aciertos supuestos se probaron para sus actividades bajo cinco condiciones: a 25°C, 34°C o 37°C, y a 34°C o 37°C y volvieron a exponer después a la temperatura requerida de 25°C (ver Tabla 16 para condiciones de reacción). Los mutantes que fueron activos a 25°C, muestran actividad disminuida cuando se elevan hasta 34°C o 37°C (esto es la relación de las actividades da 25°C/34°C o 25°C/37°C es igual a o mayor que 1.5), y muestran una actividad de línea basal cuando disminuyen de nuevo hasta 25°C se registraron como "Aciertos Reversibles". Los mutantes que fueron activos a 25°C, muestran actividad disminuida cuando se elevan hasta 34°C o 37°C (esto es la relación de las actividades a 25°C/34°C o 25°C/37°C es igual a o mayor que 1.5), y muestran la misma cantidad de actividad disminuida cuando se disminuyen de nuevo hasta 25°C se registraron como "Aciertos Irreversibles".

A. Condiciones de Reacción

La reversibilidad de la actividad enzimática de cada mutante hMMP-1 se determinó usando el ensayo de

fluorescencia descrito previamente como se modifica a continuación. En pocas palabras, los 4 ul del sobrenadante de cada mutante hMMP-1 se diluyó en TCNB con APMA 1 mM y transfirió a una placa de 96 pozos. Cinco pozos diferentes se prepararon para cada mutante hMMP-1 como se establece en la Tabla 16. La solución se incubó a la temperatura de reacción inicial (25°C, 34°C, o 37°C) durante 2 horas. Esta etapa de activación desdobla el pro-péptido y genera hMMP-1 maduro.

Después de la activación, 100 µl de TCNB con 10 µM de sustrato fluorescente Mca-K-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH_2 se agregó a cada pozo y las condiciones de reacción fueron como se resume en la Tabla 28, a continuación. Brevemente, cada mutante hMMP-1 se expuso a cada una de las cinco condiciones de reacción por incubación del mutante hMMP-1 en la presencia del sustrato fluorogénico durante una hora a la temperatura inicial. Para cada mutante, la actividad de línea basal a 25°C, 34°C, o 37°C se evaluó por incubación con el sustrato durante 1 hora adicional (condición de 2 horas) o durante la noche (condición durante la noche), seguido por medición de fluorescencia. Para evaluar la reversibilidad/irreversibilidad de la actividad, las muestras incubadas durante 1 hora adicional a 34°C, o 37°C se disminuyeron hasta 25°C y permitieron

incubar durante ya sea una hora (condición de 2 horas) o 16 horas (condición durante la noche), seguido por la medición de fluorescencia. El hMMP-1 de tipo natural se usó como un control positivo y sobrenadante de células transformadas con solo vector se usó como un control negativo. La fluorescencia se detectó al medir la fluorescencia en un lector de placa fluorescente a 320 nm de excitación/405 nm de emisión. Las unidades de fluorescencia relativas (RFU) se determinaron. Las reacciones en duplicado se realizaron para cada muestra, temperatura de reacción, y control positivo y negativo.

Tabla 28. Condiciones de Reacción

Condición	Temperatura inicial	Incubación a 25 °C	2 Horas	Durante la noche
25 °C	25 °C	-	2 horas	durante la noche
34 °C	34 °C	-	2 horas	durante la noche
34 °C to 25 °C	34 °C	25 °C	a) 34°C durante 1 hora b) 25°C durante 1 hora	a) 34°C durante 1 hora b) 25°C durante 16 horas
37 °C	37 °C	-	2 horas	durante la noche
37 °C to 25 °C	37 °C	25 °C	a) 37°C durante 1 hora b) 25°C durante 1 hora	a) 37°C durante 1 hora b) 25°C durante 16 horas

B. Resultados: Mutantes hMMP-1 parcialmente reversibles

Veintiséis mutantes hMMP-1 se determinaron para ser parcialmente reversibles. Aunque la actividad (en RFU) no regresa a la actividad de línea basal observada a 25°C, un incremento general en la actividad se observó cuando la

temperatura se regresó hasta 25°C comparada con la actividad a 34°C o 37°C. Los resultados se muestran en las Tablas 29-32 a continuación, que enlistan las actividades (en RFU) y las relaciones de las actividades. Las Tablas 29 y 30 resumen los resultados de reversibilidad a 34°C o 37°C, respectivamente, de los mutantes parcialmente reversibles hMMP-1 bajo la condición de 2 horas. Las Tablas 31 y 32 resumen los resultados de reversibilidad a 34°C o 37°C, respectivamente, de los mutante hMMP-1 parcialmente reversibles bajo la condición durante la noche. Los resultados son similares bajo todas las condiciones de reacción, temperatura y tiempo. La actividad a 34°C o 37°C durante la noche es menor que la actividad cuando se incuba a 34°C o 37°C durante una hora luego 25°C durante la noche. Por ejemplo, la actividad de E180Y a 34°C es 6080 RFU pero su actividad a 34°C luego durante la noche a 25°C incrementa hasta 8570 RFU (ver Tabla 31, a continuación).

Tabla 29. Mutantes hMMP-1 parcialmente reversibles (2 Horas, 34°C)

mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 34 to 25°C	Relación 25°C/ 34°C	Relación 25°C/ 34 to 25°C
D105A	340	5669.31	824.07	922.97	6.88	6.14
D105F	336	2980.00	623.89	725.03	4.78	4.11
D105G	335	8821.81	2759.24	2966.37	3.20	2.97

D105S	334	9355.63	4607.18	6681.63	2.03	1.40
D105T	333	4457.16	974.63	1534.71	4.57	2.90
R150P	345	8750.30	2315.11	2506.15	3.78	3.49
G159T	359	6704.95	2294.40	2344.57	2.92	2.86
E180Y	374	8557.09	4979.24	6224.87	1.72	1.37
E180T	373	7870.99	1532.35	1852.46	5.14	4.25
E180F	377	8508.13	3597.75	3915.71	2.36	2.17
T185H	389	5593.77	2278.26	2429.05	2.46	2.30
T185Q	391	7006.87	2250.58	2397.60	3.11	2.92
T185A	395	2474.96	663.82	822.83	3.73	3.01
T185E	388	3948.43	2088.15	1862.83	1.89	2.12
N187R	398	3006.08	1352.97	1343.94	2.22	2.24
N187M	402	4934.44	1811.35	1793.14	2.72	2.75
N187K	397	4182.49	2425.34	2415.57	1.72	1.73
R195V	411	4847.81	2724.92	2517.49	1.78	1.93
A198L	416	6756.76	2056.50	2046.15	3.29	3.30
A198M	415	3777.50	1708.61	1725.14	2.21	2.19
S210V	419	3349.95	1249.47	1622.57	2.68	2.06
Y218S	421	2878.50	2373.98	2187.48	1.21	1.32
F223E	422	8318.70	3685.68	5283.08	2.26	1.57
V227W	437	996.55	729.20	834.38	1.37	1.19
L229I	441	2790.27	1050.86	1738.46	2.66	1.61
I240C	448	2688.75	561.91	884.15	4.78	3.04

Tabla 30. Mutantes hMMP-1 parcialmente reversibles (2 Horas, 37°C)

mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 37 °C	RFU 37 to 25°C	Relación 25°C/ 37°C	Relación 25°C/ 37 to 25°C
D105A	340	5669.31	1336.14	1509.52	4.24	3.76
D105F	336	2980.00	818.63	1004.23	3.64	2.97
D105G	335	8821.81	4313.40	4643.53	2.05	1.90
D105S	334	9355.63	7274.97	7453.42	1.29	1.26
D105T	333	4457.16	2220.03	2177.84	2.01	2.05
R150P	345	8750.30	2497.86	3115.73	3.50	2.81
G159T	359	6704.95	2347.74	2530.78	2.86	2.65
E180Y	374	8557.09	6079.36	6421.56	1.41	1.33
E180T	373	7870.99	1794.15	1824.99	4.39	4.31
E180F	377	8508.13	3975.22	3981.79	2.14	2.14
T185H	389	5593.77	2534.15	2693.25	2.21	2.08
T185Q	391	7006.87	2642.74	2589.77	2.65	2.71
T185A	395	2474.96	707.09	730.58	3.50	3.39
T185E	388	3948.43	2091.32	2106.55	1.89	1.87
N187R	398	3006.08	1421.87	1476.42	2.11	2.04
N187M	402	4934.44	1893.07	1998.97	2.61	2.47
N187K	397	4182.49	2652.79	2902.79	1.58	1.44

R195V	411	4847.81	2984.10	3555.03	1.62	1.36
A198L	416	6756.76	2642.76	2540.07	2.56	2.66
A198M	415	3777.50	2155.58	2802.78	1.75	1.35
S210V	419	3349.95	2314.86	2277.32	1.45	1.47
Y218S	421	2878.50	2350.27	2383.67	1.22	1.21
F223E	422	8318.70	6209.93	7415.02	1.34	1.12
V227W	437	996.55	787.87	850.67	1.26	1.17
L229I	441	2790.27	1803.44	2453.07	1.55	1.14
I240C	448	2688.75	853.66	872.62	3.15	3.08

Tabla 31. Mutantes hMMP-1 parcialmente reversibles (durante la noche , 34°C)

mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 34 to 25°C	Relación 25°C/ 34°C	Relación 25°C/ 34 to 25°C
D105A	340	8466.62	1302.84	1532.38	6.50	5.53
D105F	336	6725.59	938.60	1172.86	7.17	5.73
D105G	335	8940.06	3560.75	5314.44	2.51	1.68
D105S	334	9300.85	5584.70	9413.56	1.67	0.99
D105T	333	7910.47	1899.25	3254.16	4.17	2.43
R150P	345	9011.11	3533.16	4443.96	2.55	2.03
G159T	359	9105.95	3210.57	4179.05	2.84	2.18
E180Y	374	9281.77	6080.89	8570.48	1.53	1.08
E180T	373	8475.04	2585.89	3901.87	3.28	2.17
E180F	377	9360.74	5183.25	7022.64	1.81	1.33
T185H	389	8531.85	3164.69	5520.76	2.70	1.55
T185Q	391	9044.23	3639.00	5467.27	2.49	1.65
T185A	395	6156.97	1110.68	1585.53	5.54	3.88
T185E	388	8479.18	3868.06	4836.97	2.19	1.75
N187R	398	7593.11	2415.63	3156.74	3.14	2.41
N187M	402	8605.76	2769.52	4008.68	3.11	2.15
N187K	397	8667.36	3458.94	5465.35	2.51	1.59
R195V	411	8634.05	4648.03	5966.81	1.86	1.45
A198L	416	8795.36	3469.36	5027.30	2.54	1.75
A198M	415	8352.73	3215.69	4220.51	2.60	1.98
S210V	419	7104.17	2441.96	3664.23	2.91	1.94
Y218S	421	7740.61	4057.37	5769.79	1.91	1.34
F223E	422	9650.44	4849.58	9311.40	1.99	1.04
V227W	437	3070.92	1370.13	1632.51	2.24	1.88
L229I	441	7333.92	1832.18	4427.24	4.00	1.66
I240C	448	6170.51	1174.96	2389.06	5.25	2.58

Tabla 32. Mutantes hMMP-1 parcialmente reversibles (durante la noche, 37°C)

mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 37 °C	RFU 37 to	Relación 25°C/	Relación 25°C/

				25°C	37°C	37a 25°C
D105A	340	8466.62	1931.17	2589.08	4.38	3.27
D105F	336	6725.59	1173.23	1759.31	5.73	3.82
D105G	335	8940.06	5390.32	7139.57	1.66	1.25
D105S	334	9300.85	8234.95	8615.33	1.13	1.08
D105T	333	7910.47	3292.01	4482.74	2.40	1.76
R150P	345	9011.11	3559.66	5181.30	2.53	1.74
G159T	359	9105.95	3160.07	4338.35	2.88	2.10
E180Y	374	9281.77	6894.61	8986.47	1.35	1.03
E180T	373	8475.04	2809.15	3649.72	3.02	2.32
E180F	377	9360.74	5335.15	7183.36	1.75	1.30
T185H	389	8531.85	3515.59	6101.91	2.43	1.40
T185Q	391	9044.23	4012.93	5623.60	2.25	1.61
T185A	395	6156.97	1059.61	1315.46	5.81	4.68
T185E	388	8479.18	3892.33	5330.81	2.18	1.59
N187R	398	7593.11	2370.01	3425.18	3.20	2.22
N187M	402	8605.76	2720.28	4400.27	3.16	1.96
N187K	397	8667.36	3709.62	6374.32	2.34	1.36
R195V	411	8634.05	4960.91	7212.05	1.74	1.20
A198L	416	8795.36	4181.78	5395.22	2.10	1.63
A198M	415	8352.73	3637.79	5914.49	2.30	1.41
S210V	419	7104.17	3939.90	4626.58	1.80	1.54
Y218S	421	7740.61	4093.29	6181.92	1.89	1.25
F223E	422	9650.44	7645.34	9149.09	1.26	1.05
V227W	437	3070.92	1456.45	1695.81	2.11	1.81
L229I	441	7333.92	3268.93	5729.00	2.24	1.28
I240C	448	6170.51	2223.23	2050.31	2.78	3.01

C. Resultados: Mutantes hMMP-1 no reversibles

Treinta y ocho mutantes hMMP-1 se determinaron para ser no reversibles. La actividad de estos mutantes a 34°C o 37°C, que se disminuye comparada con la actividad a 25°C, permanece disminuida cuando disminuye hasta 25°C. Los resultados se muestran en las Tablas 33-36 a continuación, que enlista las actividades (en RFU) y las

relaciones de las actividades. Las Tablas 33 y 34 resumen los resultados o a 34°C o 37°C, respectivamente, de los mutantes hMMP-1 irreversibles bajo la condición de dos horas. Las Tablas 35 y 36 resumen los resultados de reversibilidad a 34°C o 37°C, respectivamente, de los mutantes hMMP-1 irreversibles bajo la condición de durante la noche. Los resultados son similares bajo todas las condiciones de reacción, temperatura y tiempo. La actividad a 34°C o 37°C durante la noche es la misma o similar a la actividad cuando se incuba a 34°C o 37°C durante una hora luego 25°C durante la noche. Por ejemplo, la actividad de D105R a 34°C es 1407 RFU y su actividad a 34°C luego durante la noche a 25°C es 1424 RFU (ver Tabla 35, a continuación).

Tabla 33. Mutantes hMMP-1 no reversibles (2 horas, 34°C)						
mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 34 hasta 25°C	Relación 25°C/ 34°C	Relación 25°C/ 34 to 25°C
L95K	328	4650.42	748.29	833.29	6.21	5.58
D105I	338	6832.34	780.32	908.39	8.76	7.52
D105L	339	4206.38	534.24	630.66	7.87	6.67
D105N	332	8920.05	918.13	1128.03	9.72	7.91
D105R	331	2821.20	722.46	843.19	3.90	3.35
D105W	337	6663.80	1690.93	2266.26	3.94	2.94
D151G	346	1264.62	589.27	664.86	2.15	1.90
F155A	348	2824.01	779.72	735.02	3.62	3.84
D156K	350	8576.47	2210.63	2318.28	3.88	3.70
D156T	352	8727.27	2679.17	2770.95	3.26	3.15
D156L	356	2916.24	576.84	655.46	5.06	4.45
D156A	357	2299.63	533.68	635.67	4.31	3.62
D156W	354	1502.86	539.74	637.12	2.78	2.36
D156V	355	1593.06	534.71	634.83	2.98	2.51
D156H	349	5387.79	698.77	784.55	7.71	6.87
D156R	351	7020.81	793.83	881.39	8.84	7.97
G159V	363	4673.44	856.78	789.92	5.45	5.92
A176F	365	1609.85	654.43	633.13	2.46	2.54
D179N	368	5660.69	644.51	644.98	8.78	8.78
D181L	382	2710.97	619.39	645.65	4.38	4.20
D181K	378	1130.63	625.01	609.58	1.81	1.85
E182T	384	3702.08	791.23	805.48	4.68	4.60
E182Q	383	1331.50	639.84	623.88	2.08	2.13
T185R	390	2637.31	1187.63	1158.47	2.22	2.28
N187F	401	3227.96	877.21	823.16	3.68	3.92
N187I	404	4218.55	849.11	869.19	4.97	4.85
G206A	418	872.27	603.01	592.13	1.45	1.47
G206S	417	932.69	492.65	507.75	1.89	1.84
V227C	433	1998.67	950.01	1115.17	2.10	1.79
V227E	430	7904.54	839.00	906.06	9.42	8.72
Q228P	439	1082.56	607.78	617.33	1.78	1.75
L229T	440	1221.05	580.15	605.83	2.10	2.02
D233E	443	2195.02	1393.95	1332.07	1.57	1.65
I234A	447	2375.42	1473.70	1456.58	1.61	1.63
I234T	446	1199.18	713.83	775.40	1.68	1.55
I234E	444	3920.02	705.86	829.15	5.55	4.73
I240S	449	3867.71	973.97	1027.84	3.97	3.76

Tabla 34. Mutantes hMMP-1 no reversibles (2 horas, 37°C)						
mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 37 °C	RFU 37 hasta 25°C	Relación 25°C/ 37°C	Relación 25°C/ 37 hasta 25°C
L95K	328	4650.42	746.89	1092.61	6.23	4.26
D105I	338	6832.34	1110.07	1104.96	6.15	6.18
D105L	339	4206.38	607.46	624.88	6.92	6.73
D105N	332	8920.05	1727.44	1820.97	5.16	4.90
D105R	331	2821.20	813.68	846.09	3.47	3.33
D105W	337	6663.80	3081.59	3123.49	2.16	2.13
D151G	346	1264.62	616.51	628.65	2.05	2.01
F155A	348	2824.01	746.59	867.76	3.78	3.25
D156K	350	8576.47	2310.30	2080.22	3.71	4.12
D156T	352	8727.27	2752.35	2251.21	3.17	3.88
D156L	356	2916.24	688.08	652.06	4.24	4.47
D156A	357	2299.63	554.21	606.45	4.15	3.79
D156W	354	1502.86	575.12	582.43	2.61	2.58
D156V	355	1593.06	542.36	544.49	2.94	2.93
D156H	349	5387.79	819.82	881.23	6.57	6.11
D156R	351	7020.81	872.40	944.17	8.05	7.44
G159V	363	4673.44	838.46	932.14	5.57	5.01
A176F	365	1609.85	618.72	741.21	2.60	2.17
D179N	368	5660.69	656.31	636.18	8.63	8.90
D181L	382	2710.97	611.92	668.31	4.43	4.06
D181K	378	1130.63	608.68	646.77	1.86	1.75
E182T	384	3702.08	826.28	746.25	4.48	4.96
E182Q	383	1331.50	623.11	629.01	2.14	2.12
T185R	390	2637.31	1183.37	1158.87	2.23	2.28
N187F	401	3227.96	931.04	856.03	3.47	3.77
N187I	404	4218.55	887.80	879.78	4.75	4.80
G206A	418	872.27	586.57	654.37	1.49	1.33
G206S	417	932.69	463.60	552.97	2.01	1.69
V227C	433	1998.67	992.19	1130.51	2.01	1.77
V227E	430	7904.54	1015.12	1127.74	7.79	7.01
Q228P	439	1082.56	586.63	777.28	1.85	1.39
L229T	440	1221.05	564.49	747.87	2.16	1.63
D233E	443	2195.02	1454.71	1976.42	1.51	1.11
I234A	447	2375.42	1594.08	1460.23	1.49	1.63
I234T	446	1199.18	796.81	833.55	1.50	1.44
I234E	444	3920.02	923.57	867.78	4.24	4.52
I240S	449	3867.71	1575.05	1594.10	2.46	2.43

Tabla 35. Mutantes hMMP-1 no reversibles (Durante la noche, 34°C)						
mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 34 °C	RFU 34 hasta	Relación 25°C/	Relación 25°C/

				25°C	34°C	34 hasta 25°C
L95K	328	7744.34	1803.12	1892.59	4.29	4.09
D105I	338	8394.32	1614.57	1736.52	5.20	4.83
D105L	339	6546.78	957.95	988.23	6.83	6.62
D105N	332	9119.04	1459.16	1822.40	6.25	5.00
D105R	331	5775.25	1407.06	1424.59	4.10	4.05
D105W	337	8617.36	2851.22	4709.94	3.02	1.83
D151G	346	1956.65	959.80	1013.03	2.04	1.93
F155A	348	4891.89	2016.76	1493.70	2.43	3.28
D156K	350	8696.27	3968.92	4371.25	2.19	1.99
D156T	352	8972.20	3971.43	4480.62	2.26	2.00
D156L	356	5254.55	972.64	1011.27	5.40	5.20
D156A	357	3585.37	1098.25	1057.84	3.26	3.39
D156W	354	2570.24	1091.27	1126.01	2.36	2.28
D156V	355	2208.99	954.21	954.54	2.31	2.31
D156H	349	7587.19	1451.49	1440.25	5.23	5.27
D156R	351	8622.23	1735.02	1760.60	4.97	4.90
G159V	363	6555.27	1821.53	1524.05	3.60	4.30
A176F	365	4191.69	1414.21	1181.99	2.96	3.55
D179N	368	7317.57	1504.84	1458.70	4.86	5.02
D181L	382	4534.34	1078.98	984.43	4.20	4.61
D181K	378	1869.47	946.27	841.77	1.98	2.22
E182T	384	6752.25	1483.52	1570.77	4.55	4.30
E182Q	383	2212.75	1065.07	929.49	2.08	2.38
T185R	390	6281.97	2425.71	2808.30	2.59	2.24
N187F	401	7352.85	1612.23	1533.32	4.56	4.80
N187I	404	8306.40	1459.25	1598.90	5.69	5.20
G206A	418	2492.53	1038.14	906.63	2.40	2.75
G206S	417	2845.84	908.82	816.00	3.13	3.49
V227C	433	5833.84	2207.20	2739.65	2.64	2.13
V227E	430	8630.90	2283.07	2096.30	3.78	4.12
Q228P	439	3673.33	1162.95	1213.48	3.16	3.03
L229T	440	3543.75	1103.34	1105.90	3.21	3.20
D233E	443	6694.93	2570.71	3171.20	2.60	2.11
I234A	447	6250.56	3890.90	3608.10	1.61	1.73
I234T	446	3507.08	1099.58	1194.99	3.19	2.93
I234E	444	7541.73	1365.08	1817.16	5.52	4.15
I240S	449	4376.99	2108.15	2290.56	2.08	1.91

Tabla 36. Mutantes hMMP-1 no reversibles (Durante la noche, 37°C)						
mutación hMMP-1	SEQ ID NO	RFU 25 °C	RFU 37 °C	RFU 37 hasta 25°C	Relación 25°C/ 37°C	Relación 25°C/ 37 hasta 25°C
L95K	328	7744.34	1677.96	2463.18	4.62	3.14

D105I	338	8394.32	1958.96	1925.73	4.29	4.36
D105L	339	6546.78	1070.51	939.53	6.12	6.97
D105N	332	9119.04	2347.74	2813.87	3.88	3.24
D105R	331	5775.25	1499.57	1312.01	3.85	4.40
D105W	337	8617.36	4593.06	5698.08	1.88	1.51
D151G	346	1956.65	1097.68	900.59	1.78	2.17
F155A	348	4891.89	1843.31	1882.95	2.65	2.60
D156K	350	8696.27	3858.90	4126.13	2.25	2.11
D156T	352	8972.20	3854.84	3990.29	2.33	2.25
D156L	356	5254.55	1232.94	1008.08	4.26	5.21
D156A	357	3585.37	1110.73	940.62	3.23	3.81
D156W	354	2570.24	1206.22	997.15	2.13	2.58
D156V	355	2208.99	997.64	777.35	2.21	2.84
D156H	349	7587.19	1763.27	1536.01	4.30	4.94
D156R	351	8622.23	1846.71	1764.13	4.67	4.89
G159V	363	6555.27	1683.20	1842.91	3.89	3.56
A176F	365	4191.69	1336.32	1553.01	3.14	2.70
D179N	368	7317.57	1485.28	1378.59	4.93	5.31
D181L	382	4534.34	1000.80	1020.08	4.53	4.45
D181K	378	1869.47	928.55	895.45	2.01	2.09
E182T	384	6752.25	1496.55	1319.53	4.51	5.12
E182Q	383	2212.75	1035.24	916.32	2.14	2.41
T185R	390	6281.97	2300.61	2829.34	2.73	2.22
N187F	401	7352.85	1704.23	1533.08	4.31	4.80
N187I	404	8306.40	1465.77	1560.83	5.67	5.32
G206A	418	2492.53	974.96	1057.32	2.56	2.36
G206S	417	2845.84	808.42	908.44	3.52	3.13
V227C	433	5833.84	2432.82	2707.71	2.40	2.15
V227E	430	8630.90	2152.81	2615.26	4.01	3.30
Q228P	439	3673.33	1081.32	1681.57	3.40	2.18
L229T	440	3543.75	1030.05	1488.58	3.44	2.38
D233E	443	6694.93	2661.43	4531.45	2.52	1.48
I234A	447	6250.56	4043.80	3433.03	1.55	1.82
I234T	446	3507.08	1228.23	1397.18	2.86	2.51
I234E	444	7541.73	1901.96	1783.16	3.97	4.23
I240S	449	4376.99	2592.19	3417.53	1.69	1.28

Ejemplo 31

Actividad Proteolítica de hMMP-1 en colágeno insoluble

En este ejemplo, la actividad de colagenasa de hMMP-1 se

evaluó para el colágeno de sustrato de proteína usando análisis SDS-PAGE. El hMMP-1 de tipo natural desdobla colágeno insoluble (cadenas α1 (I) y α2(I)) en productos de digestión de longitud de tres cuartos y un cuarto. En este ensayo, un colágeno conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) se usó como el sustrato y la reacción se vigiló por SDS-PAGE de los productos reacción. El desdoblamiento de cadenas de colágeno α1(I) y α 2(I) resulta en productos de digestión de longitud de tres cuartos y un cuarto que son distinguibles del colágeno de longitud completa por separación en geles de poliacrilamida SDS. Alternativamente, el desdoblamiento se evaluó por análisis fluorométrico. Un ensayo similar puede usarse para evaluar la actividad de hMMP mutantes para la actividad de desdoblamiento a 25°C contra 34°C o 37°C.

A. Análisis SDS-PAGE

En pocas palabras, 2 µg de hMMP-1 (adquirido de R&D Systems, #901-MP; o BAP006_2 y BAP006_10 purificado como se describe en el Ejemplo 27) se diluyó en TCNB que contiene AMPA 1 mM e incubó a la temperatura de reacción (25°C o 37°C) durante 2 horas. Esta etapa de activación desdobla el pro-péptido y genera hMMP-1 maduro. Posteriormente, 6 µg de colágeno insoluble conjugado para isotiocianato de

fluoresceína (FITC) (Anaspec #85111 o Sigma Collagen #C4361) en 20 µl de TCNB se agregó a cada alícuota hMMP-1 activada y la mezcla se incubó a 25°C o 37°C durante 24 horas o 6 días. El desdoblamiento del colágeno insoluble se observó por SDS/PAGE. La mezcla de reacción se separó en un gel de poliacrilamida SDS al 7.5% y visualizó por tinción con pigmento Coomassie Blue. Los resultados SDS/PAGE muestran que después de 24 horas de incubación a 25°C o 37°C, hMMP-1 parcialmente desdobla las cadenas de colágeno α1(I) y α2(I) en productos de digestión de longitud ¾ y ¼ para todas las proteínas hMMP-1 probadas. Después de 6 días a 25°C, se observó el desdoblamiento completo en productos de digestión de longitud ¾ y ¼. Después de 6 días a 37°C, el colágeno se digirió completamente. Los productos de digestión de colágeno de longitud ¾ y ¼ están térmicamente inestables a temperatura corporal.

B. Análisis fluorométrico

Alternativamente, la actividad de colagenasa se midió usando un ensayo de fluorescencia. 5 µg de hMMP-1 (adquirido de R&D Systems, #901 -MP; o BAP006_2 y BAP006_10 purificado como se describe en el Ejemplo 27) se diluyó en TCNB que contiene AMPA 1 mM a una concentración final e incubó a 37°C durante 2 horas. La actividad de hMMP-1 para colágeno

522

etiquetado FITC (Sigma #C4361 o Elastin #CF3O8) se evaluó usando un protocolo adaptado de Baici A et al. (1980) Anal. Biochem., 108: 230-232). Brevemente, hMMP-1 se incubó con el sustrato durante 144 horas a 37°C. Como un control negativo, el sustrato se incubó con solución amortiguadora únicamente. Después de la incubación, la mezcla de reacción se centrifugó primero para remover partículas insolubles. La fluorescencia del sobrenadante se detectó al medir la fluorescencia en un lector de placas fluorescentes a excitación 495 nm/emisión 520 nm. Las unidades de fluorescencia relativas (RFU) se determinaron. Las reacciones duplicadas se realizaron para cada muestra.

Los resultados (ver Tablas 37 y 38 a continuación) muestran que la incubación de colágeno insoluble con hMMP-1 de tipo natural a 37°C durante 144 horas resulta en desdoblamiento de colágeno como se indica por valores RFU altos comparados con la solución amortiguadora únicamente de control. Por ejemplo, para el desdoblamiento de colágeno de Sigma, todos los hMMP probados tienen un RFU entre alrededor de 1000.00-1200.00 comparado con la solución amortiguadora únicamente con un valor RFU de alrededor de 400.00. La actividad de colágenos purificados de CHO-S (BAP006_2) y células BL21 (BAP006_10) para el desdoblamiento de colágeno insoluble Sigma fue comparable con hMMP-1 adquirido de

sistemas R&D. Para el desdoblamiento de colágeno de Elastina, la actividad de hMMP-1 recombinante adquirida de R&D y BAP006_10 fueron alrededor de 3000.00 RFU, mientras que la actividad de BAP006_2 fue alrededor de 2000.00 RFU. La solución amortiguadora únicamente muestra una fluorescencia de respaldo para el desdoblamiento de colágeno de Elastina de alrededor de 1500.00 RFU.

Tabla 37. Desdoblamiento de Colágeno (Sustrato Insoluble Sigma)				
hMMP-1	**37 °C**	**37 °C**	**37°C promedio**	**Desv. Estándar**
Sistemas R&D	1163.17	1137.81	1150.49	17.93
Solución amortiguadora únicamente	481.49	490.57	486.03	6.42
BAP006_2 (CHO)	1265.61	1275.17	1270.39	6.76
BAP006_10 (BL21)	1292.36	1335.14	1313.75	30.25

Tabla 38. Desdoblamiento de Colágeno (Sustrato Insoluble Elastina)				
hMMP-1	**37 °C**	**37 °C**	**37°C promedio**	**Desv. Estándar**
Sistemas R&D	3488.224	2981.417	3235.32	357.66
Solución amortiguadora únicamente	1312.511	1807.479	1560.00	350.00
BAP006_2 (CHO)	1729.757	2297.573	2013.67	401.51
BAP006_10 (BL21)	2669.758	3056.381	2863.07	273.38

Ya que las modificaciones serán aparentes para aquellos de experiencia en esta técnica, se pretende que esta invención se limite únicamente por el alcance de las reivindicaciones anexas.

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito la presente invención, se considera como novedad, y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. El uso de una enzima que degrada matriz activable (AMDE) para la formulación de un medicamento para administración sub-epidérmica en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde: la AMDE se formula en forma inactiva.

2. Una composición farmacéutica formulada para administración sub-epidérmica para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, caracterizada porque comprende una enzima que degrada matriz activable (AMDE) en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde la AMDE se formula en una forma inactiva.

3. El uso de una enzima que degrada matriz activable (AMDE) y activador para la formulación de un medicamento para administración sub-epidérmica en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde: la AMDE es una enzima que degrada matriz que es inactiva en la ECM en

ausencia del activador; y el activador proporciona una condición activante para la ADME de tal manera que la AMDE es activa.

4. Una composición farmacéutica formulada para administración sub-epidérmica para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, caracterizada porque comprende una enzima que degrada matriz activable (AMDE) y un activador en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde: la AMDE es inactiva en la ECM en ausencia del activador; y el activador proporciona una condición activante para la enzima de tal manera que la AMDE es activa.

5. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la formulación o composición es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de AMDE que está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg ó 2 mg hasta 4 mg.

6. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la enzima está sustancialmente inactiva a pH neutro.

7. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que se formula para administración subcutánea, administración intramuscular, administración intralesional o administración intradérmica.

8. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 3-7, en donde el activador se formula en la misma composición como la AMDE o en una composición separada.

9. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en donde las condiciones activantes se seleccionan de entre pH, fuerza iónica, temperatura y iones de metal.

10. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 9, en donde la condición activante es un ión de metal y el ión de metal es Ca^{2+}.

11. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 9, en donde la condición activante es temperatura y la temperatura está o es alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C o 30°C.

12. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 9, en donde la AMDE requiere más de una condición activante para actividad.

13. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 9, en donde la condición activante es pH.

14. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 9 o reivindicación 13, en donde la condición activante es un pH ácido.

15. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde la AMDE se selecciona de entre una catepsina, una calpaina, y una heparanasa.

16. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 15, en donde la AMDE es una catepsina y la catepsina es una cisteína proteasa o proteasa aspártica.

17. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 16, en donde la catepsina se selecciona de entre catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina O, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E.

18. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 17, en donde la catepsina es catepsina L.

19. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 16 ó reivindicación 17, en donde la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionados de cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77,

183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, o es una variantes alélica, o de especies u otra variante de cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96.

20. El uso de una enzima que degrada matriz activable (AMDE) y un activador para la formulación de un medicamento en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde:

la AMDE es inactiva a pH neutro; el activador proporciona una condición activante de pH ácido para activar la enzima; y la AMDE es sustancialmente activa a pH 5.5.

21. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, caracterizada porque comprende una enzima que degrada matriz activable (AMDE) y un activador en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde: la AMDE es inactiva a pH neutro; el activador proporciona una condición activante de pH ácido para activar la enzima; y la AMDE es sustancialmente activa a pH 5.5.

22. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 20 o reivindicación 21, en donde la formulación o composición es para administración de

dosificación sencilla, y contiene una cantidad de AMDE que está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg, ó 2 mg hasta 4 mg.

23. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 20-22, en donde el activador se proporciona en la misma composición como la AMDE o en una composición separada.

24. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 20-23 que se formula para administración subcutánea, intramuscular, intralesional, intradérmica, tópica, transdérmica, intravenosa, oral o rectal.

25. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13-24, en donde el pH es un pH ácido que está o es alrededor de en un intervalo de 3 hasta 6.5, ó 3.5 hasta 6, ó 3 hasta 5.5, ó 3 hasta 4.5, ó 4 hasta 6, ó 4 hasta 5.5, ó 4.5 hasta 5, ó 5 hasta 6.

26. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 25, en donde el pH es alrededor de o es 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6 ó 6.5.

27. El uso o composición de conformidad con cualquiera

de las reivindicaciones 14-26, en donde el activador proporciona la condición activante de pH ácido como una solución amortiguadora al pH.

28. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 27, en donde la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolin)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, fosfato cítrico e histidina.

29. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 27 o reivindicación 28, en donde la fuerza iónica de la solución amortiguadora se selecciona de tal manera que la AMDE es activa por un tiempo predeterminado a pH neutro.

30. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 29, en donde el tiempo predeterminado está o es alrededor de 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos, 5 minutos, 6 minutos, 7 minutos, 8 minutos, 9 minutos, 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 40 minutos, 50 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas ó 4 horas.

31. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 20-30, en donde la AMDE es una enzima lisosomal.

32. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 20-31, en donde la AMDE es una catepsina o una heparanasa.

33. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 32, en donde la AMDE es una catepsina y la catepsina es una cisteína proteasa o proteasa aspártica.

34. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 33, en donde la catepsina se selecciona de entre catepsina B, catepsina F, catepsina H, catepsina K, catepsina L, catepsina V y catepsina D.

35. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 33 o reivindicación 34, en donde la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionados de cualquiera de SEQ ID NOS: 65, 71, 183, 68, 60, 1, 189 y 90, o es una variantes alélica, o de especies u otra variante de cualquiera de SEQ ID NOS: 65, 71, 183, 68, 60, 1, 189 y 90.

36. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 33-35, en donde la catepsina es catepsina L.

37. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-36, en donde la AMDE es un zimógeno.

38. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-36, en donde la AMDE es una proteína madura que es una forma de cadena sencilla o dos cadenas.

39. El uso de una enzima que degrada matriz activable (AMDE) y un activador para la formulación de un medicamento en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde: la AMDE es inactiva en ausencia del activador; el activador proporciona una condición activante para la enzima de tal manera que la AMDE es activa; y

el activador se selecciona de entre iones de metal, temperatura y fuerza iónica.

40. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, caracterizada porque comprende una enzima que degrada matriz activable (AMDE) y un activador en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de la ECM, en donde: la AMDE es inactiva en ausencia del activador; el activador proporciona una condición activante para la enzima de tal manera que la AMDE es activa; y el activador se selecciona de entre iones de metal, temperatura y fuerza iónica.

41. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 39 o reivindicación 40, en donde: la AMDE se modifica hasta ser sensible a la temperatura; y la AMDE es inactiva a 37°C.

42. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 41, en donde la condición activante es temperatura y la temperatura está o es alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C o 30°C.

43. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 39-42, en donde la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una neutrofil elastasa, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de mastocito, una triptasa de mastocito, una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaína 1, una calplaína 2, una legumaína, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, una MMP-1, una MMP-8, una MMP-13, y MMP-18, una MMP-2, una MMP-9, una MMP-3, una MMP-10, una MMP-11, una MMP-7, una MMP-26, una MMP-12, una MMP-14, una MMP-15, una MMP-16, y MMP-17, una MMP-19, una MMP-20, una

ADAMTS-I , una ADAMTS-2, una ADAMTS-3, una ADAMTS-4, una ADAMTS-5, una ADAMTS-14 y una heparansa o variantes alélicas o de especies u otras variantes de las mismas.

44. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 39-43, en donde el activador es una solución amortiguadora fría.

45. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 39-44, en donde el activador se proporciona en la misma composición como la AMDE o en una composición separada.

46. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 39-45 que se formula para administración subcutánea, intramuscular, intralesional, intradérmica, tópica, transdérmica, intravenosa, oral o rectal.

47. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-46, en donde uno o más componentes de ECM se selecciona de entre un colágeno, una elastina, una fibronectina o un proteoglicano.

48. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 47, en donde el componente de ECM es colágeno y el colágeno se selecciona de entre colágeno tipo

I, tipo II, tipo III o tipo IV.

49. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 48, en donde la AMDE tiene una especificidad al sustrato incrementada para colágeno tipo I sobre el colágeno tipo IV.

50. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en donde la enfermedad o afección de la ECM es una enfermedad o afección mediada por colágeno.

51. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 50, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno se selecciona de entre celulosis, enfermedad de Dupuytren, enfermedad de Peyronie, fibrosis de Ledderhose, articulaciones rígidas, cicatrices existentes, escleroderma, linfedema y colitis colagenosa.

52. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 51, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno es articulaciones rígidas que es hombro rígido.

53. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 51, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno es cicatrices existentes que se

selecciona de entre adhesiones quirúrgicas, queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices deprimidas.

54. El uso de una catepsina L activable y un activador para la formulación de un medicamento en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de colágeno de la ECM, en donde: la catepsina L activable es inactiva en ausencia del activador; el activador proporciona una condición activante para la enzima de tal manera que la catepsina L activable es activa; y la condición activante es pH ácido.

55. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por colágeno, caracterizada porque comprende una catepsina L activable y un activador en una cantidad suficiente para degradar uno o más componentes de colágeno de la ECM, en donde: la catepsina L activable es inactiva en ausencia del activador; el activador proporciona una condición activante para la enzima de tal manera que la catepsina L activable es activa; y la condición activante es pH ácido.

56. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 54 y reivindicación 55, en donde la catepsina L tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1 o es una alélica, de especies u otra variante de

la misma.

57. Una combinación, caracterizada porque comprende: una enzima que degrada matriz activable: un activador; y uno o más de otros agentes seleccionados de entre otras biologías, compuestos de molécula pequeña, agentes dispersantes, anestésicos y vasoconstrictores, en donde: la AMDE es inactiva en ausencia del activador; y el activador proporciona una condición activante para la AMDE de tal manera que la AMDE es activa.

58. La combinación de conformidad con la reivindicación 57, caracterizada porque el activador proporciona an condición activante seleccionada de entre pH, iones de metal, temperatura y fuerza iónica.

59. La combinación de conformidad con la reivindicación 57 o reivindicación 58, caracterizada porque la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una neutrofil elastasa, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de mastocito, una triptasa de mastocito, una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaína

1, una calplaína 2, una legumaína, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, una MMP-1, una MMP-8, una MMP-13, and MMP-18, una MMP-2, una MMP-9, una MMP-3, una MMP-10, una MMP-11, una MMP-7, una MMP-26, una MMP-12, una MMP-14, una MMP-15, una MMP-16, y MMP-17, una MMP-19, una MMP-20, una ADAMTS-1, una ADAMTS-2, una ADAMTS-3, una ADAMTS-4, una ADAMTS-5, una ADAMTS-14 y una heparansa o variantes alélicas o de especies u otras variantes de las mismas.

60. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 57-59, caracterizada porque AMDE en la combinación es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de AMDE que es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg, o 2 mg hasta 4 mg.

61. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 57-60, caracterizada porque el otro agente es un agente dispersante que es una hilauronidasa.

62. La combinación de conformidad con la reivindicación 61, caracterizada porque la hialuronidasa es glicosilada.

63. La combinación de conformidad con la reivindicación 61 o reivindicación 62, caracterizada porque la hialuronidasa

es una PH20, o una forma truncada de la misma.

64. La combinación de conformidad con la reivindicación 63, caracterizada porque la PH20 se selecciona de una PH20 de ovino, bovino o humano.

65. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 61-64, caracterizada porque la hialuronidasa es soluble.

66. La combinación de conformidad con la reivindicación 65, caracterizada porque la hialuronidasa tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:226-231, o es una variante alélica o de especies u otra variante de la misma.

67. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 61-66, caracterizada porque la hialuronidasa es una hialuronidasa soluble proporcionada como una composición designada rHuPH20.

68. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 61-67, caracterizada porque la hialuronidasa en la combinación es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de hialuronidasa que está o es alrededor de 10 Unidades hasta 500,000 Unidades, 100 Unidades hasta 100,000 Unidades, 500 Unidades hasta 50,000 Unidades, 1000 Unidades hasta 10,000 Unidades, 5000 Unidades

hasta 7500 Unidades, 5000 Unidades hasta 50,000 Unidades, o 1000 Unidades hasta 10,000 Unidades.

69. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 57-68, caracterizada porque el otro agente es un anestésico que es una lidocaína.

70. La combinación de conformidad con la reivindicación 69, caracterizada porque la lidocaína en la combinación es para administración de dosificación sencilla y contiene una cantidad de lidocaína que está o es alrededor de 10 mg hasta 1000 mg, 100 mg hasta 500 mg, 200 mg hasta 400 mg, 20 mg hasta 60 mg, ó 30 mg hasta 50 mg.

71. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 57-70, caracterizada porque el otro agente es un vasoconstrictor que es un agonista del receptor alfa adrenérgico.

72. La combinación de conformidad con la reivindicación 71, caracterizada porque el agonistá del receptor alfa adrenérgico se selecciona de entre levonordefrina, epinefrina y norepinefrina.

73. La combinación de conformidad con la reivindicación 71, caracterizada porque el agonista del receptor alfa adrenérgico es epinefrina en una cantidad para efectuar

vasoconstricción.

74. La combinación de conformidad con la reivindicación 73, caracterizada porque la epinefrina en la combinación es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de epinefrina que está o es alrededor de 10 µg hasta 5 mg, 50 µg hasta 1 mg, 50 µg hasta 500 µg, 50 µg hasta 250 µg, 100 µg hasta 500 µg, 200 µg hasta 400 µg, 1 mg hasta 5 mg o 2 mg hasta 4 mg.

75. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 57-74, caracterizada porque es para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM.

76. La combinación de conformidad con la reivindicación 75, caracterizada porque la AMDE es catepsina L y la enfermedad o afección de la ECM es celulosis.

77. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende una cantidad de catepsina L para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por ECM durante la administración simultáneamente o secuencialmente con una solución amortiguadora ácida, en donde: la composición se formula para administración de dosificación sencilla; y la solución amortiguadora tiene un pH que activa catepsina L.

78. La composición de conformidad con la reivindicación

77, caracterizada porque la cantidad de catepsina L en la composición está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg, o 2 mg hasta 4 mg.

79. La composición de conformidad con la reivindicación 77 o reivindicación 78, caracterizada porque comprende además uno o más de lidocaína, epinefrina y una hialuronidasa.

80. Una combinación, caracterizada porque comprende una catepsina L activable y una hialuronidasa.

81. La combinación de conformidad con la reivindicación 80, caracterizado porque la hialuronidasa es una composición designada rHuPH20.

82. La combinación de conformidad con la reivindicación 80 o reivindicación 81, caracterizada porque la catepsina L y la hialuronidasa están en composiciones separadas o están en una composición sencilla.

83. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 80-82, caracterizada porque comprende además una solución amortiguadora ácida que activa la catepsina L.

84. La combinación de conformidad con la reivindicación 80 o reivindicación 81, caracterizada porque la catepsina L y la hialuronidasa están en una composición sencilla formulado

como una composición farmacéutica.

85. Un kit, caracterizado porque comprende la combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 57-74 y 80-84, y opcionalmente instrucciones para uso.

86. Un recipiente, caracterizado porque comprende dos compartimentos, en donde: un primer compartimento contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de una enzima que degrada matriz activable (AMDE), en donde la cantidad es para dosificación sencilla o una pluralidad de dosificaciones y una dosificación sencilla es efectiva para el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM; y un segundo compartimiento que contiene un activador, en donde el activador es uno que activa la AMDE.

87. El recipiente de conformidad con la reivindicación 86, caracterizado porque la enzima es sustancialmente activa a pH 5.5.

88. El recipiente de conformidad con las reivindicaciones 86 y 87, caracterizado porque la enzima está sustancialmente inactiva a pH neutro.

89. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-88, caracterizado porque comprende además

un compartimiento de mezclado.

90. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-89, caracterizado porque es un tubo o botella.

91. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-89 que es una jeringa.

92. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-91, caracterizado porque comprende además una aguja para inyección.

93. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-92, caracterizado porque: el activador proporciona una condición activante seleccionada de entre pH, iones de metal o fuerza iónica, y el activador se proporciona en una solución o suspensión líquida.

94. El recipiente de conformidad con la reivindicación 93, caracterizado porque la solución líquida es una solución amortiguadora.

95. El recipiente de conformidad con la reivindicación 93 o reivindicación 94, caracterizado porque el pH es ácido.

96. El recipiente de conformidad con la reivindicación 95, caracterizado porque el pH está o es alrededor de en un

intervalo de 3 hasta 6.5, ó 3.5 hasta 6, ó 3 hasta 5.5, ó 3 hasta 4.5, ó 4 hasta 6, ó 4 hasta 5.5, ó 4.5 hasta 5, ó 5 hasta 6.

97. El recipiente de conformidad con la reivindicación 95, caracterizado porque el pH es alrededor de o es 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6 ó 6.5.

98. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 94-97, caracterizado porque el activador es una solución amortiguadora ácida.

99. El recipiente de conformidad con la reivindicación 98, caracterizado porque la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolin)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, fosfato cítrico e histidina.

100. El recipiente de conformidad con la reivindicación 99, caracterizado porque la fuerza iónica de la solución amortiguadora se selecciona de tal manera que la AMDE es activa por un tiempo predeterminado durante la administración.

101. El recipiente de conformidad con la reivindicación 93, caracterizado porque la condición activante es un ión de metal y el ión de metal es Ca^{2+}.

102. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-101, caracterizado porque la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una neutrofil elastasa, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de mastocito, una triptasa de mastocito, una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaína 1, una calplaína 2, una legumaína, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, una MMP-1, una MMP-8, una MMP-13, and MMP-18, una MMP-2, una MMP-9, una MMP-3, una MMP-10, una MMP- 11, una MMP-7, una MMP-26, una MMP-12, una MMP-14, una MMP-15, una MMP-16, y MMP-17, una MMP-19, una MMP-20, una ADAMTS-1, una ADAMTS-2, una ADAMTS- 3, una ADAMTS-4, una ADAMTS-5, una ADAMTS-14 y una heparansa o variantes alélicas o de especies u otras variantes de las mismas.

103. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-101, caracterizado porque la AMDE se selecciona de entre una catepsina, calpaína y una heparanasa.

104. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-101, caracterizado porque la AMDE es una

enzima lisosomal.

105. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-104, caracterizado porque la AMDE es un zimógeno.

106. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-104, caracterizado porque la AMDE es una proteína madura que es una forma de cadena sencilla o dos cadenas.

107. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 103-106, en donde la AMDE es una catepsina y la catepsina es una cisteína proteasa o proteasa aspártica.

108. El recipiente de conformidad con la reivindicación 107, en donde la catepsina se selecciona de entre catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina O, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E.

109. El recipiente de conformidad con la reivindicación 108, caracterizado porque la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionados de cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, o es una variantes alélica, o de especies variantes u otra variante de cualquiera de SEQ LD NOS: 57, 60, 1, 65,

180, 68, 71 , 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96.

110. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86- 109, caracterizado porque la AMDE y el activador se proporcionan en una cantidad para administraciones de dosificación múltiples.

111. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-109, caracterizado porque la AMDE y el activador se proporcionan en una dosificación unitaria sencilla.

112. El recipiente de conformidad con la reivindicación 111, en donde la AMDE en el recipiente está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg, or 2 mg hasta 4 mg. 113. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-1 12, en donde el volumen total del líquido en el recipiente está o es alrededor de 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, ó 1-10 ml.

114. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-1 13, caracterizado porque la AMDE está en solución o suspensión.

115. El recipiente de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 86-1 13, caracterizado porque la AMDE es liofilizada.

116. Un recipiente, caracterizado porque comprende dos compartimentos, en donde:

un primer compartimento contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de una catepsina L activable, en donde la cantidad es efectiva para el tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM); y

un segundo compartimiento que contiene una solución amortiguadora ácida que es una que activa la catepsina L.

117. El recipiente de conformidad con la reivindicación 116, caracterizado porque el pH de la solución amortiguadora ácida tiene un intervalo que está o es alrededor de 4.5 hasta 6.

118. El recipiente de conformidad con la reivindicación 116 o reivindicación 117, caracterizado porque el pH de la solución amortiguadora ácida está o es alrededor de 4.5, 5, 5.5 ó 6.

119. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 116-118, caracterizado porque la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolin)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido

cítrico, fosfato cítrico e histidina.

120. El recipiente de conformidad con la reivindicación 1 19, caracterizado porque la fuerza iónica de la solución amortiguadora se selecciona de tal manera que la AMDE es activa por un tiempo predeterminado durante la administración.

121. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 116-120, caracterizado porque la catepsina L tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 1, o es una variantes alélica, o de especies u otra variante de SEQ ID NO: 1.

122. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 116-121, caracterizado porque la catepsina L activable es liofilizada.

123. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 116-122, caracterizado porque la catepsina L en el recipiente es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de catepsina L que está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg, o 2 mg hasta 4 mg.

124. El recipiente de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 116-123, caracterizado porque el volumen total en el recipiente está o es alrededor de 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, o 1-10 ml.

125. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 116-124, caracterizado porque la enfermedad o afección de la ECM es una enfermedad o afección mediada por colágeno seleccionada de entre celulosis, enfermedad de Dupuytren, enfermedad de Peyronie, fibrosis de Ledderhose, articulaciones rígidas, cicatrices existentes, escleroderma, linfedema y colitis colagenosa.

126. El recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 16-124, caracterizado porque la enfermedad o afección de la ECM es celulosis.

127. Una combinación, caracterizada porque comprende: el recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-126; y uno o más recipientes adicionales que contienen otro agente farmacológicamente efectivo seleccionado de entre biólogos, compuestos de molécula pequeña, agentes dispersantes, anestésicos y vasoconstrictores y combinaciones de los mismos.

128. La combinación de conformidad con la reivindicación 127, caracterizada porque el agente farmacéuticamente

efectivo es un agente dispersante que es una hialuronidasa.

129. La combinación de conformidad con la reivindicación 128, caracterizada porque la hialuronidasa es PH20.

130. La combinación de conformidad con la reivindicación 128 o reivindicación 129, caracterizada porque la hialuronidasa es soluble.

131. La combinación de conformidad con la reivindicación 130, caracterizada porque la hialuronidasa tiene una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:226, o es una variante alélica o de especies u otra variante de la misma.

132. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 128-131, caracterizada porque la hialuronidasa es glicosilada.

133. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 128-132, caracterizada porque la hialuronidasa en el recipiente es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de hialuronidasa que está o es alrededor de 10 Unidades hasta 500,000 Unidades, 100 Unidades hasta 100,000 Unidades, 500 Unidades hasta 50,000 Unidades, 1000 Unidades hasta 10,000 Unidades, 5000 Unidades hasta 7500 Unidades, 5000 Unidades

hasta 50,000 Unidades, o 1000 Unidades hasta 10,000 Unidades.

134. La combinación de conformidad con la reivindicación 127, caracterizada porque el agente farmacéuticamente efectivo es un anestésico que es lidocaína y la lidocaína en el recipiente es para administración de dosificación sencilla, y contiene una cantidad de lidocaína que está o es alrededor de 10 mg hasta 1000 mg, 100 mg hasta 500 mg, 200 mg hasta 400 mg, 20 mg hasta 60 mg, o 30 mg hasta 50 mg.

135. La combinación de conformidad con la reivindicación 127, caracterizada porque el agente farmacéuticamente efectivo es un vasoconstrictor que es un agonista del receptor alfa adrenérgico.

136. La combinación de conformidad con la reivindicación 135, caracterizada porque el agonista del receptor alfa adrenérgico se selecciona de entre levonordefrina, epinefrina y norepinefrina.

137. La combinación de conformidad con la reivindicación 136, caracterizada porque el agonista del receptor alfa adrenérgico es epinefrina en una cantidad para efectuar vasoconstricción.

138. La combinación de conformidad con la reivindicación 137, caracterizada porque la epinefrina en el recipiente es

para administración de dosificación sencilla, y la cantidad o epinefrina está en o alrededor de 10 µg hasta 5 mg, 50 µg hasta 1 mg, 50 µg hasta 500 µg, 50 µg hasta 250 µg, 100 µg hasta 500 µg, 200 µg hasta 400 µg, 1 mg hasta 5 mg o 2 mg hasta 4 mg.

139. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 127-138, caracterizada porque el agente farmacológicamente efectivos se proporcionan en recipientes separados.

140. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 127-139, caracterizada porque: el recipiente adicional comprende al menos dos agentes farmacológicamente efectivos; y los agentes se proporcionan como composiciones separadas una de la otra.

141. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 127-139, caracterizada porque los agentes farmacológicamente efectivos se proporcionan en el mismo recipiente en la misma composición.

142. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 127-141, caracterizada porque el recipiente adicional contiene una hialuronidasa, lidocaína y epinefrina.

143. La combinación de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 127-142, caracterizada porque el recipiente adicional es una jeringa.

144. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 127-143, caracterizada porque el volumen total en el recipiente adicional está o es alrededor de 1-100 ml, 1-50 ml, 10-50 ml, 10-30 ml, 1-20 ml, ó 1-10 ml.

145. Un kit, caracterizado porque comprende el recipiente de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 86-126, un dispositivo para administración y, opcionalmente instrucciones para administración.

146. Un kit, caracterizado porque comprende la combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 127-144, un dispositivo para administración y, opcionalmente instrucciones para administración.


PROPÉPTIDO
REGIÓN BÁSICA
INTERRUPTOR DE CISTEÍNA
MMP1 ---FPATL---ETQEQDVDLVQKYLEKYYNLKNDGRQVEKRRNSG-PVVEKLKQMQEFFG 53
MMP8 ---FPVS-----SKEKNTKTVQDYLEKFYQLPSNQYQSTRKNGTN-VIVEKLKEMQRFFG 51
MMP13 -LPLPSGGDEDDLSEEDLQFAERYLRSYYHP-TNLAGILKENAAS-SMTERLREMQSFFG 57
MMP18 ---FPADKQ-DEPPATKEEMAENYLKRFYSLGTDGGPVGRKKHIQ-PFTEKLEQMQKFFG 55
MMP2 AP----SPIIKFPGDVAP-KTDKELAVQYLN--TFYGCPKESCNLFVLKDTLKKMQKFFG 53
MMP9 APRQRQSTLVLFPGDLRTNLTDRQLAEEYLYRYGYTRVAEMRGESKSLGPALLLLQKQLS 60
MMP3 ---YPLDGA-ARGEDTSMNLVQKYLENYYDLKKDVKQFVRRKDSG-PVVKKIREMQKFLG 55
MMP10 ---YPLSGA-AKEEDSNKDLAQQYLEKYYNLEKDVKQFRR-KDSN-LIVKKIQGMQKFLG 54
MMP11 ----------RALPPDVHHLHAERRGP---QPWHAALPSSPA 29
MMP7 ---LPLPQEAGGMSELQWEQAQDYLKRFYLYDSETK------NAN-SLEAKLKEMQKFFG 50
MMP26 ---VPVPPA---ADHKGWDFVEGYFHQFFLTK---------KESPLLTQETQTQLLQQFH 45
MMP12 ---LPLNSS-TSLEKNNVLFGERYLEKFYGLEINKLPVTKMKYSGNLMKEKIQEMQHFLG 56
MMP19 ----------GRVLGLAEVAPVDYLSQYGYLQKPLEGSNNFKPED--ITEALRAFQEASE 48
MMP1 LKVTGKPDAETLKVMKQPRCGVPDVA--------QFVLTEGNPRWEQTHLTYRIENYTPD 105
MMP8 LNVTGKPNEETLDMMKKPRCGVPDSG--------GFMLTPGNPKWERTNLTYRIRNYTPQ 103
MMP13 LEVTGKLDDNTLDVMKKPRCGVPDVG--------EYNVFPRTLKWSKMNLTYRIVNYTPD 109
MMP18 LKVTGTLDPKTVEVMEKPRCGVYDVG--------QYSTVAKSSAWQKKDLTYRILNFTPD 107
MMP2 LPQTGDLDQNTIETMRKPRCGNPDVA--------NYNFFPRKPKWDKNQITYRIIGYTPD 105
MMP9 LPETGELDSATLKAMRTPRCGVPDLG--------RFQTFEGDLKWHHHNITYWIQNYSED 112
MMP3 LEVTGKLDSDTLEVMRKPRCGVPDVG--------HFRTFPGIPKWRKTHLTYRIVNYTPD 107
MMP10 LEVTGKLDTDTLEVMRKPRCGVPDVG--------HFSSFPGMPKWRKTHLTYRIVNYTPD 106
MMP11 PAPATQEAPRPASSLRPPRCGVPDPSDGLSARNRQKRFVLSGGRWEKTDLTYRILRFPWQ 89
MMP7 LPITGMLNSRVIEIMQKPRCGVPDVA--------EYSLFPNSPKWTSKVVTYRIVSYTRD 102
MMP26 RNGTDLLDMQMHALLHQPHCGVPDGS--------DTSISPGRCKWNKHTLTYRIINYPHD 97
MMP12 LKVTGQLDTSTLEMMHAPRCGVPDVH--------HFREMPGGPVWRKHYITYRINNYTPD 108
MMP19 LPVSGQLDDATRARMRQPRCGLEDPFN------QKTLKYLLLGRWRKKHLTFRILNLPST 102

FIG. 1

1/11

GS8

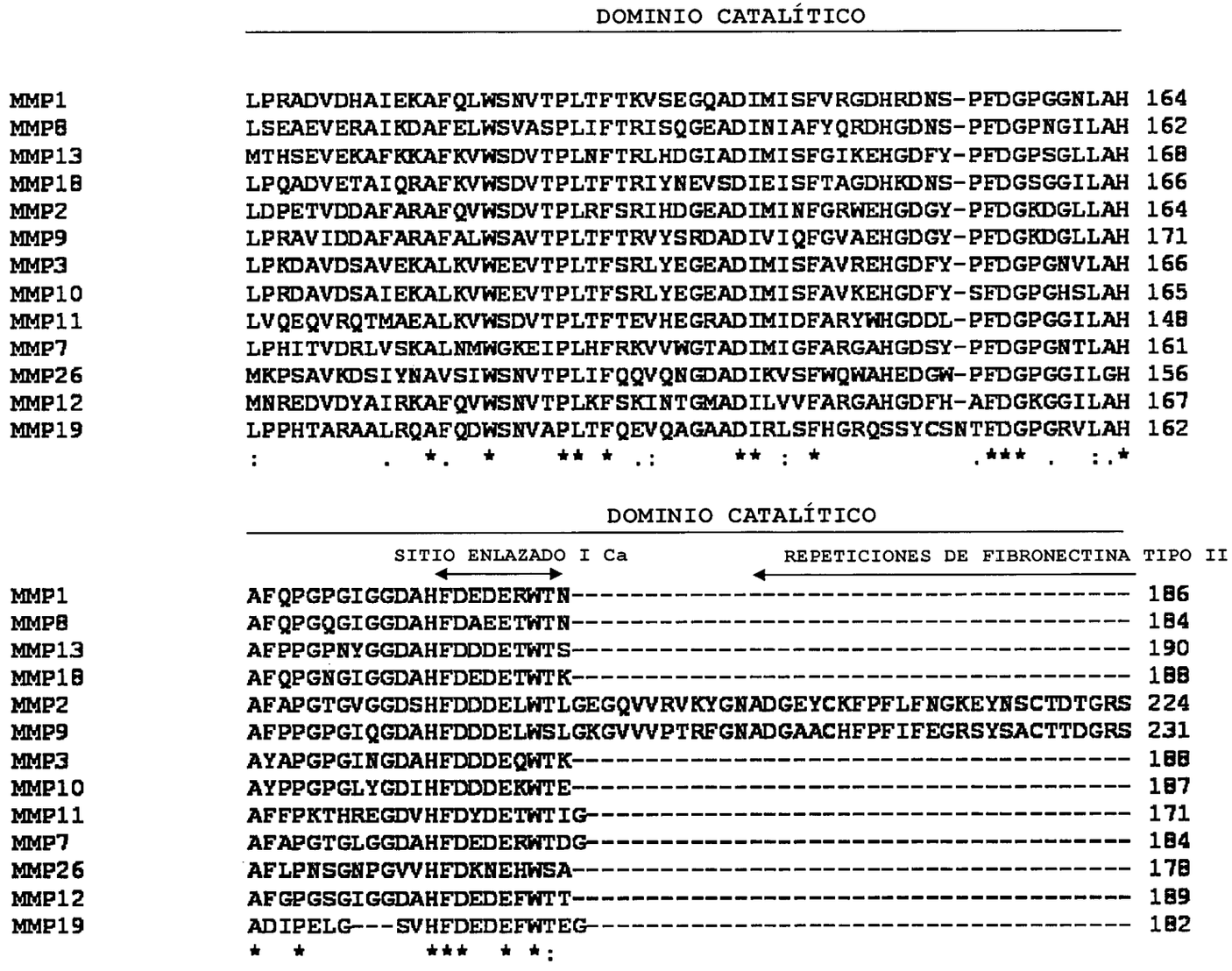

DOMINIO CATALÍTICO
MMP1 LPRADVDHAIEKAFQLWSNVTPLTFTKVSEGQADIMISFVRGDHRDNS-PFDGPGGNLAH 164
MMP8 LSEAEVERAIKDAFELWSVASPLIFTRISQGEADINIAFYQRDHGDNS-PFDGPNGILAH 162
MMP13 MTHSEVEKAFKKAFKVWSDVTPLNFTRLHDGIADIMISFGIKEHGDFY-PFDGPSGLLAH 168
MMP18 LPQADVETAIQRAFKVWSDVTPLTFTRIYNEVSDIEISFTAGDHKDNS-PFDGSGGILAH 166
MMP2 LDPETVDDAFARAFQVWSDVTPLRFSRIHDGEADIMINFGRWEHGDGY-PFDGKDGLLAH 164
MMP9 LPRAVIDDAFARAFALWSAVTPLTFTRVYSRDADIVIQFGVAEHGDGY-PFDGKDGLLAH 171
MMP3 LPKDAVDSAVEKALKVWEEVTPLTFSRLYEGEADIMISFAVREHGDFY-PFDGPGNVLAH 166
MMP10 LPRDAVDSAIEKALKVWEEVTPLTFSRLYEGEADIMISFAVKEHGDFY-SFDGPGHSLAH 165
MMP11 LVQEQVRQTMAEALKVWSDVTPLTFTEVHEGRADIMIDFARYWHGDDL-PFDGPGGILAH 148
MMP7 LPHITVDRLVSKALNMWGKEIPLHFRKVVWGTADIMIGFARGAHGDSY-PFDGPGNTLAH 161
MMP26 MKPSAVKDSIYNAVSIWSNVTPLIFQQVQNGDADIKVSFWQWAHEDGW-PFDGPGGILGH 156
MMP12 MNREDVDYAIRKAFQVWSNVTPLKFSKINTGMADILVVFARGAHGDFH-AFDGKGGILAH 167
MMP19 LPPHTARAALRQAFQDWSNVAPLTFQEVQAGAADIRLSFHGRQSSYCSNTFDGPGRVLAH 162
DOMINIO CATALÍTICO
SITIO ENLAZADO I Ca
REPETICIONES DE FIBRONECTINA TIPO II
MMP1 AFQPGPGIGGDAHFDEDERWTN---------- 186
MMP8 AFQPGQGIGGDAHFDAEETWTN---------- 184
MMP13 AFPPGPNYGGDAHFDDDETWTS---------- 190
MMP18 AFQPGNGIGGDAHFDEDETWTK---------- 188
MMP2 AFAPGTGVGGDSHFDDDELWTLGEGQVVRVKYGNADGEYCKFPFLFNGKEYNSCTDTGRS 224
MMP9 AFPPGPGIQGDAHFDDDELWSLGKGVVVPTRFGNADGAACHFPFIFEGRSYSACTTDGRS 231
MMP3 AYAPGPGINGDAHFDDDEQWTK---------- 188
MMP10 AYPPGPGLYGDIHFDDDEKWTE---------- 187
MMP11 AFFPKTHREGDVHFDYDETWTIG---------- 171
MMP7 AFAPGTGLGGDAHFDEDERWTDG---------- 184
MMP26 AFLPNSGNPGVVHFDKNEHWSA---------- 178
MMP12 AFGPGSGIGGDAHFDEDEFWTT---------- 189
MMP19 ADIPELG---SVHFDEDEFWTEG---------- 182

FIG. 1

659

DOMINIO CATALÍTICO
REPETICIONES DE FIBRONECTINA TIPO II
MMP1
MMP8
MMP13
MMP18
MMP2
MMP9
MMP3
MMP10
MMP11
MMP7
MMP26
MMP12
MMP19
DGFLWCSTTYNFEKDGKYGFCPHEALFTMGGNAEGQPCKFPFRFQGTSYDSCTTEGRTDG 284
DGLPWCSTTANYDTDDRFGFCPSERLYTQDGNADGKPCQFPFIFQGQSYSACTTDGRSDG 291
DOMINIO CATALÍTICO
REPETICIONES DE FIBRONECTINA TIPO II
YRWCGTTEDYDRDKKYGFCPETAMSTVGG-NSEGAPCVFPFTFLGNKYESCTSAGRSDGK 343
YRWCATTANYDRDKLFGFCPTRADSTVMGGNSAGELCVFPFTFLGKEYSTCTSEGRGDGR 351

FIG. 1

560

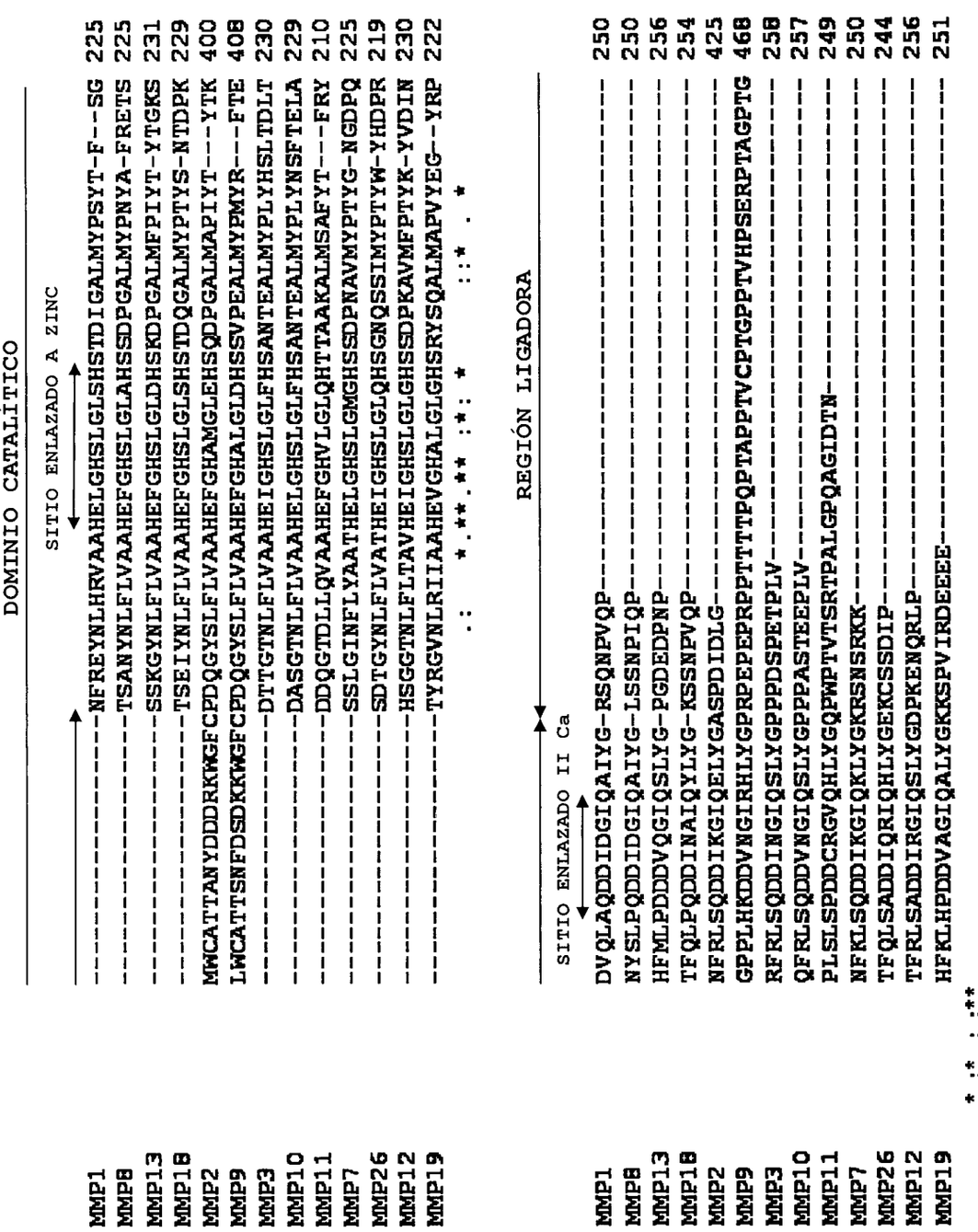

DOMINIO CATALÍTICO
SITIO ENLAZADO A ZINC
REGIÓN LIGADORA
SITIO ENLAZADO II Ca
MMP1 ----------NFREYNLHRVAAHELGHSLGLSHSTDIGALMYPSYT-F--SG 225
MMP8 ----------TSANYNLFLVAAHEFGHSLGLAHSSDPGALMYPNYA-FRETS 225
MMP13 ----------SSKGYNLFLVAAHEFGHSLGLDHSKDPGALMFPIYT-YTGKS 231
MMP18 ----------TSEIYNLFLVAAHEFGHSLGLSHSTDQGALMYPTYS-NTDPK 229
MMP2 MWCATTANYDDDRKWGFCPDQGYSLFLVAAHEFGHAMGLEHSQDPGALMAPIYT---YTK 400
MMP9 LWCATTSNFDSDKKWGFCPDQGYSLFLVAAHEFGHALGLDHSSVPEALMYPMYR---FTE 408
MMP3 ----------DTTGTNLFLVAAHEIGHSLGLFHSANTEALMYPLYHSLTDLT 230
MMP10 ----------DASGTNLFLVAAHELGHSLGLFHSANTEALMYPLYNSFTELA 229
MMP11 ----------DDQGTDLLQVAAHEFGHVLGLQHTTAAKALMSAFYT---FRY 210
MMP7 ----------SSLGINFLYAATHELGHSLGMGHSSDPNAVMYPTYG-NGDPQ 225
MMP26 ----------SDTGYNLFLVATHEIGHSLGLQHSGNQSSIMYPTYW-YHDPR 219
MMP12 ----------HSGGTNLFLTAVHEIGHSLGLGHSSDPKAVMFPTYK-YVDIN 230
MMP19 ----------TYRGVNLRIIAAHEVGHALGLGHSRYSQALMAPVYEG--YRP 222
.: *.**.** :*: * ::* . *
MMP1 DVQLAQDDIDGIQAIYG-RSQNPVQP---------- 250
MMP8 NYSLPQDDIDGIQAIYG-LSSNPIQP---------- 250
MMP13 HFMLPDDDVQGIQSLYG-PGDEDPNP---------- 256
MMP18 TFQLPQDDINAIQYLYG-KSSNPVQP---------- 254
MMP2 NFRLSQDDIKGIQELYGASPDIDLG---------- 425
MMP9 GPPLHKDDVNGIRHLYGPREPEPRPPTTTPQPTAPPTVCPTGPPTVHPSERPTAGPTG 468
MMP3 RFRLSQDDINGIQSLYGPPPDSPETPLV---------- 258
MMP10 QFRLSQDDVNGIQSLYGPPASTEEPLV---------- 257
MMP11 PLSLSPDDCRGVQHLYGQPWPTVTSRTPALGPQAGIDTN---------- 249
MMP7 NFKLSQDDIKGIQKLYGKRSNSRKK---------- 250
MMP26 TFQLSADDIQRIQHLYGEKCSSDIP---------- 244
MMP12 TFRLSADDIRGIQSLYGDPKENQRLP---------- 256
MMP19 HFKLHPDDVAGIQALYGKKSPVIRDEEEE---------- 251
* :* : :**

FIG. 1

561

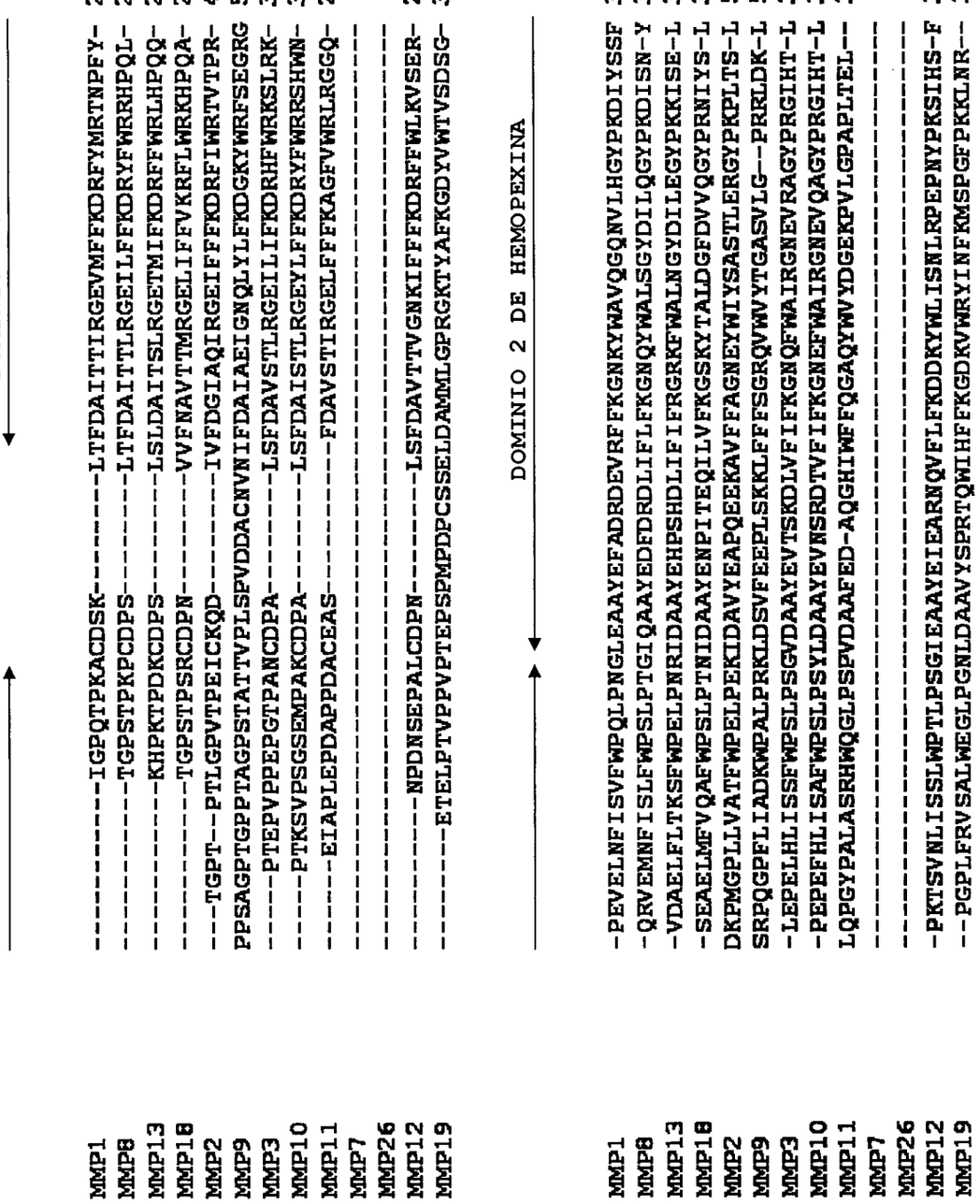

DOMINIO 1 DE HEMOPEXINA
DOMINIO 2 DE HEMOPEXINA
MMP1 ----------IGPQTPKACDSK---------LTFDAITTIRGEVMFFKDRFYMRTNPFY- 290
MMP8 ----------TGPSTPKPCDPS---------LTFDAITTLRGEILFFKDRYFWRRHPQL- 290
MMP13 ----------KHPKTPDKCDPS---------LSLDAITSLRGETMIFKDRFFWRLHPQQ- 296
MMP18 ----------TGPSTPSRCDPN---------VVFNAVTTMRGELIFFVKRFLWRKHPQA- 294
MMP2 ---TGPT--PTLGPVTPEICKQD---------IVFDGIAQIRGEIFFFKDRFIWRTVTPR- 471
MMP9 PPSAGPTGPPTAGPSTATTVPLSPVDDACNVNIFDAIAEIGNQLYLFKDGKYWRFSEGRG 528
MMP3 -----PTEPVPPEPGTPANCDPA---------LSFDAVSTLRGEILIFKDRHFWRKSLRK- 304
MMP10 -----PTKSVPSGSEMPAKCDPA---------LSFDAISTLRGEYLFFKDRYFWRRSHWN- 303
MMP11 ------EIAPLEPDAPPDACEAS---------FDAVSTIRGELFFFKAGFVWRLRGGQ- 292
MMP7 ----------
MMP26 ----------
MMP12 ----------NPDNSEPALCDPN---------LSFDAVTTVGNKIFFFKDRFFWLKVSER- 297
MMP19 ----------ETELPTVPPVPTEPSPMPDPCSSELDAMMLGPRGKTYAFKGDYVWTVSDSG- 302
MMP1 -PEVELNFISVFWPQLPNGLEAAYEFADRDEVRFFKGNKYWAVQGQNVLHGYPKDIYSSF 349
MMP8 -QRVEMNFISLFWPSLPTGIQAAYEDFDRDLIFLFKGNQYWALSGYDILQGYPKDISN-Y 348
MMP13 -VDAELFLTKSFWPELPNRIDAAYEHPSHDLIFIFRGRKFWALNGYDILEGYPKKISE-L 354
MMP18 -SEAELMFVQAFWPSLPTNIDAAYENPITEQILVFKGSKYTALDGFDVVQGYPRNIYS-L 352
MMP2 DKPMGPLLVATFWPELPEKIDAVYEAPQEEKAVFFAGNEYWIYSASTLERGYPKPLTS-L 530
MMP9 SRPQGPFLIADKWPALPRKLDSVFEEPLSKKLFFFSGRQVWVYTGASVLG--PRRLDK-L 585
MMP3 -LEPELHLISSFWPSLPSGVDAAYEVTSKDLVFIFKGNQFWAIRGNEVRAGYPRGIHT-L 362
MMP10 -PEPEFHLISAFWPSLPSYLDAAYEVWSRDTVFIFKGNEFWAIRGNEVQAGYPRGIHT-L 361
MMP11 LQPGYPALASRHWQGLPSPVDAAFED-AQGHIWFFQGAQYWVYDGEKPVLGPAPLTEL-- 349
MMP7 ----------
MMP26 ----------
MMP12 -PKTSVNLISSLWPTLPSGIEAAYEIEARNQVFLFKDDKYWLISNLRPEPNYPKSIHS-F 355
MMP19 --PGPLFRVSALWEGLPGNLDAAVYSPRTQWIHFFKGDKVWRYINFKMSPGFPKKLNR-- 358

FIG. 1

562

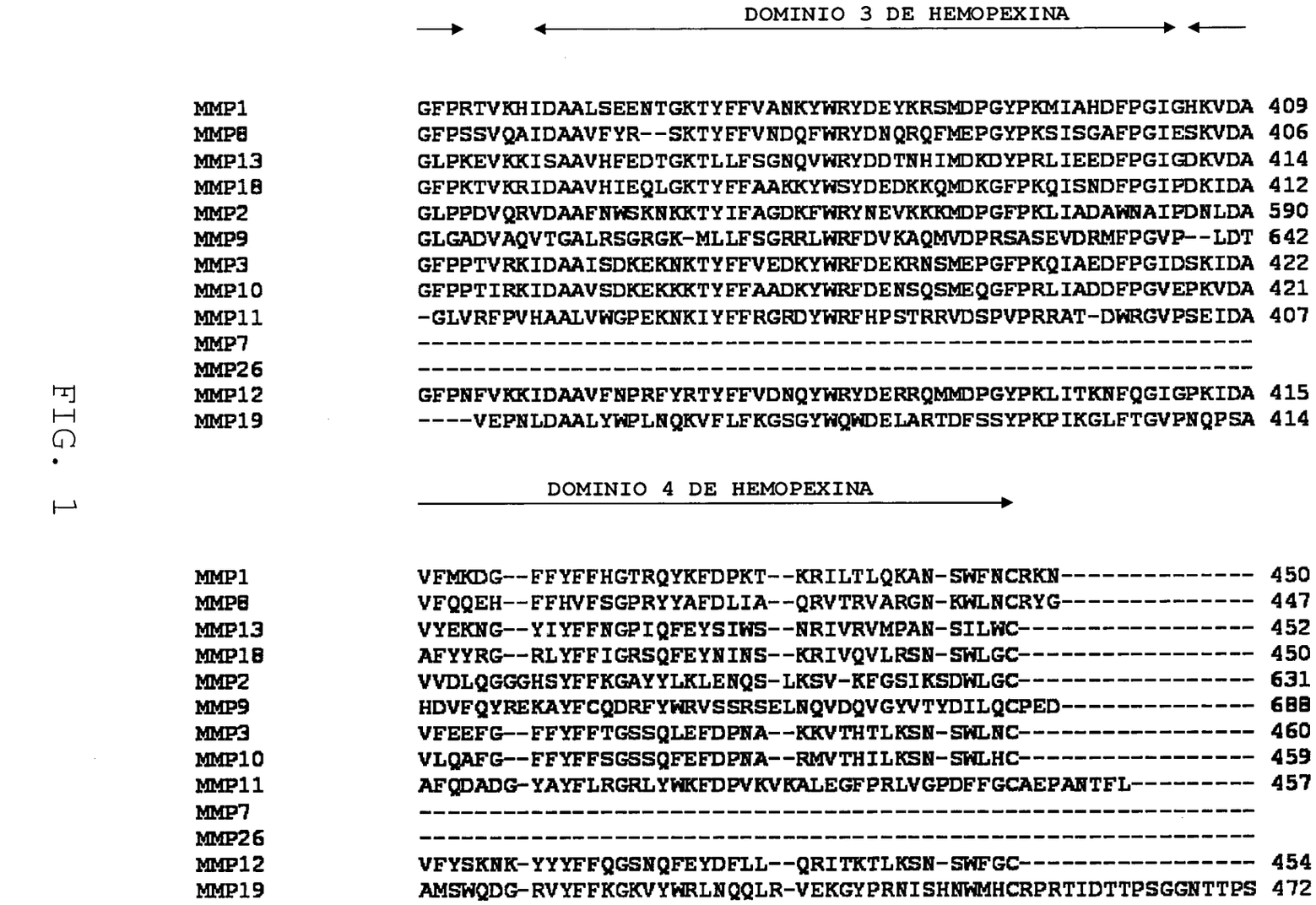

DOMINIO 3 DE HEMOPEXINA
MMP1 GFPRTVKHIDAALSEENTGKTYFFVANKYWRYDEYKRSMDPGYPKMIAHDFPGIGHKVDA 409
MMP8 GFPSSVQAIDAAVFYR--SKTYFFVNDQFWRYDNQRQFMEPGYPKSISGAFPGIESKVDA 406
MMP13 GLPKEVKKISAAVHFEDTGKTLLFSGNQVWRYDDTNHIMDKDYPRLIEEDFPGIGDKVDA 414
MMP18 GFPKTVKRIDAAVHIEQLGKTYFFAAKKYWSYDEDKKQMDKGFPKQISNDFPGIPDKIDA 412
MMP2 GLPPDVQRVDAAFNWSKNKKTYIFAGDKFWRYNEVKKKMDPGFPKLIADAWNAIPDNLDA 590
MMP9 GLGADVAQVTGALRSGRGK-MLLFSGRRLWRFDVKAQMVDPRSASEVDRMFPGVP--LDT 642
MMP3 GFPPTVRKIDAAISDKEKNKTYFFVEDKYWRFDEKRNSMEPGFPKQIAEDFPGIDSKIDA 422
MMP10 GFPPTIRKIDAAVSDKEKKKTYFFAADKYWRFDENSQSMEQGFPRLIADDFPGVEPKVDA 421
MMP11 -GLVRFPVHAALVWGPEKNKIYFFRGRDYWRFHPSTRRVDSPVPRRAT-DWRGVPSEIDA 407
MMP7 ----------
MMP26 ----------
MMP12 GFPNFVKKIDAAVFNPRFYRTYFFVDNQYWRYDERRQMMDPGYPKLITKNFQGIGPKIDA 415
MMP19 ----VEPNLDAALYWPLNQKVFLFKGSGYWQWDELARTDFSSYPKPIKGLFTGVPNQPSA 414
DOMINIO 4 DE HEMOPEXINA
MMP1 VFMKDG--FFYFFHGTRQYKFDPKT--KRILTLQKAN-SWFNCRKN---------- 450
MMP8 VFQQEH--FFHVFSGPRYYAFDLIA--QRVTRVARGN-KWLNCRYG---------- 447
MMP13 VYEKNG--YIYFFNGPIQFEYSIWS--NRIVRVMPAN-SILWC---------- 452
MMP18 AFYYRG--RLYFFIGRSQFEYNINS--KRIVQVLRSN-SWLGC---------- 450
MMP2 VVDLQGGGHSYFFKGAYYLKLENQS-LKSV-KFGSIKSDWLGC---------- 631
MMP9 HDVFQYREKAYFCQDRFYWRVSSRSELNQVDQVGYVTYDILQCPED---------- 688
MMP3 VFEEFG--FFYFFTGSSQLEFDPNA--KKVTHTLKSN-SWLNC---------- 460
MMP10 VLQAFG--FFYFFSGSSQFEFDPNA--RMVTHILKSN-SWLHC---------- 459
MMP11 AFQDADG-YAYFLRGRLYWKFDPVKVKALEGFPRLVGPDFFGCAEPANTFL--------- 457
MMP7 ----------
MMP26 ----------
MMP12 VFYSKNK-YYYFFQGSNQFEYDFLL--QRITKTLKSN-SWFGC---------- 454
MMP19 AMSWQDG-RVYFFKGKVYWRLNQQLR-VEKGYPRNISHNWMHCRPRTIDTTPSGGNTTPS 472

FIG. 1

6/11

563

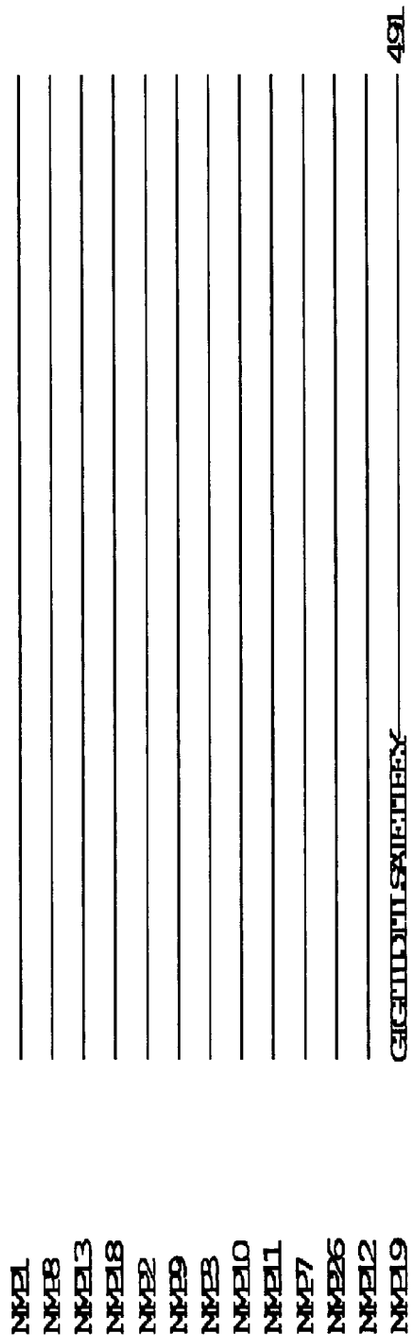

491
CIRCUIT SIMULATION
NM1
NM8
NM13
NM18
NM2
NM9
NM3
NM10
NM11
NM7
NM25
NM12
NM19

FIG. 1

564

```
MMP1            ----------------------------------FVLTEGNPRWEQTHLTYRIENYTPD 105
MMP8            -----------------------------------LTPGNPKWERTNLTYRIRNYTPQ 103
MMP13           ----------------------------------YNVFPRTLKWSKMNLTYRIVNYTPD 109
MMP18           ----------------------------------YSTVAKSSAWQKKDLTYRILNFTPD 107
MMP2            ----------------------------------YNFFPRKPKWDKNQITYRIIGYTPD 105
MMP9            ----------------------------------FQTFEGDLKWHHHNITYWIQNYSED 112
MMP3            ----------------------------------FRTFPGIPKWRKTHLTYRIVNYTPD 107
MMP10           ----------------------------------FSSFPGMPKWRKTHLTYRIVNYTPD 106
MMP11           -----------------------------------FVLSGGRWEKTDLTYRILRFPWQ 89
MMP7            ----------------------------------YSLFPNSPKWTSKVVTYRIVSYTRD 102
MMP26           ----------------------------------TSISPGRCKWNKHTLTYRIINYPHD 97
MMP12           ----------------------------------FREMPGGPVWRKHYITYRINNYTPD 108
MMP19           -----------------------------------YLLLGRWRKKHLTFRILNLPST 102
                                                     *    ::: :   .

MMP1            LPRADVDHAIEKAFQLWSNVTPLTFTKVSEGQADIMISFVRGDHRDNS-PFDGPGGNLAH 164
MMP8            LSEAEVERAIKDAFELWSVASPLIFTRISQGEADINIAFYQRDHGDNS-PFDGPNGILAH 162
MMP13           MTHSEVEKAFKKAFKVWSDVTPLNFTRLHDGIADIMISFGIKEHGDFY-PFDGPSGLLAH 168
MMP18           LPQADVETAIQRAFKVWSDVTPLTFTRIYNEVSDIEISFTAGDHKDNS-PFDGSGGILAH 166
MMP2            LDPETVDDAFARAFQVWSDVTPLRFSRIHDGEADIMINFGRWEHGDGY-PFDGKDGLLAH 164
MMP9            LPRAVIDDAFARAFALWSAVTPLTFTRVYSRDADIVIQFGVAEHGDGY-PFDGKDGLLAH 171
MMP3            LPKDAVDSAVEKALKVWEEVTPLTFSRLYEGEADIMISFAVREHGDFY-PFDGPGNVLAH 166
MMP10           LPRDAVDSAIEKALKVWEEVTPLTFSRLYEGEADIMISFAVKEHGDFY-SFDGPGHSLAH 165
MMP11           LVQEQVRQTMAEALKVWSDVTPLTFTEVHEGRADIMIDFARYWHGDDL-PFDGPGGILAH 148
MMP7            LPHITVDRLVSKALNMWGKEIPLHFRKVVWGTADIMIGFARGAHGDSY-PFDGPGNTLAH 161
MMP26           MKPSAVKDSIYNAVSIWSNVTPLIFQQVQNGDADIKVSFWQWAHEDGW-PFDGPGGILGH 156
MMP12           MNREDVDYAIRKAFQVWSNVTPLKFSKINTGMADILVVFARGAHGDFH-AFDGKGGILAH 167
MMP19           LPPHTARAALRQAFQDWSNVAPLTFQEVQAGAADIRLSFHGRQSSYCSNTFDGPGRVLAH 162
                :        . *.  *    ** * .:     ** : *          .*** .  :.*
```

FIG. 2

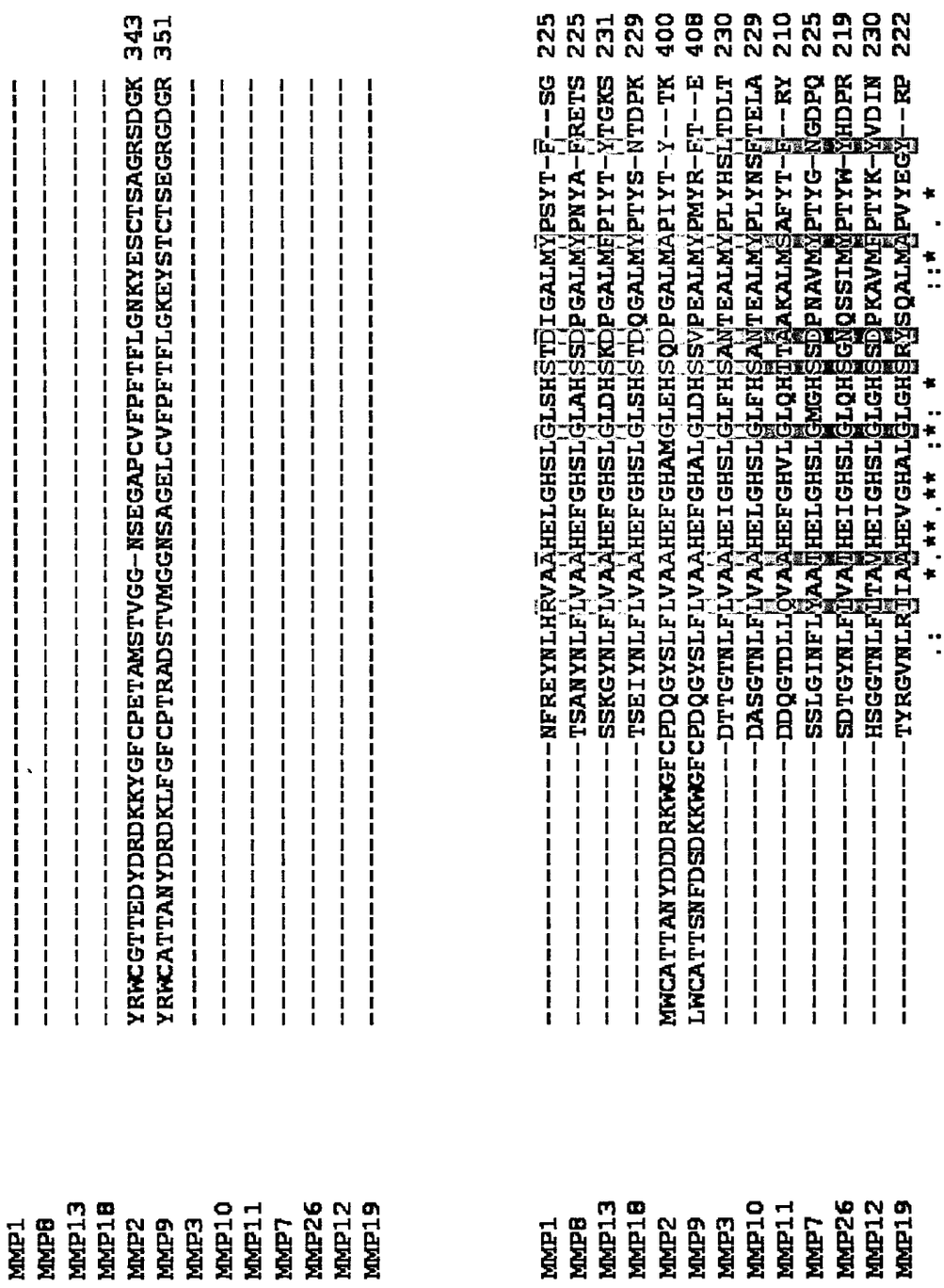
SGS

```
MMP1        AFQPGPGIGGDAHFDEDERWTN---------------------------------- 186
MMP8        AFQPGQGIGGDAHFDAEETWTN---------------------------------- 184
MMP13       AFPPGPNYGGDAHFDDDETWTS---------------------------------- 190
MMP18       AFQPGNGIGGDAHFDEDETWTK---------------------------------- 188
MMP2        AFAPGTGVGGDSHFDDDELWTLGEGQVVRVKYGNADGEYCKFPFLFNGKEYNSCTDTGRS 224
MMP9        AFPPGPGIQGDAHFDDDELWSLGKGVVVPTRFGNADGAACHFPFIFEGRSYSACTTDGRS 231
MMP3        AYAPGPGINGDAHFDDDEQWTK---------------------------------- 188
MMP10       AYPPGPGLYGDIHFDDDEKWTE---------------------------------- 187
MMP11       AFFPKTHREGDVHFDYDETWTIG--------------------------------- 171
MMP7        AFAPGTGLGGDAHFDEDERWTDG--------------------------------- 184
MMP26       AFLPNSGNPGVVHFDKNEHWSA---------------------------------- 178
MMP12       AFGPGSGIGGDAHFDEDEFWTT---------------------------------- 189
MMP19       ADIPELG---SVHFDEDEFWTEG--------------------------------- 182
                    *  *        ***  * *:

MMP1        ------------------------------------------------------------
MMP8        ------------------------------------------------------------
MMP13       ------------------------------------------------------------
MMP18       ------------------------------------------------------------
MMP2        DGFLWCSTTYNFEKDGKYGFCPHEALFTMGGNAEGQPCKFPFRFQGTSYDSCTTEGRTDG 284
MMP9        DGLPWCSTTANYDTDDRFGFCPSERLYTQDGNADGKPCQFPFIFQGQSYSACTTDGRSDG 291
MMP3        ------------------------------------------------------------
MMP10       ------------------------------------------------------------
MMP11       ------------------------------------------------------------
MMP7        ------------------------------------------------------------
MMP26       ------------------------------------------------------------
MMP12       ------------------------------------------------------------
MMP19       ------------------------------------------------------------
```

FIG. 2

996


MMP1 ----------NFREYNLHRVAAHELGHSLGLSHSTDIGALMYPSYT-F--SG 225
MMP8 ----------TSANYNLFLVAAHEFGHSLGLAHSSDPGALMYPNYA-FRETS 225
MMP13 ----------SSKGYNLFLVAAHEFGHSLGLDHSKDPGALMEPIYT-YTGKS 231
MMP18 ----------TSEIYNLFLVAAHEFGHSLGLSHSTDQGALMYPTYS-NTDPK 229
MMP2 MWCATTANYDDDRKWGFCPDQGYSLFLVAAHEFGHAMGLEHSQDPGALMAPIYT-Y--TK 400
MMP9 LWCATTSNFDSDKKWGFCPDQGYSLFLVAAHEFGHALGLDHSSVPEALMYPMYR-FT--E 408
MMP3 ----------DTTGTNLFLVAAHEIGHSLGLFHSANTEALMYPLYHSLTDLT 230
MMP10 ----------DASGTNLFLVAAHELGHSLGLFHSANTEALMYPLYNSFTELA 229
MMP11 ----------DDQGTDLLQVAAHEFGHVLGLQHTTAKALMSAFYT-F--RY 210
MMP7 ----------SSLGINFLYAAHELGHSLGMGHSSDPNAVMYPTYG-NGDPQ 225
MMP26 ----------SDTGYNLFLVAHEIGHSLGLQHSGNQSSIMYPTYW-YHDPR 219
MMP12 ----------HSGGTNLFLTAVHEIGHSLGLGHSSDPKAVMFPTYK-YVDIN 230
MMP19 ----------TYRGVNLRTIAAHEVGHALGLGHSRYSQALMAPVYEGY--RP 222
.: *.**.** :*: * ::* . *
MMP1
MMP8
MMP13
MMP18
MMP2
MMP9
MMP3
MMP10
MMP11
MMP7
MMP26
MMP12
MMP19

YRWCGTTEDYDRDKKYGFCPETAMSTVGG-NSEGAPCVFPFTFLGNKYESCTSAGRSDGK 343
YRWCATTANYDRDKLFGFCPTRADSTVMGGNSAGELCVFPFTFLGKEYSTCTSEGRGDGR 351

FIG. 2

567

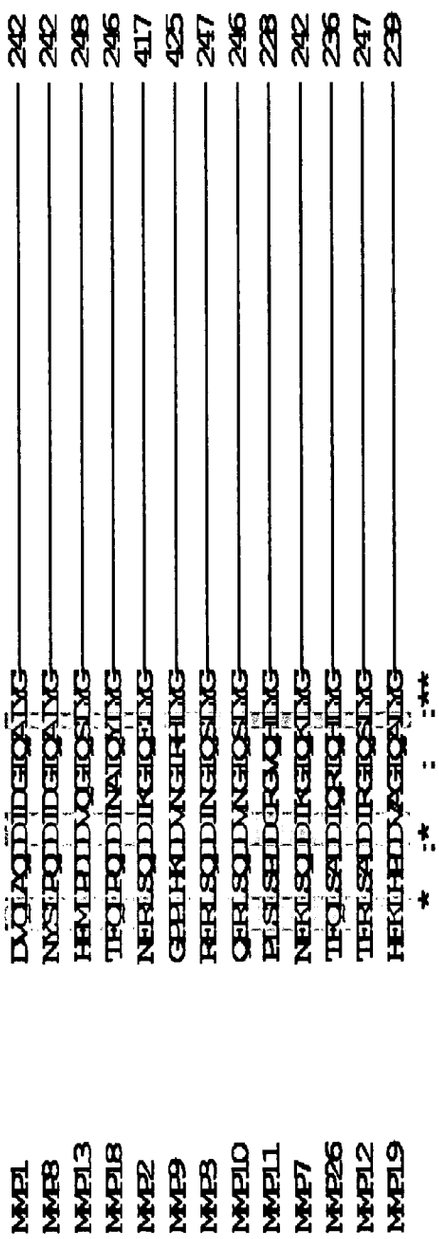

MMP1
MMP8
MMP13
MMP18
MMP2
MMP9
MMP3
MMP10
MMP11
MMP7
MMP26
MMP12
MMP19
242
242
248
246
417
425
247
246
228
242
236
247
239

FIG. 2

568

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Halozyme Inc.
Gilbert Keller
Gregory Frost

<120> CONTROL TEMPORAL IN VIVO DE ENZIMAS ACTIVABLES QUE DEGRADAN MATRIZ

<130> 3800020.00093/ 3056PC

<140> PCT/US2009/001486
<141> 2009-03-06

<150> US 61/127,725
<151> 2008-05-14

<150> US 61/068,667
<151> 2008-03-06

<160> 537

<170> FastSEQ for Windows Versión 4.0

<210> 1
<211> 220
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina L madura

<220>
<223> catepsina L1 de cadena pesada 1-175

<220>
<223> catepsina L1 de cadena ligera 179-220

<400> 1

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

```
Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Glu Ser Phe Leu
    130                 135                 140
Phe Tyr Lys Glu Gly Ile Tyr Phe Glu Pro Asp Cys Ser Ser Glu Asp
145                 150                 155                 160
Met Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Ser Thr Glu
                165                 170                 175
Ser Asp Asn Asn Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly Glu Glu
            180                 185                 190
Trp Gly Met Gly Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Arg Arg Asn His
        195                 200                 205
Cys Gly Ile Ala Ser Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
    210                 215                 220
```

<210> 2
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> secuencia de señal heteróloga IgG kappa

<400> 2

```
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1               5                  10                  15
Leu Pro Gly Ala Arg Gly
            20
```

<210> 3
<211> 1032
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Constructo Cat-L sintético optimizado con
secuencia de señal heteróloga y sitios de restricción
Nhe1 y BamHI

<400> 3

```
gctagcatgg acatgcgcgt acctgctcag ttgttggggc tcttgctgct gtggttgccc 60
ggggcacgtg ggactctgac cttcgaccat tcactggagg cccagtggac taagtggaag 120
gctatgcata atcgacttta cggcatgaac gaggagggtt ggcggcgggc tgtgtgggag 180
aagaatatga aaatgatcga actgcataac caggaataca gagagggcaa gcacagtttt 240
accatggcaa tgaatgcatt tggggacatg actagcgagg aatttcggca agtgatgaat 300
ggtttccaga atcgcaagcc aagaaaaggg aaggtcttcc aggagcccct cttctacgag 360
gcccctcgta gtgtcgactg gcgggagaaa ggctacgtga caccagtcaa aaaccagggc 420
caatgcggct cctgctgggc attttctgcc accggtgctc tggaaggaca aatgttcagg 480
aagactggcc gtctcatctc cttgtccgaa cagaacctgg tggactgctc cgggccacag 540
gggaatgagg ggtgcaacgg ggggcttatg gactacgcct tccagtacgt gcaggataat 600
gggggtctcg attccgagga atcctacccc tacgaagcaa ctgaggaatc ttgcaagtat 660
aaccctaagt attccgtggc aaatgatact ggcttcgtgg atatccctaa acaggaaaag 720
gccctcatga aggccgtagc caccgtgggc cccatctctg tcgcaattga cgctggtcac 780
gagtctttcc tcttctataa ggaaggtata tactttgaac ccgattgcag cagtgaggac 840
atggatcatg gcgtactcgt cgtcgggtat ggttttgaga gtaccgaatc agataataat 900
aaatattggc tggtgaaaaa cagctggggt gaggagtggg gtatgggtgg ctacgtcaag 960
atggccaagg accgtaggaa ccattgtggt atcgcatctg ctgcatctta tcccactgtg 1020
```

taatagggat cc 1032

<210> 4
<211> 338
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Constructo Cat-L sintético optimizado con secuencia de señal heteróloga

<400> 4

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

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

Gly His Glu Ser Phe Leu Phe Tyr Lys Glu Gly Ile Tyr Phe Glu Pro
            260                 265                 270
Asp Cys Ser Ser Glu Asp Met Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr
        275                 280                 285
Gly Phe Glu Ser Thr Glu Ser Asp Asn Asn Lys Tyr Trp Leu Val Lys
    290                 295                 300
Asn Ser Trp Gly Glu Glu Trp Gly Met Gly Gly Tyr Val Lys Met Ala
305                 310                 315                 320
Lys Asp Arg Arg Asn His Cys Gly Ile Ala Ser Ala Ala Ser Tyr Pro
                325                 330                 335
```

Thr Val

<210> 5
<211> 6201
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> vector de expresión Cat-L HZ24 sintético con secuencia de señal heteróloga

<400> 5
tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta 60
ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc 120
aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg 180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc 240
gcctggctga ccgcccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat 300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc 360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaagtccg ccccctattg acgtcaatga 420
cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttacgggact ttcctacttg 480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacac 540
caatgggcgt ggatagcggt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt 600
caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaataaccc 660
cgccccgttg acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc 720
tcgtttagtg aaccgtcaga tcactagaag ctttattgcg gtagtttatc acagttaaat 780
tgctaacgca gtcagtgctt ctgacacaac agtctcgaac ttaagctgca gaagttggtc 840
gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa 900
actgggcttg tcgagacaga gaagactctt gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac 960
tgacatccac tttgcctttc tctccacagg tgtccactcc cagttcaatt acagctctta 1020
aggctagagt acttaatacg actcactata ggctagcatg gacatgcgcg tacctgctca 1080
gttgttgggg ctcttgctgc tgtggttgcc cggggcacgt gggactctga ccttcgacca 1140
ttcactggag gcccagtgga ctaagtggaa ggctatgcat aatcgacttt acggcatgaa 1200
cgaggagggt tggcggcggg ctgtgtggga gaagaatatg aaaatgatcg aactgcataa 1260
ccaggaatac agagagggca agcacagttt taccatggca atgaatgcat ttggggacat 1320
gactagcgag gaatttcggc aagtgatgaa tggtttccag aatcgcaagc caagaaaagg 1380
gaaggtcttc caggagcccc tcttctacga ggcccctcgt agtgtcgact ggcgggagaa 1440
aggctacgtg acaccagtca aaaaccaggg ccaatgcggc tcctgctggg cattttctgc 1500
caccggtgct ctggaaggac aaatgttcag gaagactggc cgtctcatct ccttgtccga 1560
acagaacctg gtggactgct ccgggccaca ggggaatgag gggtgcaacg gggggcttat 1620
ggactacgcc ttccagtacg tgcaggataa tgggggtctc gattccgagg aatcctaccc 1680
ctacgaagca actgaggaat cttgcaagta taaccctaag tattccgtgg caaatgatac 1740
tggcttcgtg gatatcccta aacaggaaaa ggccctcatg aaggccgtag ccaccgtggg 1800
ccccatctct gtcgcaattg acgctggtca cgagtctttc ctcttctata aggaaggtat 1860
atactttgaa cccgattgca gcagtgagga catggatcat ggcgtactcg tcgtcgggta 1920
tggttttgag agtaccgaat cagataataa taaatattgg ctggtgaaaa acagctgggg 1980
tgaggagtgg ggtatgggtg gctacgtcaa gatggccaag gaccgtagga accattgtgg 2040
tatcgcatct gctgcatctt atcccactgt gtaataggga tccatagcta acgcccctct 2100
ccctcccccc cccctaacgt tactggccga agccgcttgg aataaggccg gtgtgcgttt 2160
gtctatatgt tattttccac catattgccg tcttttggca atgtgagggc ccggaaacct 2220
ggccctgtct tcttgacgag cattcctagg ggtctttccc ctctcgccaa aggaatgcaa 2280
ggtctgttga atgtcgtgaa ggaagcagtt cctctggaag cttcttgaag acaaacaacg 2340
tctgtagcga ccctttgcag gcagcggaac cccccacctg gcgacaggtg cctctgcggc 2400
caaaagccac gtgtataaga tacacctgca aaggcggcac aaccccagtg ccacgttgtg 2460

522

agttggatag ttgtggaaag agtcaaatgg ctctcctcaa gcgtattcaa caaggggctg 2520
aaggatgccc agaaggtacc ccattgtatg ggatctgatc tggggcctcg gtgcacatgc 2580
tttacatgtg tttagtcgag gttaaaaaaa cgtctaggcc ccccgaacca cggggacgtg 2640
gttttccttt gaaaaacacg atgataagct tgccacaacc cacagcggcc gctgccatca 2700
tggttcgacc attgaactgc atcgtcgccg tgtcccaaaa tatggggatt ggcaagaacg 2760
gagacctacc ctggcctccg ctcaggaacg agttcaagta cttccaaaga atgaccacaa 2820
cctcttcagt ggaaggtaaa cagaatctgg tgattatggg taggaaaacc tggttctcca 2880
ttcctgagaa gaatcgacct ttaaaggaca gaattaatat agttctcagt agagaactca 2940
aagaaccacc acgaggagct cattttcttg ccaaaagttt ggatgatgcc ttaagactta 3000
ttgaacaacc ggaattggca agtaaagtag acatggtttg gatagtcgga ggcagttctg 3060
tttaccagga agccatgaat caaccaggcc acctcagact ctttgtgaca aggatcatgc 3120
aggaatttga aagtgacacg tttttcccag aaattgattt ggggaaatat aaacttctcc 3180
cagaataccc aggcgtcctc tctgaggtcc aggaggaaaa aggcatcaag tataagtttg 3240
aagtctacga gaagaaagac taaacgcgtg gtacctctag agtcgacctg ggcggccgct 3300
tcgagcagac atgataagat acattgatga gtttggacaa accacaacta gaatgcagtg 3360
aaaaaaatgc tttatttgtg aaatttgtga tgctattgct ttatttgtaa ccattataag 3420
ctgcaataaa caagttaaca acaacaattg cattcatttt atgtttcagg ttcaggggga 3480
gatgtgggag gtttttaaa gcaagtaaaa cctctacaaa tgtggtaaaa tcgataagta 3540
tccgggctgg cgtaatagcg aagaggcccg caccgatcgc ccttcccaac agttgcgcag 3600
cctgaatggc gaatggacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt 3660
acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt cgctttcttc 3720
ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct 3780
ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat 3840
ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gccctttgac gttggagtcc 3900
acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc 3960
tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa aaatgagctg 4020
atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac aaaatattaa cgcttacaat ttcctgatgc 4080
ggtatttttct ccttacgcat ctgtgcggta tttcacaccg catatggtgc actctcagta 4140
caatctgctc tgatgccgca tagttaagcc agccccgaca cccgccaaca cccgctgacg 4200
cgccctgacg ggcttgtctg ctcccggcat ccgcttacag acaagctgtg accgtctccg 4260
ggagctgcat gtgtcagagg ttttcaccgt catcaccgaa acgcgcgaga cgaaagggcc 4320
tcgtgatacg cctatttttа taggttaatg tcatgataat aatggtttct tagacgtcag 4380
gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttatttttc taaatacatt 4440
caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa 4500
ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt 4560
gccttcctgt ttttgctcac ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt 4620
tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggtaagatc cttgagagtt 4680
ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg 4740
tattatcccg tattgacgcc gggcaagagc aactcggtcg ccgcatacac tattctcaga 4800
atgacttggt tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa 4860
gagaattatg cagtgctgcc ataaccatga gtgataacac tgcggccaac ttacttctga 4920
caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg ctttttttgca caacatgggg gatcatgtaa 4980
ctcgccttga tcgttgggaa ccggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca 5040
ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta 5100
ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac 5160
ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc 5220
gtgggtctcg cggtatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag 5280
ttatctacac gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aaatagacag atcgctgaga 5340
taggtgcctc actgattaag cattggtaac tgtcagacca agtttactca tatatacttt 5400
agattgattt aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata 5460
atctcatgac caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag 5520
aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa 5580
caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt 5640
ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgttctt ctagtgtagc 5700
cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa 5760
tcctgttacc agtggctgct gccagtggcg ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa 5820
gacgatagtt accggataag gcgcagcggt cgggctgaac gggggggttcg tgcacacagc 5880

523

ccagcttgga gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa 5940
gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa 6000
caggagagcg cacgagggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg 6060
ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc 6120
tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttcct ggccttttgc tggccttttg 6180
ctcacatggc tcgacagatc t 6201

<210> 6
<211> 1068
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Constructo Cat-L His sintético optimizado con
secuencia de señal heteróloga y sitios de restricción

<400> 6
gctagcatgg acatgcgtgt acctgctcag ctgctgggcc tgttgctctt gtggcttccc 60
ggagcccggg gaaccctgac attcgatcac tctctggagg cccagtggac aaaatggaag 120
gctatgcaca ataggctcta cgggatgaat gaggaaggct ggagaagggc cgtttgggag 180
aagaatatga aaatgattga gctgcacaac caggagtacc gagagggaaa gcattccttt 240
accatggcaa tgaatgcctt tggggacatg acatcagagg agtttcggca ggtgatgaac 300
ggatttcaga atagaaagcc ccgaaaaggc aaagtgttcc aagagcccct cttttacgag 360
gccccacgct ccgtcgactg gcgtgaaaaa gggtatgtaa ctcccgtcaa aaaccaggga 420
cagtgcggca gttgttgggc cttttctgct accggggcat tggagggcca gatgttcagg 480
aagaccggac gtcttatctc cctttcagaa cagaacctgg tcgactgtag cggaccccag 540
ggaaacgagg ggtgcaatgg agggctcatg gactatgcat ttcagtacgt gcaggacaat 600
ggaggcctgg attcagagga atcctaccct tacgaggcta cagaagaaag ctgcaagtat 660
aaccctaagt acagcgtcgc caacgacacc gggtttgtcg atattccaaa gcaggagaag 720
gccctgatga aagcagttgc caccgtgggc cccatctcag tcgcaattga tgccggccac 780
gagtcttttc tgttttataa agaaggtatt tactttgagc ccgattgcag ctctgaagac 840
atggatcacg gagtgttggt tgtaggctac ggcttcgagt ccaccgagtc agacaacaat 900
aaatactggt tggtgaaaaa ctcctggggg gaggagtggg gcatgggcgg atacgtgaag 960
atggccaaag acagaaggaa tcactgtgga atcgcatctg ctgccagcta tccaactgta 1020
ggaggaggcg gttcaggtca ccaccaccat caccactagt gaggatcc 1068

<210> 7

<211> 350
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Constructo Cat-L-His sintético optimizado con
secuencia de señal heteróloga

<400> 7
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Pro Gly Ala Arg Gly Thr Leu Thr Phe Asp His Ser Leu Glu Ala
20 25 30
Gln Trp Thr Lys Trp Lys Ala Met His Asn Arg Leu Tyr Gly Met Asn
35 40 45

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

Lys Asp Arg Arg Asn His Cys Gly Ile Ala Ser Ala Ala Ser Tyr Pro
                325                 330                 335
Thr Val Gly Gly Gly Gly Ser Gly His His His His His His
            340                 345                 350
```

<210> 8
<211> 6237
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Vector de expresión Cat-L-His sintético con secuencia de señal heteróloga

<400> 8
tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta 60
ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc 120
aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg 180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc 240

gcctggctga ccgcccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat 300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc 360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaagtccg ccccctattg acgtcaatga 420
cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttacgggact ttcctacttg 480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacac 540
caatgggcgt ggatagcggt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt 600
caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaataaccc 660
cgccccgttg acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc 720
tcgtttagtg aaccgtcaga tcactagaag ctttattgcg gtagtttatc acagttaaat 780
tgctaacgca gtcagtgctt ctgacacaac agtctcgaac ttaagctgca gaagttggtc 840
gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa 900
actgggcttg tcgagacaga gaagactctt gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac 960
tgacatccac tttgcctttc tctccacagg tgtccactcc cagttcaatt acagctctta 1020
aggctagagt acttaatacg actcactata ggctagcatg gacatgcgtg tacctgctca 1080
gctgctgggc ctgttgctct tgtggcttcc cggagcccgg ggaaccctga cattcgatca 1140
ctctctggag gcccagtgga caaaatggaa ggctatgcac aataggctct acgggatgaa 1200
tgaggaaggc tggagaaggg ccgtttggga gaagaatatg aaaatgattg agctgcacaa 1260
ccaggagtac cgagagggaa agcattcctt taccatggca atgaatgcct ttggggacat 1320
gacatcagag gagtttcggc aggtgatgaa cggatttcag aatagaaagc cccgaaaagg 1380
caaagtgttc caagagcccc tcttttacga ggccccacgc tccgtcgact ggcgtgaaaa 1440
agggtatgta actcccgtca aaaaccaggg acagtgcggc agttgttggg ccttttctgc 1500
taccggggca ttggagggcc agatgttcag gaagaccgga cgtcttatct ccctttcaga 1560
acagaacctg gtcgactgta gcggacccca gggaaacgag gggtgcaatg gagggctcat 1620
ggactatgca tttcagtacg tgcaggacaa tggaggcctg gattcagagg aatcctaccc 1680
ttacgaggct acagaagaaa gctgcaagta taaccctaag tacagcgtcg ccaacgacac 1740
cgggtttgtc gatattccaa agcaggagaa ggccctgatg aaagcagttg ccaccgtggg 1800
ccccatctca gtcgcaattg atgccggcca cgagtctttt ctgttttata aagaaggtat 1860
ttactttgag cccgattgca gctctgaaga catggatcac ggagtgttgg ttgtaggcta 1920
cggcttcgag tccaccgagt cagacaacaa taaatactgg ttggtgaaaa actcctgggg 1980
ggaggagtgg ggcatgggcg gatacgtgaa gatggccaaa gacagaagga atcactgtgg 2040
aatcgcatct gctgccagct atccaactgt aggaggaggc ggttcaggtc accaccacca 2100
tcaccactag tgaggatcca tagctaacgc ccctctccct ccccccccccc taacgttact 2160
ggccgaagcc gcttggaata aggccggtgt gcgtttgtct atatgttatt ttccaccata 2220
ttgccgtctt ttggcaatgt gagggcccgg aaacctggcc ctgtcttctt gacgagcatt 2280
cctaggggtc tttcccctct cgccaaagga atgcaaggtc tgttgaatgt cgtgaaggaa 2340
gcagttcctc tggaagcttc ttgaagacaa acaacgtctg tagcgaccct ttgcaggcag 2400
cggaaccccc cacctggcga caggtgcctc tgcggccaaa agccacgtgt ataagataca 2460
cctgcaaagg cggcacaacc ccagtgccac gttgtgagtt ggatagttgt ggaaagagtc 2520
aaatggctct cctcaagcgt attcaacaag gggctgaagg atgcccagaa ggtaccccat 2580
tgtatgggat ctgatctggg gcctcggtgc acatgcttta catgtgttta gtcgaggtta 2640
aaaaaacgtc taggcccccc gaaccacggg gacgtggttt tcctttgaaa aacacgatga 2700
taagcttgcc acaacccaca gcggccgctg ccatcatggt tcgaccattg aactgcatcg 2760
tcgccgtgtc ccaaaatatg gggattggca agaacggaga cctaccctgg cctccgctca 2820
ggaacgagtt caagtacttc caaagaatga ccacaacctc ttcagtggaa ggtaaacaga 2880
atctggtgat tatgggtagg aaaacctggt tctccattcc tgagaagaat cgacctttaa 2940
aggacagaat taatatagtt ctcagtagag aactcaaaga accaccacga ggagctcatt 3000
ttcttgccaa aagtttggat gatgccttaa gacttattga acaaccggaa ttggcaagta 3060
aagtagacat ggtttggata gtcggaggca gttctgttta ccaggaagcc atgaatcaac 3120
caggccacct cagactcttt gtgacaagga tcatgcagga atttgaaagt gacacgtttt 3180
tcccagaaat tgatttgggg aaatataaac ttctcccaga atacccaggc gtcctctctg 3240
aggtccagga ggaaaaaggc atcaagtata agtttgaagt ctacgagaag aaagactaaa 3300
cgcgtggtac ctctagagtc gacctgggcg gccgcttcga gcagacatga taagatacat 3360
tgatgagttt ggacaaacca caactagaat gcagtgaaaa aaatgcttta tttgtgaaat 3420
ttgtgatgct attgctttat ttgtaaccat tataagctgc aataaacaag ttaacaacaa 3480
caattgcatt cattttatgt ttcaggttca gggggagatg tgggaggttt tttaaagcaa 3540
gtaaaacctc tacaaatgtg gtaaaatcga taagtatccg ggctggcgta atagcgaaga 3600
ggcccgcacc gatcgccctt cccaacagtt gcgcagcctg aatggcgaat ggacgcgccc 3660

tgtagcggcg cattaagcgc ggcgggtgtg gtggttacgc gcagcgtgac cgctacactt 3720
gccagcgccc tagcgcccgc tcctttcgct ttcttccctt cctttctcgc cacgttcgcc 3780
ggctttcccc gtcaagctct aaatcggggg ctccctttag ggttccgatt tagtgcttta 3840
cggcacctcg accccaaaaa acttgattag ggtgatggtt cacgtagtgg gccatcgccc 3900
tgatagacgg tttttcgccc tttgacgttg gagtccacgt tctttaatag tggactcttg 3960
ttccaaactg gaacaacact caaccctatc tcggtctatt cttttgattt ataagggatt 4020
ttgccgattt cggcctattg gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat 4080
tttaacaaaa tattaacgct tacaatttcc tgatgcggta ttttctcctt acgcatctgt 4140
gcggtatttc acaccgcata tggtgcactc tcagtacaat ctgctctgat gccgcatagt 4200
taagccagcc ccgacacccg ccaacacccg ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc 4260
cggcatccgc ttacagacaa gctgtgaccg tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt 4320
caccgtcatc accgaaacgc gcgagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg 4380
ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4440
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4500
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4560
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcacccag 4620
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4680
aactggatct caacagcggt aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa 4740
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4800
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag 4860
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4920
ccatgagtga taacactgcg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4980
taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 5040
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 5100
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 5160
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 5220
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 5280
cactggggcc agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 5340
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 5400
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt 5460
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaaa atcccttaac 5520
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5580
atccttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5640
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctcttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5700
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5760
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatcct gttaccagtg gctgctgcca 5820
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5880
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5940
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa 6000
aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 6060
caggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 6120
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 6180
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catggctcga cagatct 6237

<210> 9
<211> 333
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Señal secretoria heteróloga
que contiene proteína Cat-L humana

<400> 9

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

Glu Ser Cys Lys Tyr Asn Pro Lys Tyr Ser Val Ala Asn Asp Thr Gly
    210                 215                 220
Phe Val Asp Ile Pro Lys Gln Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val Ala
225                 230                 235                 240
Thr Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Glu Ser Phe
                245                 250                 255
Leu Phe Tyr Lys Glu Gly Ile Tyr Phe Glu Pro Asp Cys Ser Ser Glu
            260                 265                 270
Asp Met Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Ser Thr
        275                 280                 285
Glu Ser Asp Asn Asn Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly Glu
    290                 295                 300
Glu Trp Gly Met Gly Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Arg Arg Asn
305                 310                 315                 320
His Cys Gly Ile Ala Ser Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
                325                 330
```

<210> 10
<211> 1002
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> CADN procesado por secuencia de inserto Cat-L (BATJ)

<400> 10
atggatccta cactcatcct tgctgccttt tgcctgggaa ttgcctcagc tactctaaca 60
tttgatcaca gtttagaggc acagtggacc aagtggaagg cgatgcacaa cagattatac 120

ggcatgaatg aagaaggatg gaggagagca gtgtgggaga agaacatgaa gatgattgaa 180
ctgcacaatc aggaatacag ggaagggaaa cacagcttca caatggccat gaacgccttt 240
ggagacatga ccagtgaaga attcaggcag gtgatgaatg gctttcaaaa ccgtaagccc 300
aggaagggga aagtgttcca ggaacctctg ttttatgagg cccccagatc tgtggattgg 360
agagagaaag gctacgtgac tcctgtgaag aatcagggtc agtgtggttc ttgttgggct 420
tttagtgcta ctggtgctct tgaaggacag atgttccgga aaactgggag gcttatctca 480
ctgagtgagc agaatctggt agactgctct gggcctcaag gcaatgaagg ctgcaatggt 540
ggcctaatgg attatgcttt ccagtatgtt caggataatg gaggcctgga ctctgaggaa 600
tcctatccat atgaggcaac agaagaatcc tgtaagtaca atcccaagta ttctgttgct 660
aatgacaccg gctttgtgga catcctaag caggagaagg ccctgatgaa ggcagttgca 720
actgtggggc ccatttctgt tgctattgat gcaggtcatg agtccttcct gttctataaa 780
gaaggcattt attttgagcc agactgtagc agtgaagaca tggatcatgg tgtgctggtg 840
gttggctacg gatttgaaag cacagaatca gataacaata aatattggct ggtgaagaac 900
agctggggtg aagaatgggg catgggtggc tacgtaaaga tggccaaaga ccggagaaac 960
cattgtggaa ttgcctcagc agccagctac cccactgtgt ga 1002

<210> 11
<211> 6190
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> vector de expresión HZ24 que contiene cADN Cat-L

<400> 11
tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta 60
ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc 120
aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg 180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc 240
gcctggctga ccgcccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat 300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc 360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaagtccg ccccctattg acgtcaatga 420
cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttacgggact ttcctacttg 480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacac 540
caatgggcgt ggatagcggt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt 600
caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaataaccc 660
cgccccgttg acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc 720
tcgtttagtg aaccgtcaga tcactagaag ctttattgcg gtagtttatc acagttaaat 780
tgctaacgca gtcagtgctt ctgacacaac agtctcgaac ttaagctgca gaagttggtc 840
gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa 900
actgggcttg tcgagacaga gaagactctt gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac 960
tgacatccac tttgcctttc tctccacagg tgtccactcc cagttcaatt acagctctta 1020
aggctagagt acttaatacg actcactata ggctagccac catggatcct acactcatcc 1080
ttgctgcctt ttgcctggga attgcctcag ctactctaac atttgatcac agtttagagg 1140
cacagtggac caagtggaag gcgatgcaca acagattata cggcatgaat gaagaaggat 1200
ggaggagagc agtgtgggag aagaacatga agatgattga actgcacaat caggaataca 1260
gggaagggaa acacagcttc acaatggcca tgaacgcctt tggagacatg accagtgaag 1320
aattcaggca ggtgatgaat ggctttcaaa accgtaagcc caggaagggg aaagtgttcc 1380
aggaacctct gttttatgag gcccccagat ctgtggattg gagagagaaa ggctacgtga 1440
ctcctgtgaa gaatcagggt cagtgtggtt cttgttgggc ttttagtgct actggtgctc 1500
ttgaaggaca gatgttccgg aaaactggga ggcttatctc actgagtgag cagaatctgg 1560
tagactgctc tgggcctcaa ggcaatgaag gctgcaatgg tggcctaatg gattatgctt 1620
tccagtatgt tcaggataat ggaggcctgg actctgagga atcctatcca tatgaggcaa 1680
cagaagaatc ctgtaagtac aatcccaagt attctgttgc taatgacacc ggctttgtgg 1740
acatccctaa gcaggagaag gccctgatga aggcagttgc aactgtgggg cccatttctg 1800

ttgctattga tgcaggtcat gagtccttcc tgttctataa agaaggcatt tattttgagc 1860
cagactgtag cagtgaagac atggatcatg gtgtgctggt ggttggctac ggatttgaaa 1920
gcacagaatc agataacaat aaatattggc tggtgaagaa cagctggggt gaagaatggg 1980
gcatgggtgg ctacgtaaag atggccaaag accggagaaa ccattgtgga attgcctcag 2040
cagccagcta ccccactgtg tgatgaggat ccatagctaa cgcccctctc cctccccccc 2100
ccctaacgtt actggccgaa gccgcttgga ataaggccgg tgtgcgtttg tctatatgtt 2160
attttccacc atattgccgt cttttggcaa tgtgagggcc cggaaacctg gccctgtctt 2220
cttgacgagc attcctaggg gtctttcccc tctcgccaaa ggaatgcaag gtctgttgaa 2280
tgtcgtgaag gaagcagttc ctctggaagc ttcttgaaga caaacaacgt ctgtagcgac 2340
cctttgcagg cagcggaacc ccccacctgg cgacaggtgc ctctgcggcc aaaagccacg 2400
tgtataagat acacctgcaa aggcggcaca accccagtgc cacgttgtga gttggatagt 2460
tgtggaaaga gtcaaatggc tctcctcaag cgtattcaac aaggggctga aggatgccca 2520
gaaggtaccc cattgtatgg gatctgatct ggggcctcgg tgcacatgct ttacatgtgt 2580
ttagtcgagg ttaaaaaaac gtctaggccc cccgaaccac ggggacgtgg ttttcctttg 2640
aaaaacacga tgataagctt gccacaaccc acagcggccg ctgccatcat ggttcgacca 2700
ttgaactgca tcgtcgccgt gtcccaaaat atggggattg gcaagaacgg agacctaccc 2760
tggcctccgc tcaggaacga gttcaagtac ttccaaagaa tgaccacaac ctcttcagtg 2820
gaaggtaaac agaatctggt gattatgggt aggaaaacct ggttctccat tcctgagaag 2880
aatcgacctt taaaggacag aattaatata gttctcagta gagaactcaa agaaccacca 2940
cgaggagctc attttcttgc caaaagtttg gatgatgcct taagacttat tgaacaaccg 3000
gaattggcaa gtaaagtaga catggtttgg atagtcggag gcagttctgt ttaccaggaa 3060
gccatgaatc aaccaggcca cctcagactc tttgtgacaa ggatcatgca ggaatttgaa 3120
agtgacacgt ttttcccaga aattgatttg gggaaatata aacttctccc agaataccca 3180
ggcgtcctct ctgaggtcca ggaggaaaaa ggcatcaagt ataagtttga agtctacgag 3240
aagaaagact aaacgcgtgg tacctctaga gtcgacctgg gcggccgctt cgagcagaca 3300
tgataagata cattgatgag tttggacaaa ccacaactag aatgcagtga aaaaaatgct 3360
ttatttgtga aatttgtgat gctattgctt tatttgtaac cattataagc tgcaataaac 3420
aagttaacaa caacaattgc attcatttta tgtttcaggt tcagggggag atgtgggagg 3480
ttttttaaag caagtaaaac ctctacaaat gtggtaaaat cgataagtat ccgggctggc 3540
gtaatagcga agaggcccgc accgatcgcc cttcccaaca gttgcgcagc ctgaatggcg 3600
aatggacgcg ccctgtagcg gcgcattaag cgcggcgggt gtggtggtta cgcgcagcgt 3660
gaccgctaca cttgccagcg ccctagcgcc cgctcctttc gctttcttcc cttcctttct 3720
cgccacgttc gccggctttc cccgtcaagc tctaaatcgg gggctccctt tagggttccg 3780
atttagtgct ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat tagggtgatg gttcacgtag 3840
tgggccatcg ccctgataga cggtttttcg ccctttgacg ttggagtcca cgttctttaa 3900
tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct atctcggtct attcttttga 3960
tttataaggg attttgccga tttcggccta ttggttaaaa aatgagctga tttaacaaaa 4020
atttaacgcg aattttaaca aaatattaac gcttacaatt tcctgatgcg gtattttctc 4080
cttacgcatc tgtgcggtat ttcacaccgc atatggtgca ctctcagtac aatctgctct 4140
gatgccgcat agttaagcca gccccgacac ccgccaacac ccgctgacgc gccctgacgg 4200
gcttgtctgc tcccggcatc cgcttacaga caagctgtga ccgtctccgg gagctgcatg 4260
tgtcagaggt tttcaccgtc atcaccgaaa cgcgcgagac gaaagggcct cgtgatacgc 4320
ctatttttat aggttaatgt catgataata atggtttctt agacgtcagg tggcactttt 4380
cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat 4440
ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg 4500
agtattcaac atttccgtgt cgcccttatt ccctttttttg cggcattttg ccttcctgtt 4560
tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt gggtgcacga 4620
gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa 4680
gaacgttttc caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt 4740
attgacgccg ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt 4800
gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc 4860
agtgctgcca taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga 4920
ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat 4980
cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct 5040
gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc 5100
cggcaacaat taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg 5160
gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc 5220

580

ggtatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg 5280
acggggagtc aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca 5340
ctgattaagc attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta 5400
aaacttcatt tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc 5460
aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa 5520
ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca 5580
ccgctaccag cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta 5640
actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc 5700
caccacttca agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaat cctgttacca 5760
gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta 5820
ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag 5880
cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt 5940
cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc 6000
acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac 6060
ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac 6120
gccagcaacg cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatggct 6180
cgacagatct 6190

<210> 12
<211> 339
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Señal secretoria heteróloga
que contiene Cat-L-His humano

<400> 12

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

581

```
Glu Ser Cys Lys Tyr Asn Pro Lys Tyr Ser Val Ala Asn Asp Thr Gly
    210                 215                 220
Phe Val Asp Ile Pro Lys Gln Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val Ala
225                 230                 235                 240
Thr Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Glu Ser Phe
                245                 250                 255
Leu Phe Tyr Lys Glu Gly Ile Tyr Phe Glu Pro Asp Cys Ser Ser Glu
            260                 265                 270
Asp Met Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Ser Thr
        275                 280                 285
Glu Ser Asp Asn Asn Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly Glu
    290                 295                 300
Glu Trp Gly Met Gly Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Arg Arg Asn
305                 310                 315                 320
His Cys Gly Ile Ala Ser Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val His His His
                325                 330                 335
His His His
```

<210> 13
<211> 1020
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Que codifica cat-L-His humano

<400> 13

```
atggatccta cactcatcct tgctgccttt tgcctgggaa ttgcctcagc tactctaaca 60
tttgatcaca gtttagaggc acagtggacc aagtggaagg cgatgcacaa cagattatac 120
ggcatgaatg aagaaggatg gaggagagca gtgtgggaga agaacatgaa gatgattgaa 180
ctgcacaatc aggaatacag ggaagggaaa cacagcttca caatggccat gaacgccttt 240
ggagacatga ccagtgaaga attcaggcag gtgatgaatg gctttcaaaa ccgtaagccc 300
aggaagggga aagtgttcca ggaacctctg ttttatgagg cccccagatc tgtggattgg 360
agagagaaag gctacgtgac tcctgtgaag aatcagggtc agtgtggttc ttgttgggct 420
tttagtgcta ctggtgctct tgaaggacag atgttccgga aaactgggag gcttatctca 480
ctgagtgagc agaatctggt agactgctct gggcctcaag gcaatgaagg ctgcaatggt 540
ggcctaatgg attatgcttt ccagtatgtt caggataatg gaggcctgga ctctgaggaa 600
tcctatccat atgaggcaac agaagaatcc tgtaagtaca atcccaagta ttctgttgct 660
aatgacaccg gctttgtgga catccctaag caggagaagg ccctgatgaa ggcagttgca 720
actgtggggc ccatttctgt tgctattgat gcaggtcatg agtccttcct gttctataaa 780
gaaggcattt attttgagcc agactgtagc agtgaagaca tggatcatgg tgtgctggtg 840
gttggctacg gatttgaaag cacagaatca gataacaata aatattggct ggtgaagaac 900
agctggggtg aagaatgggg catgggtggc tacgtaaaga tggccaaaga ccggagaaac 960
cattgtggaa ttgcctcagc agccagctac cccactgtgc atcatcatca tcatcattga 1020
```

<210> 14
<211> 6205
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> vector de expresión HZ24 que contiene Cat-L-His cADN

<400> 14
tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta 60
ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc 120
aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg 180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc 240
gcctggctga ccgcccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat 300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc 360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaagtccg ccccctattg acgtcaatga 420
cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttacgggact ttcctacttg 480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacac 540
caatgggcgt ggatagcggt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt 600
caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaataaccc 660
cgccccgttg acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc 720
tcgtttagtg aaccgtcaga tcactagaag ctttattgcg gtagtttatc acagttaaat 780
tgctaacgca gtcagtgctt ctgacacaac agtctcgaac ttaagctgca gaagttggtc 840
gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa 900
actgggcttg tcgagacaga gaagactctt gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac 960
tgacatccac tttgcctttc tctccacagg tgtccactcc cagttcaatt acagctctta 1020
aggctagagt acttaatacg actcactata ggctagccac catggatcct acactcatcc 1080
ttgctgcctt ttgcctggga attgcctcag ctactctaac atttgatcac agtttagagg 1140
cacagtggac caagtggaag gcgatgcaca acagattata cggcatgaat gaagaaggat 1200
ggaggagagc agtgtgggag aagaacatga agatgattga actgcacaat caggaataca 1260
gggaagggaa acacagcttc acaatggcca tgaacgcctt tggagacatg accagtgaag 1320
aattcaggca ggtgatgaat ggctttcaaa accgtaagcc caggaagggg aaagtgttcc 1380
aggaacctct gttttatgag gcccccagat ctgtggattg gagagagaaa ggctacgtga 1440
ctcctgtgaa gaatcagggt cagtgtggtt cttgttgggc ttttagtgct actggtgctc 1500
ttgaaggaca gatgttccgg aaaactggga ggcttatctc actgagtgag cagaatctgg 1560
tagactgctc tgggcctcaa ggcaatgaag gctgcaatgg tggcctaatg gattatgctt 1620
tccagtatgt tcaggataat ggaggcctgg actctgagga atcctatcca tatgaggcaa 1680
cagaagaatc ctgtaagtac aatcccaagt attctgttgc taatgacacc ggctttgtgg 1740
acatccctaa gcaggagaag gccctgatga aggcagttgc aactgtgggg cccatttctg 1800
ttgctattga tgcaggtcat gagtccttcc tgttctataa agaaggcatt tattttgagc 1860
cagactgtag cagtgaagac atggatcatg gtgtgctggt ggttggctac ggatttgaaa 1920
gcacagaatc agataacaat aaatattggc tggtgaagaa cagctggggt gaagaatggg 1980
gcatgggtgg ctacgtaaag atggccaaag accggagaaa ccattgtgga attgcctcag 2040
cagccagcta ccccactgtg catcatcatc atcatcattg aggatccata gctaacgccc 2100
ctctccctcc ccccccccta acgttactgg ccgaagccgc ttggaataag gccggtgtgc 2160
gtttgtctat atgttatttt ccaccatatt gccgtctttt ggcaatgtga gggcccggaa 2220
acctggccct gtcttcttga cgagcattcc taggggtctt tcccctctcg ccaaaggaat 2280
gcaaggtctg ttgaatgtcg tgaaggaagc agttcctctg gaagcttctt gaagacaaac 2340
aacgtctgta gcgacccttt gcaggcagcg gaaccccccа cctggcgaca ggtgcctctg 2400
cggccaaaag ccacgtgtat aagatacacc tgcaaaggcg gcacaacccc agtgccacgt 2460
tgtgagttgg atagttgtgg aaagagtcaa atggctctcc tcaagcgtat tcaacaaggg 2520

gctgaaggat gcccagaagg taccccattg tatgggatct gatctggggc ctcggtgcac 2580
atgctttaca tgtgtttagt cgaggttaaa aaaacgtcta ggccccccga accacgggga 2640
cgtggttttc ctttgaaaaa cacgatgata agcttgccac aacccacagc ggccgctgcc 2700
atcatggttc gaccattgaa ctgcatcgtc gccgtgtccc aaaatatggg gattggcaag 2760
aacggagacc taccctggcc tccgctcagg aacgagttca agtacttcca aagaatgacc 2820
acaacctctt cagtggaagg taaacagaat ctggtgatta tgggtaggaa aacctggttc 2880
tccattcctg agaagaatcg acctttaaag gacagaatta atatagttct cagtagagaa 2940
ctcaaagaac caccacgagg agctcatttt cttgccaaaa gtttggatga tgccttaaga 3000
cttattgaac aaccggaatt ggcaagtaaa gtagacatgg tttggatagt cggaggcagt 3060
tctgtttacc aggaagccat gaatcaacca ggccacctca gactctttgt gacaaggatc 3120
atgcaggaat ttgaaagtga cacgtttttc ccagaaattg atttggggaa atataaactt 3180
ctcccagaat acccaggcgt cctctctgag gtccaggagg aaaaaggcat caagtataag 3240
tttgaagtct acgagaagaa agactaaacg cgtggtacct ctagagtcga cctgggcggc 3300

583

cgcttcgagc agacatgata agatacattg atgagtttgg acaaaccaca actagaatgc 3360
agtgaaaaaa atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt gtaaccatta 3420
taagctgcaa taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt caggttcagg 3480
gggagatgtg ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt aaaatcgata 3540
agtatccggg ctggcgtaat agcgaagagg cccgcaccga tcgcccttcc caacagttgc 3600
gcagcctgaa tggcgaatgg acgcgccctg tagcggcgca ttaagcgcgg cgggtgtggt 3660
ggttacgcgc agcgtgaccg ctacacttgc cagcgcccta gcgcccgctc ctttcgcttt 3720
cttcccttcc tttctcgcca cgttcgccgg ctttccccgt caagctctaa atcgggggct 3780
ccctttaggg ttccgattta gtgctttacg gcacctcgac cccaaaaaac ttgattaggg 3840
tgatggttca cgtagtgggc catcgccctg atagacggtt tttcgccctt tgacgttgga 3900
gtccacgttc tttaatagtg gactcttgtt ccaaactgga acaacactca accctatctc 3960
ggtctattct tttgatttat aagggatttt gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga 4020
gctgatttaa caaaaattta acgcgaattt taacaaaata ttaacgctta caatttcctg 4080
atgcggtatt ttctccttac gcatctgtgc ggtatttcac accgcatatg gtgcactctc 4140
agtacaatct gctctgatgc cgcatagtta agccagcccc gacacccgcc aacacccgct 4200
gacgcgccct gacgggcttg tctgctcccg gcatccgctt acagacaagc tgtgaccgtc 4260
tccgggagct gcatgtgtca gaggttttca ccgtcatcac cgaaacgcgc gagacgaaag 4320
ggcctcgtga tacgcctatt tttataggtt aatgtcatga taataatggt ttcttagacg 4380
tcaggtggca cttttcgggg aaatgtgcgc ggaacccctа tttgtttatt tttctaaata 4440

cattcaaata tgtatccgct catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatattga 4500
aaaaggaaga gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttgcggca 4560
ttttgccttc ctgtttttgc tcacccagaa acgctggtga aagtaaaaga tgctgaagat 4620
cagttgggtg cacgagtggg ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag 4680
agttttcgcc ccgaagaacg ttttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc 4740
gcggtattat cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgcat acactattct 4800
cagaatgact tggttgagta ctcaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca 4860
gtaagagaat tatgcagtgc tgccataacc atgagtgata acactgcggc caacttactt 4920
ctgacaacga tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat 4980
gtaactcgcc ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt 5040
gacaccacga tgcctgtagc aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta 5100
cttactctag cttcccggca acaattaata gactggatgg aggcggataa agttgcagga 5160
ccacttctgc gctcggccct tccggctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt 5220
gagcgtgggt ctcgcggtat cattgcagca ctggggccag atggtaagcc ctcccgtatc 5280
gtagttatct acacgacggg gagtcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgct 5340
gagataggtg cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttta ctcatatata 5400
ctttagattg atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt 5460
gataatctca tgaccaaaat cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc 5520
gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg 5580
caaacaaaaa aaccaccgct accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact 5640
ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt tcttctagtg 5700
tagccgtagt taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg 5760
ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac 5820
tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg ttcgtgcaca 5880
cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagctatga 5940
gaaagcgcca cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc 6000
ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct 6060
gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc agggggggcgg 6120
agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct 6180
tttgctcaca tggctcgaca gatct 6205

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

<220>
<223> ligadura

<400> 15
Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 16
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador Cat-L 5? humano

<400> 16
aaggccgcta gccaccatgg atcctacact catccttgct gc 42

<210> 17
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador Cat-L 3? humano

<400> 17
gagcacggat cctcatcaca cagtggggta gctgg 35

<210> 18
<211> 49
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador Cat-L-His humano

<400> 18
cctgccggat cctcaatgat gatgatgatg atgcacagtg gggtagctg 49

<210> 19
<211> 952
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa pancreática (PE1; Elastasa-1)

<400> 19
ttggtccaag caagaaggca gtggtctact ccatcggcaa catgctggtc ctttatggac 60
acagcaccca ggaccttccg gaaaccaatg cccgcgtagt cggagggact gaggccggga 120

585

ggaattcctg gccctctcag atttccctcc agtaccggtc tggaggttcc cggtatcaca 180
cctgtggagg gacccttatc agacagaact gggtgatgac agctgctcac tgcgtggatt 240
accagaagac tttccgcgtg gtggctggag accataacct gagccagaat gatggcactg 300
agcagtacgt gagtgtgcag aagatcgtgg tgcatccata ctggaacagc gataacgtgg 360
ctgccggcta tgacatcgcc ctgctgcgcc tggcccagag cgttaccctc aatagctatg 420
tccagctggg tgttctgccc caggagggag ccatcctggc taacaacagt ccctgctaca 480
tcacaggctg gggcaagacc aagaccaatg ggcagctggc ccagaccctg cagcaggctt 540
acctgccctc tgtggactac gccatctgct ccagctcctc ctactggggc tccactgtga 600
agaacaccat ggtgtgtgct ggtggagatg gagttcgctc tggatgccag ggtgactctg 660
ggggccccct ccattgcttg gtgaatggca agtattctgt ccatggagtg accagctttg 720
tgtccagccg gggctgtaat gtctccagga agcctacagt cttcacccag gtctctgctt 780
acatctcctg gataaataat gtcatcgcct ccaactgaac attttcctga gtccaacgac 840
cttcccaaaa tggttcttag atctgcaata ggacttgcga tcaaaaagta aaacacattc 900
tgaaagacta ttgagccatt gatagaaaag caaataaaac tagatataca tt 952

<210> 20
<211> 258
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa pancreática (PE1; Elastasa-1)

<400> 20

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

```
Phe Thr Gln Val Ser Ala Tyr Ile Ser Trp Ile Asn Asn Val Ile Ala
                245                 250                 255

Ser Asn
```

<210> 21
<211> 239
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Proproteína de elastasa pancreática (PE1; Elastasa-1)

<400> 21

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

                165                 170                 175
Asp Gly Val Arg Ser Gly Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu His
            180                 185                 190
Cys Leu Val Asn Gly Lys Tyr Ser Val His Gly Val Thr Ser Phe Val
        195                 200                 205
Ser Ser Arg Gly Cys Asn Val Ser Arg Lys Pro Thr Val Phe Thr Gln
    210                 215                 220
Val Ser Ala Tyr Ile Ser Trp Ile Asn Asn Val Ile Ala Ser Asn
225                 230                 235
```

<210> 22
<211> 979
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa-2A

<400> 22
cttacagaac tcccacggac acaccatgat aaggacgctg ctgctgtcca ctttggtggc 60
tggagccctc agttgtgggg accccactta cccaccttat gtgactaggg tggttggcgg 120
tgaagaagcg aggcccaaca gctggccctg gcaggtctcc ctgcagtaca gctccaatgg 180
caagtggtac cacacctgcg gagggtccct gatagccaac agctgggtcc tgacggctgc 240
ccactgcatc agctcctcca ggacctaccg cgtggggctg ggccggcaca acctctacgt 300
tgcggagtcc ggctcgctgg cagtcagtgt ctctaagatt gtggtgcaca aggactggaa 360
ctccaaccaa atctccaaag ggaacgacat tgccctgctc aaactggcta accccgtctc 420
cctcaccgac aagatccagc tggcctgcct ccctcctgcc ggcaccattc tacccaacaa 480
ctacccctgc tacgtcacgg gctggggaag gctgcagacc aacggggctg ttcctgatgt 540
cctgcagcag ggccggttgc tggttgtgga ctatgccacc tgctccagct ctgcctggtg 600
gggcagcagc gtgaaaacca gtatgatctg tgctgggggt gatggcgtga tctccagctg 660
caacggagac tctggcgggc cactgaactg tcaggcgtct gacggccggt ggcaggtgca 720
cggcatcgtc agcttcgggt ctcgcctcgg ctgcaactac taccacaagc cctccgtctt 780
cacgcgggtc tccaattaca tcgactggat caattcggtg attgcaaata actaaccaaa 840
agaagtccct gggactgttt cagacttgga aaggtcacag aaggaaaata atataataaa 900
gtgacaacta tgcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaata aaaaaaaaaa 960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 979

<210> 23
<211> 269
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa-2A

<400> 23
Met Ile Arg Thr Leu Leu Leu Ser Thr Leu Val Ala Gly Ala Leu Ser
 1   5   10   15
Cys Gly Asp Pro Thr Tyr Pro Pro Tyr Val Thr Arg Val Val Gly Gly
            20   25   30
Glu Glu Ala Arg Pro Asn Ser Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Gln Tyr
        35   40   45
Ser Ser Asn Gly Lys Trp Tyr His Thr Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ala
    50   55   60
Asn Ser Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Ile Ser Ser Ser Arg Thr
65   70   75   80
Tyr Arg Val Gly Leu Gly Arg His Asn Leu Tyr Val Ala Glu Ser Gly
                85   90   95
Ser Leu Ala Val Ser Val Ser Lys Ile Val Val His Lys Asp Trp Asn
            100   105   110
Ser Asn Gln Ile Ser Lys Gly Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ala
        115   120   125
Asn Pro Val Ser Leu Thr Asp Lys Ile Gln Leu Ala Cys Leu Pro Pro
    130   135   140
Ala Gly Thr Ile Leu Pro Asn Asn Tyr Pro Cys Tyr Val Thr Gly Trp
145   150   155   160
Gly Arg Leu Gln Thr Asn Gly Ala Val Pro Asp Val Leu Gln Gln Gly
                165   170   175
Arg Leu Leu Val Val Asp Tyr Ala Thr Cys Ser Ser Ser Ala Trp Trp
            180   185   190
Gly Ser Ser Val Lys Thr Ser Met Ile Cys Ala Gly Gly Asp Gly Val
        195   200   205
Ile Ser Ser Cys Asn Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Asn Cys Gln Ala
    210   215   220

```
Ser Asp Gly Arg Trp Gln Val His Gly Ile Val Ser Phe Gly Ser Arg
225                 230                 235                 240
Leu Gly Cys Asn Tyr Tyr His Lys Pro Ser Val Phe Thr Arg Val Ser
                245                 250                 255

Asn Tyr Ile Asp Trp Ile Asn Ser Val Ile Ala Asn Asn
            260                 265
```

<210> 24
<211> 241
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Elastasa-2A madura

<400> 24

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

<210> 25
<211> 941
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa-2B

<400> 25
cttacagaac tcccacggac acaccatgat taggaccctg ctgctgtcca ctttggtggc 60
tggagccctc agttgtgggg tctccactta cgcgcctgat atgtctagga tgcttggagg 120
tgaagaagcg aggcccaaca gctggccctg gcaggtctcc ctgcagtaca gctccaatgg 180
ccagtggtac cacacctgcg gagggtccct gatagccaac agctgggtcc tgacggctgc 240
ccactgcatc agctcctccg ggatctaccg cgtgatgctg ggccagcata acctctacgt 300
tgcagagtcc ggctcgctgg ccgtcagtgt ctctaagatt gtggtgcaca aggactggaa 360
ctccgaccag gtctccaaag ggaacgacat tgccctgctc aaactggcta accccgtctc 420
cctcaccgac aagatccagc tggcctgcct ccctcctgcc ggcaccattc tacccaacaa 480
ctacccctgc tacgtcacgg gctggggaag gctgcagacc aacggggctc tccctgatga 540
cctgaagcag ggccggttgc tggttgtgga ctatgccacc tgctccagct ctggctggtg 600
gggcagcacc gtgaagacga atatgatctg tgctgggggt gatggcgtga tatgcacctg 660
caacggagac tccggtgggc cgctgaactg tcaggcatct gacggccggt gggaggtgca 720
tggcatcggc agcctcacgt cggtccttgg ttgcaactac tactacaagc cctccatctt 780
cacgcgggtc tccaactaca acgactggat caattcggtg attgcaaata actaaccaaa 840
agaagtccct gggactgttt cagacttgga aaggtcacag aaggaaaata atattatata 900
aagtgacaac tatgcaaatc acaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 941

<210> 26
<211> 269
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa-2B

<400> 26
Met Ile Arg Thr Leu Leu Leu Ser Thr Leu Val Ala Gly Ala Leu Ser
 1   5   10   15
Cys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Pro Asp Met Ser Arg Met Leu Gly Gly
            20   25   30
Glu Glu Ala Arg Pro Asn Ser Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Gln Tyr
        35   40   45
Ser Ser Asn Gly Gln Trp Tyr His Thr Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ala
    50   55   60
Asn Ser Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Ile Ser Ser Ser Arg Ile
65   70   75   80

Tyr Arg Val Met Leu Gly Gln His Asn Leu Tyr Val Ala Glu Ser Gly
                85   90   95
Ser Leu Ala Val Ser Val Ser Lys Ile Val Val His Lys Asp Trp Asn
            100   105   110
Ser Asn Gln Val Ser Lys Gly Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ala
        115   120   125
Asn Pro Val Ser Leu Thr Asp Lys Ile Gln Leu Ala Cys Leu Pro Pro
    130   135   140
Ala Gly Thr Ile Leu Pro Asn Asn Tyr Pro Cys Tyr Val Thr Gly Trp
145   150   155   160
Gly Arg Leu Gln Thr Asn Gly Ala Leu Pro Asp Asp Leu Lys Gln Gly
                165   170   175
Arg Leu Leu Val Val Asp Tyr Ala Thr Cys Ser Ser Ser Gly Trp Trp
            180   185   190
Gly Ser Thr Val Lys Thr Asn Met Ile Cys Ala Gly Gly Asp Gly Val
        195   200   205

590

```
Ile Cys Thr Cys Asn Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Asn Cys Gln Ala
    210                 215                 220
Ser Asp Gly Arg Trp Glu Val His Gly Ile Gly Ser Leu Thr Ser Val
225                 230                 235                 240
Leu Gly Cys Asn Tyr Tyr Tyr Lys Pro Ser Ile Phe Thr Arg Val Ser
                245                 250                 255
Asn Tyr Asn Asp Trp Ile Asn Ser Val Ile Ala Asn Asn
            260                 265
```

<210> 27
<211> 241
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Elastasa-2B madura

<400> 27

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

Leu Lys Gln Gly Arg Leu Leu Val Val Asp Tyr Ala Thr Cys Ser Ser
145                 150                 155                 160
Ser Gly Trp Trp Gly Ser Thr Val Lys Thr Asn Met Ile Cys Ala Gly
                165                 170                 175
Gly Asp Gly Val Ile Cys Thr Cys Asn Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu
            180                 185                 190
Asn Cys Gln Ala Ser Asp Gly Arg Trp Glu Val His Gly Ile Gly Ser
        195                 200                 205
Leu Thr Ser Val Leu Gly Cys Asn Tyr Tyr Tyr Lys Pro Ser Ile Phe
    210                 215                 220
Thr Arg Val Ser Asn Tyr Asn Asp Trp Ile Asn Ser Val Ile Ala Asn
225                 230                 235                 240
Asn
```

<210> 28
<211> 938
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa de neutrófilo

<400> 28
gcacggaggg gcagagaccc cggagcccca gccccaccat gaccctcggc cgccgactcg 60
cgtgtctttt cctcgcctgt gtcctgccgg ccttgctgct gggggggcacc gcgctggcct 120
cggagattgt gggggggccgg cgagcgcggc cccacgcgtg gcccttcatg gtgtccctgc 180
agctgcgcgg aggccacttc tgcggcgcca ccctgattgc gcccaacttc gtcatgtcgg 240
ccgcgcactg cgtggcgaat gtaaacgtcc gcgcggtgcg ggtggtcctg ggagcccata 300
acctctcgcg gcgggagccc acccggcagg tgttcgccgt gcagcgcatc ttcgaaaacg 360
gctacgaccc cgtaaacttg ctcaacgaca tcgtgattct ccagctcaac gggtcggcca 420
ccatcaacgc caacgtgcag gtggcccagc tgccggctca gggacgccgc ctgggcaacg 480
gggtgcagtg cctggccatg ggctggggcc ttctgggcag gaaccgtggg atcgccagcg 540
tcctgcagga gctcaacgtg acggtggtga cgtccctctg ccgtcgcagc aacgtctgca 600
ctctcgtgag gggccggcag gccggcgtct gtttcgggga ctccggcagc cccttggtct 660
gcaacgggct aatccacgga attgcctcct tcgtccgggg aggctgcgcc tcagggctct 720
accccgatgc ctttgccccg gtggcacagt ttgtaaactg gatcgactct atcatccaac 780
gctccgagga caacccctgt ccccaccccc gggacccgga cccggccagc aggacccact 840
gagaagggct gcccgggtca cctcagctgc ccacacccac actctccagc atctggcaca 900
ataaacattc tctgttttgt agaaaaaaaa aaaaaaaa 938

<210> 29
<211> 267
<212> PRT
<213> Homno sapiens

<220>
<223> Precursor de elastasa de neutrófilo

<400> 29
Met Thr Leu Gly Arg Arg Leu Ala Cys Leu Phe Leu Ala Cys Val Leu
 1   5   10   15

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

```
Arg Gln Ala Gly Val Cys Phe Gly Asp Ser Gly Ser Pro Leu Val Cys
        195                 200                 205
Asn Gly Leu Ile His Gly Ile Ala Ser Phe Val Arg Gly Gly Cys Ala
    210                 215                 220
Ser Gly Leu Tyr Pro Asp Ala Phe Ala Pro Val Ala Gln Phe Val Asn
225                 230                 235                 240
Trp Ile Asp Ser Ile Ile Gln Arg Ser Glu Asp Asn Pro Cys Pro His
                245                 250                 255
Pro Arg Asp Pro Asp Pro Ala Ser Arg Thr His
            260                 265
```

<210> 30
<211> 238
<212> PRT
<213> Homno sapiens

<220>
<223> Elastasa de neutrófilo madura

<400> 30

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

<210> 31
<211> 1001
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de proteinasa-3

<400> 31
cgtgggtgca ccctggaccc caccatggct caccggcccc ccagccctgc cctggcgtcc 60
gtgctgctgg ccttgctgct gagcggtgct gcccgagctg cggagatcgt gggcgggcac 120
gaggcgcagc cacactcccg gccctacatg gcctccctgc agatgcgggg gaacccgggc 180
agccacttct gcggaggcac cttgatccac cccagcttcg tgctgacggc cgcgcactgc 240
ctgcgggaca taccccagcg cctggtgaac gtggtgctcg gagcccacaa cgtgcggacg 300
caggagccca cccagcagca cttctcggtg gctcaggtgt ttctgaacaa ctacgacgcg 360
gagaacaaac tgaacgacgt tctcctcatc cagctgagca gcccagccaa cctcagtgcc 420
tccgtcgcca cagtccagct gccacagcag gaccagccag tgccccacgg cacccagtgc 480
ctggccatgg gctggggccg cgtgggtgcc cacgaccccc cagcccaggt cctgcaggag 540
ctcaatgtca ccgtggtcac cttcttctgc cggccacata acatttgcac tttcgtccct 600
cgccgcaagg ccggcatctg cttcggagac tcaggtggcc ccctgatctg tgatggcatc 660
atccaaggaa tagactcctt cgtgatctgg ggatgtgcca cccgcctttt ccctgacttc 720
ttcacgcggg tagccctcta cgtggactgg atccgttcca cgctgcgccg tgtggaggcc 780
aagggccgcc cctgaaccgc ccctcccaca gcgctggccg ggaccccgag cctggctcca 840
aaccctcgag gcggatcttt ggacagaagc agctcttccc cgaacactgt ggcgtccggg 900
acggccccac ccgtcccccc acactccctc ccacggggct ccgggagaca ggccggccct 960
gcacctcacc ccaccgtgac ctcaataaac gttgaaactc c 1001

<210> 32
<211> 256
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de proteinasa-3

<400> 32
Met Ala His Arg Pro Pro Ser Pro Ala Leu Ala Ser Val Leu Leu Ala
 1   5   10   15
Leu Leu Leu Ser Gly Ala Ala Arg Ala Ala Glu Ile Val Gly Gly His
            20   25   30
Glu Ala Gln Pro His Ser Arg Pro Tyr Met Ala Ser Leu Gln Met Arg
        35   40   45
Gly Asn Pro Gly Ser His Phe Cys Gly Gly Thr Leu Ile His Pro Ser
    50   55   60
Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Arg Asp Ile Pro Gln Arg Leu
65   70   75   80
Val Asn Val Val Leu Gly Ala His Asn Val Arg Thr Gln Glu Pro Thr
                85   90   95
Gln Gln His Phe Ser Val Ala Gln Val Phe Leu Asn Asn Tyr Asp Ala
            100   105   110
Glu Asn Lys Leu Asn Asp Val Leu Leu Ile Gln Leu Ser Ser Pro Ala
        115   120   125
Asn Leu Ser Ala Ser Val Ala Thr Val Gln Leu Pro Gln Gln Asp Gln
    130   135   140
Pro Val Pro His Gly Thr Gln Cys Leu Ala Met Gly Trp Gly Arg Val
145   150   155   160
Gly Ala His Asp Pro Pro Ala Gln Val Leu Gln Glu Leu Asn Val Thr
                165   170   175

```
Val Val Thr Phe Phe Cys Arg Pro His Asn Ile Cys Thr Phe Val Pro
            180                 185                 190
Arg Arg Lys Ala Gly Ile Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile
        195                 200                 205
Cys Asp Gly Ile Ile Gln Gly Ile Asp Ser Phe Val Ile Trp Gly Cys
    210                 215                 220
Ala Thr Arg Leu Phe Pro Asp Phe Phe Thr Arg Val Ala Leu Tyr Val
225                 230                 235                 240
Asp Trp Ile Arg Ser Thr Leu Arg Arg Val Glu Ala Lys Gly Arg Pro
                245                 250                 255
```

<210> 33
<211> 221
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Proteinasa-3 madura

<400> 33

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

<210> 34
<211> 846
<212> ADN
<213> Rattus sp.

<220>
<223> elastasa vascular endógena

<400> 34
atgcacagct ccgtgtacct cgtggctctg gtggtcctgg aggcggctgt atgtgttgcg 60
cagccccgag gtcggattct gggtggccag gaggccatgg cccatgctcg gccctacatg 120
gcttcagtgc aagtgaatgg cacgcacgtg tgcggtggca ccctggtgga tgagcagtgg 180
gtgctgagcg ccgcgcactg catggatgga gtgaccaagg atgaggttgt gcaggtgctc 240
ctgggtgccc actccctgtc cagtcctgaa ccctacaagc atttgtatga tgtgcaaagt 300
gtagtgcttc acccgggcag ccggcctgac agcgttgagg acgacctcat gctctttaag 360
ctctcccaca atgcctcact gggtccccat gtgagacccc tgcccttgca acgcgaggac 420
cgggaggtga aacccggcac gctctgcgat gtggccggtt ggggcgtggt cactcatgcg 480
ggacgcaggc ccgatgtcct gcagcaactg acagtgtcaa tcatggaccg gaacacctgc 540
aatctgcgca cgtaccatga tggggcaatc accaagaaca tgatgtgtgc agagagcaac 600
cgcagggaca cttgcagggg cgactccggc ggtcctctgg tgtgcgggga tgcggtcgaa 660
gctgtggtta cgtggggatc tcgagtctgt ggcaaccgga gaaagccagg tgtctttacc 720
cgcgtggcaa cctacgtgcc gtggattgaa aacgttctga gtggtaacgt gagtgttaac 780
gtgacggcct gaggggacac cggagaccgt gactcacaat aaatgcatgc atctaaaaaa 840
aaaaaa 846

<210> 35
<211> 262
<212> PRT
<213> Rattus sp.

<220>
<223> Precursor de elastasa vascular endógena

<400> 35
His Ser Ser Val Tyr Leu Val Ala Leu Val Val Leu Glu Ala Ala Val
 1   5   10   15
Cys Val Ala Gln Pro Arg Gly Arg Ile Leu Gly Gly Gln Glu Ala Met
            20   25   30
Ala His Ala Arg Pro Tyr Met Ala Ser Val Gln Val Asn Gly Thr His
        35   40   45
Val Cys Gly Gly Thr Leu Val Asp Glu Gln Trp Val Leu Ser Ala Ala
    50   55   60
His Cys Met Asp Gly Val Thr Lys Asp Glu Val Val Gln Val Leu Leu
65   70   75   80
Gly Ala His Ser Leu Ser Ser Pro Glu Pro Tyr Lys His Leu Tyr Asp
                85   90   95
Val Gln Ser Val Val Leu His Pro Gly Ser Arg Pro Asp Ser Val Glu
            100   105   110
Asp Asp Leu Met Leu Phe Lys Leu Ser His Asn Ala Ser Leu Gly Pro
        115   120   125
His Val Arg Pro Leu Pro Leu Gln Arg Glu Asp Arg Glu Val Lys Pro
    130   135   140
Gly Thr Leu Cys Asp Val Ala Gly Trp Gly Val Val Thr His Ala Gly
145   150   155   160
Arg Arg Pro Asp Val Leu Gln Gln Leu Thr Val Ser Ile Met Asp Arg
                165   170   175
Asn Thr Cys Asn Leu Arg Thr Tyr His Asp Gly Ala Ile Thr Lys Asn
            180   185   190
Met Met Cys Ala Glu Ser Asn Arg Arg Asp Thr Cys Arg Gly Asp Ser
        195   200   205
Gly Gly Pro Leu Val Cys Gly Asp Ala Val Glu Ala Val Val Thr Trp
    210   215   220

Gly Ser Arg Val Cys Gly Asn Arg Arg Lys Pro Gly Val Phe Thr Arg
225 230 235 240
Val Ala Thr Tyr Val Pro Trp Ile Glu Asn Val Leu Ser Gly Asn Val
245 250 255
Ser Val Asn Val Thr Ala
260

<210> 36
<211> 238
<212> PRT
<213> Rattus sp.

<220>
<223> elastasa vascular endógena madura

<400> 36
Ile Leu Gly Gly Gln Glu Ala Met Ala His Ala Arg Pro Tyr Met Ala
1 5 10 15

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

<210> 37
<211> 924
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de catepsina G

<400> 37
gcacagcagc aactgactgg gcagcctttc aggaaagatg cagccactcc tgcttctgct 60
ggcctttctc ctacccactg gggctgaggc aggggagatc atcggaggcc gggagagcag 120
gccccactcc cgcccctaca tggcgtatct tcagatccag agtccagcag gtcagagcag 180
atgtggaggg ttcctggtgc gagaagactt tgtgctgaca gcagctcatt gctggggaag 240
caatataaat gtcaccctgg gcgcccacaa tatccagaga cgggaaaaca cccagcaaca 300
catcactgcg cgcagagcca tccgccaccc tcaatataat cagcggacca tccagaatga 360
catcatgtta ttgcagctga gcagaagagt cagacggaat cgaaacgtga acccagtggc 420
tctgcctaga gcccaggagg gactgagacc cgggacgctg tgcactgtgg ccggctgggg 480
cagggtcagc atgaggaggg gaacagatac actccgagag gtgcagctga gagtgcagag 540
ggataggcag tgcctccgca tcttcggttc ctacgacccc cgaaggcaga tttgtgtggg 600
ggaccggcgg gaacggaagg ctgccttcaa gggggattcc ggaggccccc tgctgtgtaa 660
caatgtggcc cacggcatcg tctcctatgg aaagtcgtca ggggttcctc cagaagtctt 720
caccagggtc tcaagtttcc tgccctggat aaggacaaca atgagaagct tcaaactgct 780
ggatcagatg gagacccccc tgtgactgac tcttcttctc ggggacacag gccagctcca 840
cagtgttgcc agagccttaa taaacgtcca cagagtataa ataaccaatt cctcatttgt 900
tcattaaacg tcattcagta ctta 924

<210> 38
<211> 255
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de catepsina G

<400> 38
Met Gln Pro Leu Leu Leu Leu Leu Ala Phe Leu Leu Pro Thr Gly Ala
 1   5   10   15
Glu Ala Gly Glu Ile Ile Gly Gly Arg Glu Ser Arg Pro His Ser Arg
            20   25   30
Pro Tyr Met Ala Tyr Leu Gln Ile Gln Ser Pro Ala Gly Gln Ser Arg
        35   40   45
Cys Gly Gly Phe Leu Val Arg Glu Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His
    50   55   60
Cys Trp Gly Ser Asn Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Gln
65   70   75   80
Arg Arg Glu Asn Thr Gln Gln His Ile Thr Ala Arg Arg Ala Ile Arg
                85   90   95
His Pro Gln Tyr Asn Gln Arg Thr Ile Gln Asn Asp Ile Met Leu Leu
            100   105   110
Gln Leu Ser Arg Arg Val Arg Arg Asn Arg Asn Val Asn Pro Val Ala
        115   120   125
Leu Pro Arg Ala Gln Glu Gly Leu Arg Pro Gly Thr Leu Cys Thr Val
    130   135   140
Ala Gly Trp Gly Arg Val Ser Met Arg Arg Gly Thr Asp Thr Leu Arg
145   150   155   160
Glu Val Gln Leu Arg Val Gln Arg Asp Arg Gln Cys Leu Arg Ile Phe
                165   170   175
Gly Ser Tyr Asp Pro Arg Arg Gln Ile Cys Val Gly Asp Arg Arg Glu
            180   185   190
Arg Lys Ala Ala Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Asn
        195   200   205
Asn Val Ala His Gly Ile Val Ser Tyr Gly Lys Ser Ser Gly Val Pro
    210   215   220
Pro Glu Val Phe Thr Arg Val Ser Ser Phe Leu Pro Trp Ile Arg Thr
225   230   235   240

598

```
Thr Met Arg Ser Phe Lys Leu Leu Asp Gln Met Glu Thr Pro Leu
                245                 250                 255


<210> 39
<211> 235
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina G madura

<400> 39
Ile Ile Gly Gly Arg Glu Ser Arg Pro His Ser Arg Pro Tyr Met Ala
 1               5                  10                  15
Tyr Leu Gln Ile Gln Ser Pro Ala Gly Gln Ser Arg Cys Gly Gly Phe
            20                  25                  30
Leu Val Arg Glu Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Trp Gly Ser
        35                  40                  45
Asn Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Gln Arg Arg Glu Asn
    50                  55                  60
Thr Gln Gln His Ile Thr Ala Arg Arg Ala Ile Arg His Pro Gln Tyr
65                  70                  75                  80
Asn Gln Arg Thr Ile Gln Asn Asp Ile Met Leu Leu Gln Leu Ser Arg
                85                  90                  95
Arg Val Arg Arg Asn Arg Asn Val Asn Pro Val Ala Leu Pro Arg Ala
            100                 105                 110
Gln Glu Gly Leu Arg Pro Gly Thr Leu Cys Thr Val Ala Gly Trp Gly
        115                 120                 125
Arg Val Ser Met Arg Arg Gly Thr Asp Thr Leu Arg Glu Val Gln Leu
    130                 135                 140
Arg Val Gln Arg Asp Arg Gln Cys Leu Arg Ile Phe Gly Ser Tyr Asp
145                 150                 155                 160
Pro Arg Arg Gln Ile Cys Val Gly Asp Arg Arg Glu Arg Lys Ala Ala
                165                 170                 175
Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Asn Asn Val Ala His
            180                 185                 190
Gly Ile Val Ser Tyr Gly Lys Ser Ser Gly Val Pro Pro Glu Val Phe
        195                 200                 205
Thr Arg Val Ser Ser Phe Leu Pro Trp Ile Arg Thr Thr Met Arg Ser
    210                 215                 220
Phe Lys Leu Leu Asp Gln Met Glu Thr Pro Leu
225                 230                 235


<210> 40
<211> 784
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de quimasa de célula madre

<400> 40
agcatttgct caggcagcct ctctgggaag atgctgcttc ttcctctccc cctgctgctc 60
tttctcttgt gctccagagc tgaagctggg gagatcatcg ggggcacaga atgcaagcca 120
cattcccgcc cctacatggc ctacctggaa attgtaactt ccaacggtcc ctcaaaattt 180
```

599

tgtggtggtt tccttataag acggaacttt gtgctgacgg ctgctcattg tgcaggaagg 240
tctataacag tcacccttgg agcccataac ataacagagg aagaagacac atggcagaag 300
cttgaggtta taaagcaatt ccgtcatcca aaatataaca cttctactct tcaccacgat 360
atcatgttac taaagttgaa ggagaaagcc agcctgaccc tggctgtggg gacactcccc 420
ttcccatcac aattcaactt tgtcccacct gggagaatgt gccgggtggc tggctgggga 480
agaacaggtg tgttgaagcc gggctcagac actctgcaag aggtgaagct gagactcatg 540
gatccccagg cctgcagcca cttcagagac tttgaccaca atcttcagct gtgtgtgggc 600
aatcccagga agacaaaatc tgcatttaag ggagactctg ggggccctct tctgtgtgct 660
ggggtggccc agggcatcgt atcctatgga cggtcggatg caaagccccc tgctgtcttc 720
acccgaatct cccattaccg gccctggatc aaccagatcc tgcaggcaaa ttaatcctgg 780
atcc 784

<210> 41
<211> 247
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de quimasa de célula madre

<400> 41

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

<210> 42

600

<211> 226
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Quimasa de célula madre madura

<400> 42
Ile Ile Gly Gly Thr Glu Cys Lys Pro His Ser Arg Pro Tyr Met Ala
1 5 10 15
Tyr Leu Glu Ile Val Thr Ser Asn Gly Pro Ser Lys Phe Cys Gly Gly
20 25 30
Phe Leu Ile Arg Arg Asn Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Ala Gly
35 40 45
Arg Ser Ile Thr Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Thr Glu Glu Glu
50 55 60
Asp Thr Trp Gln Lys Leu Glu Val Ile Lys Gln Phe Arg His Pro Lys
65 70 75 80
Tyr Asn Thr Ser Thr Leu His His Asp Ile Met Leu Leu Lys Leu Lys
85 90 95
Glu Lys Ala Ser Leu Thr Leu Ala Val Gly Thr Leu Pro Phe Pro Ser
100 105 110
Gln Phe Asn Phe Val Pro Pro Gly Arg Met Cys Arg Val Ala Gly Trp
115 120 125

Gly Arg Thr Gly Val Leu Lys Pro Gly Ser Asp Thr Leu Gln Glu Val
130 135 140
Lys Leu Arg Leu Met Asp Pro Gln Ala Cys Ser His Phe Arg Asp Phe
145 150 155 160
Asp His Asn Leu Gln Leu Cys Val Gly Asn Pro Arg Lys Thr Lys Ser
165 170 175
Ala Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Ala Gly Val Ala
180 185 190
Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Ser Asp Ala Lys Pro Pro Ala Val
195 200 205
Phe Thr Arg Ile Ser His Tyr Arg Pro Trp Ile Asn Gln Ile Leu Gln
210 215 220
Ala Asn
225

<210> 43
<211> 855
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de triptasa de célula madre

<400> 43
aggcccacga tgctcctcct tgctccccag atgctgagcc tgctgctgct ggcgctgccc 60
gtcctggcga gcccggccta cgtggccccc gccccaggcc aggccctgca gcaaacgggc 120
attgttgggg ggcaggaggc ccccaggagc aagtggccct ggcaggtgag cctgagagtc 180
cgcggcccat actggatgca cttctgcggg ggctccctca tccacccccа gtgggtgcta 240
accgcggcgc actgcgtgga accggacatc aaggatctgg ccgccctcag ggtgcaactg 300
cgggagcagc acctctacta ccaggaccag ctgctgccgg tcagcaggat catcgtgcac 360
ccacagttct acatcatcca gaccggggcg gacatcgccc tgctggagct ggaggagccc 420

601

gtgaacatct ccagccacat ccacacggtc acgctgcccc ctgcctcgga gaccttcccc 480
ccggggatgc cgtgctgggt cactggctgg ggcgacgtgg acaataatgt gcacctgccg 540
ccgccatacc cgctgaagga ggtggaagtc cccgtagtgg aaaaccacct ttgcaacgcg 600
gaatatcaca ccggcctcca tacgggccac agctttcaaa tcgtccgcga tgacatgctg 660
tgtgcgggga gcgaaaatca cgactcctgc cagggtgact ctggagggcc cctggtctgc 720
aaggtgaatg gcacctaact gcaggcgggc gtggtcagct gggaggagag ctgtgcccag 780
cccaaccggc ctggcatcta cacccgtgtc acctactact tggactggat ccaccactat 840
gtccccaaga agccc 855

<210> 44
<211> 242
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Precursor de triptasa de célula madre

<400> 44
Met Leu Leu Leu Ala Pro Gln Met Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ala Leu
 1   5   10   15
Pro Val Leu Ala Ser Pro Ala Tyr Val Ala Pro Ala Pro Gly Gln Ala
            20   25   30
Leu Gln Gln Thr Gly Ile Val Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys
        35   40   45
Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Val Arg Gly Pro Tyr Trp Met His
    50   55   60
Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala
65   70   75   80
His Cys Val Glu Pro Asp Ile Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln
                85   90   95
Leu Arg Glu Gln His Leu Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser
            100   105   110
Arg Ile Ile Val His Pro Gln Phe Tyr Ile Ile Gln Thr Gly Ala Asp
        115   120   125
Ile Ala Leu Leu Glu Leu Glu Glu Pro Val Asn Ile Ser Ser His Ile
    130   135   140
His Thr Val Thr Leu Pro Pro Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met
145   150   155   160
Pro Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Asp Val Asp Asn Asn Val His Leu
                165   170   175
Pro Pro Pro Tyr Pro Leu Lys Glu Val Glu Val Pro Val Val Glu Asn
            180   185   190
His Leu Cys Asn Ala Glu Tyr His Thr Gly Leu His Thr Gly His Ser
        195   200   205
Phe Gln Ile Val Arg Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Ser Glu Asn His
    210   215   220
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn
225   230   235   240
Gly Thr

<210> 45
<211> 205
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Triptasa de célula madre madura

<400> 45

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

Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Ser Glu Asn His Asp Ser Cys Gln Gly
            180                 185                 190
Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr
        195                 200                 205
```

<210> 46
<211> 2732
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de plasmina

<400> 46

```
aacaacatcc tgggattggg acccactttc tgggcactgc tggccagtcc caaaatggaa 60
cataaggaag tggttcttct acttctttta tttctgaaat caggtcaagg agagcctctg 120
gatgactatg tgaataccca gggggcttca ctgttcagtg tcactaagaa gcagctggga 180
gcaggaagta tagaagaatg tgcagcaaaa tgtgaggagg acgaagaatt cacctgcagg 240
gcattccaat atcacagtaa agagcaacaa tgtgtgataa tggctgaaaa caggaagtcc 300
tccataatca ttaggatgag agatgtagtt ttatttgaaa agaaagtgta tctctcagag 360
tgcaagactg ggaatggaaa gaactacaga gggacgatgt ccaaaacaaa aaatggcatc 420
acctgtcaaa aatggagttc cacttctccc cacagaccta gattctcacc tgctacacac 480
ccctcagagg gactggagga gaactactgc aggaatccag acaacgatcc gcaggggccc 540
tggtgctata ctactgatcc agaaaagaga tatgactact gcgacattct tgagtgtgaa 600
gaggaatgta tgcattgcag tggagaaaac tatgacggca aaatttccaa gaccatgtct 660
ggactggaat gccaggcctg ggactctcag agcccacacg ctcatggata cattccttcc 720
aaatttccaa acaagaacct gaagaagaat tactgtcgta accccgatag ggagctgcgg 780
ccttggtgtt tcaccaccga ccccaacaag cgctgggaac tttgcgacat cccccgctgc 840
acaacacctc caccatcttc tggtcccacc taccagtgtc tgaagggaac aggtgaaaac 900
```

603

tatcgcggga atgtggctgt taccgtttcc gggcacacct gtcagcactg gagtgcacag 960
acccctcaca cacataacag gacaccagaa aacttcccct gcaaaaattt ggatgaaaac 1020
tactgccgca atcctgacgg aaaaagggcc ccatggtgcc atacaaccaa cagccaagtg 1080
cggtgggagt actgtaagat accgtcctgt gactcctccc cagtatccac ggaacaattg 1140
gctcccacag caccacctga gctaacccct gtggtccagg actgctacca tggtgatgga 1200
cagagctacc gaggcacatc ctccaccacc accacaggaa agaagtgtca gtcttggtca 1260
tctatgacac cacaccggca ccagaagacc ccagaaaact acccaaatgc tggcctgaca 1320
atgaactact gcaggaatcc agatgccgat aaaggcccct ggtgttttac cacagacccc 1380
agcgtcaggt gggagtactg caacctgaaa aaatgctcag gaacagaagc gagtgttgta 1440
gcacctccgc ctgttgtcct gcttccagat gtagagactc cttccgaaga agactgtatg 1500
tttgggaatg ggaaaggata ccgaggcaag agggcgacca ctgttactgg gacgccatgc 1560
caggactggg ctgcccagga gccccataga cacagcattt tcactccaga gacaaatcca 1620
cgggcgggtc tggaaaaaaa ttactgccgt aaccctgatg gtgatgtagg tggtccctgg 1680
tgctacacga caaatccaag aaaactttac gactactgtg atgtccctca gtgtgcggcc 1740
ccttcatttg attgtgggaa gcctcaagtg gagccgaaga aatgtcctgg aagggttgtg 1800
gggggggtgtg tggcccaccc acattcctgg ccctggcaag tcagtcttag aacaaggttt 1860
ggaatgcact tctgtggagg caccttgata tccccagagt gggtgttgac tgctgcccac 1920
tgcttggaga agtccccaag gccttcatcc tacaaggtca tcctgggtgc acaccaagaa 1980
gtgaatctcg aaccgcatgt tcaggaaata gaagtgtcta ggctgttctt ggagcccaca 2040
cgaaaagata ttgccttgct aaagctaagc agtcctgccg tcatcactga caaagtaatc 2100
ccagcttgtc tgccatcccc aaattatgtg gtcgctgacc ggaccgaatg tttcatcact 2160
ggctggggag aaacccaagg tacttttgga gctggccttc tcaaggaagc ccagctccct 2220
gtgattgaga ataaagtgtg caatcgctat gagtttctga atggaagagt ccaatccacc 2280
gaactctgtg ctgggcattt ggccggaggc actgacagtt gccagggtga cagtggaggt 2340
cctctggttt gcttcgagaa ggacaaatac attttacaag gagtcacttc ttggggtctt 2400
ggctgtgcac gccccaataa gcctggtgtc tatgttcgtg tttcaaggtt tgttacttgg 2460
attgagggag tgatgagaaa taattaattg gacgggagac agagtgacgc actgactcac 2520
ctagaggctg ggacgtgggt agggatttag catgctggaa ataactggca gtaatcaaac 2580
gaagacactg tccccagcta ccagctacgc caaacctcgg catttttgt gttattttct 2640
gactgctgga ttctgtagta aggtgacata gctatgacat ttgttaaaaa taaactctgt 2700
acttaacttt gatttgagta aattttggtt tt 2732

<210> 47
<211> 810
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de plasmina

<400> 47

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

604

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

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

605

```
Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala His Pro His Ser Trp
            580                 585                 590
Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met His Phe Cys Gly
        595                 600                 605
Gly Thr Leu Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu
    610                 615                 620
Glu Lys Ser Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile Leu Gly Ala His
625                 630                 635                 640
Gln Glu Val Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile Glu Val Ser Arg
                645                 650                 655
Leu Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser
            660                 665                 670
Ser Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser
        675                 680                 685
Pro Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp
    690                 695                 700
Gly Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln
705                 710                 715                 720
Leu Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn
                725                 730                 735
Gly Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly
            740                 745                 750
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu
        755                 760                 765
Lys Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys
    770                 775                 780
Ala Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val
785                 790                 795                 800
Thr Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
                805                 810
```

<210> 48
<211> 713
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> plasmina madura

<400> 48

```
Val Tyr Leu Ser Glu Cys Lys Thr Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Arg Gly
 1                5                  10                  15
Thr Met Ser Lys Thr Lys Asn Gly Ile Thr Cys Gln Lys Trp Ser Ser
            20                  25                  30
Thr Ser Pro His Arg Pro Arg Phe Ser Pro Ala Thr His Pro Ser Glu
        35                  40                  45
Gly Leu Glu Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Asp Pro Gln Gly
    50                  55                  60

Pro Trp Cys Tyr Thr Thr Asp Pro Glu Lys Arg Tyr Asp Tyr Cys Asp
65                  70                  75                  80
Ile Leu Glu Cys Glu Glu Glu Cys Met His Cys Ser Gly Glu Asn Tyr
                85                  90                  95
Asp Gly Lys Ile Ser Lys Thr Met Ser Gly Leu Glu Cys Gln Ala Trp
            100                 105                 110
```

606

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

607

```
Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser Ser
                565                 570                 575
Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser Pro
            580                 585                 590
Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp Gly
        595                 600                 605
Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln Leu
    610                 615                 620
Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn Gly
625                 630                 635                 640
Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly Thr
                645                 650                 655
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu Lys
            660                 665                 670
Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys Ala
        675                 680                 685
Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val Thr
    690                 695                 700
Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
705                 710
```

<210> 49
<211> 1997
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de trombina

<400> 49

```
aattcctcag tgacccagga gctgacacac tatggcgcac gtccgaggct tgcagctgcc 60
tggctgcctg gccctggctg ccctgtgtag ccttgtgcac agccagcatg tgttcctggc 120
tcctcagcaa gcacggtcgc tgctccagcg ggtccggcga gccaacacct tcttggagga 180
ggtgcgcaag ggcaacctag agcgagagtg cgtggaggag acgtgcagct acgaggaggc 240
cttcgaggct ctggagtcct ccacggctac ggatgtgttc tgggccaagt acacagcttg 300
tgagacagcg aggacgcctc gagataagct tgctgcatgt ctggaaggta actgtgctga 360
gggtctgggt acgaactacc gagggcatgt gaacatcacc cggtcaggca ttgagtgcca 420
gctatggagg agtcgctacc cacataagcc tgaaatcaac tccactaccc atcctggggc 480
cgacctacag gagaatttct gccgcaaccc cgacagcagc accacgggac cctggtgcta 540
cactacagac cccaccgtga ggaggcagga atgcagcatc cctgtctgtg gccaggatca 600
agtcactgta gcgatgactc cacgctccga aggctccagt gtgaatctgt cacctccatt 660
ggagcagtgt gtccctgatc gggggcagca gtaccagggg cgcctggcgg tgaccacaca 720
tgggctcccc tgcctggcct gggccagcgc acaggccaag gccctgagca agcaccagga 780
cttcaactca gctgtgcagc tggtggagaa cttctgccgc aacccagacg gggatgagga 840
gggcgtgtgg tgctatgtgg ccgggaagcc tggcgacttt gggtactgcg acctcaacta 900
ttgtgaggag gccgtggagg aggagacagg agatgggctg gatgaggact cagacagggc 960
catcgaaggg cgtaccgcca ccagtgagta ccagactttc ttcaatccga ggacctttgg 1020
ctcgggagag gcagactgtg ggctgcgacc tctgttcgag aagaagtcgc tggaggacaa 1080
aaccgaaaga gagctcctgg aatcctacat cgacgggcgc attgtggagg gctcggatgc 1140
agagatcggc atgtcacctt ggcaggtgat gcttttccgg aagagtcccc aggagctgct 1200
gtgtggggcc agcctcatca gtgaccgctg ggtcctcacc gccgcccact gcctcctgta 1260
cccgccctgg gacaagaact tcaccgagaa tgaccttctg gtgcgcattg gcaagcactc 1320
ccgcacaagg tacgagcgaa acattgaaaa gatatccatg ttggaaaaga tctacatcca 1380
ccccaggtac aactggcggg agaacctgga ccgggacatt gccctgatga agctgaagaa 1440
gcctgttgcc ttcagtgact acattcaccc tgtgtgtctg cccgacaggg agacggcagc 1500
cagcttgctc caggctggat acaaggggcg ggtgacaggc tggggcaacc tgaaggagac 1560
```

608

gtggacagcc aacgttggta aggggcagcc cagtgtcctg caggtggtga acctgcccat 1620
tgtggagcgg ccggtctgca aggactccac ccggatccgc atcactgaca acatgttctg 1680
tgctggttac aagcctgatg aagggaaacg aggggatgcc tgtgaaggtg acagtggggg 1740
acccctttgtc atgaagagcc cctttaacaa ccgctggtat caaatgggca tcgtctcatg 1800
gggtgaaggc tgtgaccggg atgggaaata tggcttctac acacatgtgt tccgcctgaa 1860
gaagtggata cagaaggtca ttgatcagtt tggagagtag gggccactca tattctgggc 1920
tcctggaacc aatcccgtga aagaattatt tttgtgtttc taaaactatg gttcccaata 1980
aaagtgactc tcagcgg 1997

<210> 50
<211> 622
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de trombina

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

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

```
Glu Asp Ser Asp Arg Ala Ile Glu Gly Arg Thr Ala Thr Ser Glu Tyr
305                 310                 315                 320
Gln Thr Phe Phe Asn Pro Arg Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp Cys
                325                 330                 335
Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu Lys Lys Ser Leu Glu Asp Lys Thr Glu
            340                 345                 350
Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp Gly Arg Ile Val Glu Gly Ser
        355                 360                 365
Asp Ala Glu Ile Gly Met Ser Pro Trp Gln Val Met Leu Phe Arg Lys
    370                 375                 380
Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu Ile Ser Asp Arg Trp
385                 390                 395                 400
Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro Pro Trp Asp Lys Asn
                405                 410                 415
Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly Lys His Ser Arg Thr
            420                 425                 430
Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met Leu Glu Lys Ile Tyr
        435                 440                 445
Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu Asp Arg Asp Ile Ala
    450                 455                 460
Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser Asp Tyr Ile His Pro
465                 470                 475                 480
Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser Leu Leu Gln Ala Gly
                485                 490                 495
Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu Lys Glu Thr Trp Thr
            500                 505                 510
Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu Gln Val Val Asn Leu
        515                 520                 525
Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser Thr Arg Ile Arg Ile
    530                 535                 540
Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Glu Gly Lys Arg
545                 550                 555                 560
Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Met Lys Ser
                565                 570                 575
Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu
            580                 585                 590
Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr Thr His Val Phe Arg
        595                 600                 605
Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln Phe Gly Glu
    610                 615                 620
```

<210> 51
<211> 579
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Trombina madura

<400> 51

```
Ala Asn Thr Phe Leu Glu Glu Val Arg Lys Gly Asn Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Val Glu Glu Thr Cys Ser Tyr Glu Glu Ala Phe Glu Ala Leu Glu
            20                  25                  30
Ser Ser Thr Ala Thr Asp Val Phe Trp Ala Lys Tyr Thr Ala Cys Glu
        35                  40                  45
```

610

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

Met Leu Phe Arg Lys Ser Pro Gln Glu Leu Leu Cys Gly Ala Ser Leu
            340                 345                 350
Ile Ser Asp Arg Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Leu Tyr Pro
        355                 360                 365
Pro Trp Asp Lys Asn Phe Thr Glu Asn Asp Leu Leu Val Arg Ile Gly
    370                 375                 380
Lys His Ser Arg Thr Arg Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Met
385                 390                 395                 400
Leu Glu Lys Ile Tyr Ile His Pro Arg Tyr Asn Trp Arg Glu Asn Leu
                405                 410                 415
Asp Arg Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu Lys Lys Pro Val Ala Phe Ser
            420                 425                 430
Asp Tyr Ile His Pro Val Cys Leu Pro Asp Arg Glu Thr Ala Ala Ser
        435                 440                 445
Leu Leu Gln Ala Gly Tyr Lys Gly Arg Val Thr Gly Trp Gly Asn Leu
    450                 455                 460
Lys Glu Thr Trp Thr Ala Asn Val Gly Lys Gly Gln Pro Ser Val Leu
465                 470                 475                 480
Gln Val Val Asn Leu Pro Ile Val Glu Arg Pro Val Cys Lys Asp Ser
                485                 490                 495
```

```
Thr Arg Ile Arg Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Lys Pro
            500                 505                 510
Asp Glu Gly Lys Arg Gly Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro
        515                 520                 525
Phe Val Met Lys Ser Pro Phe Asn Asn Arg Trp Tyr Gln Met Gly Ile
    530                 535                 540
Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Asp Arg Asp Gly Lys Tyr Gly Phe Tyr
545                 550                 555                 560
Thr His Val Phe Arg Leu Lys Lys Trp Ile Gln Lys Val Ile Asp Gln
                565                 570                 575
Phe Gly Glu
```

<210> 52
<211> 955
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de granzima B

<400> 52

```
ccaagagcta aaagagagta agggggaaac aacagcagct ccaaccaggg cagccttcct 60
gagaagatgc aaccaatcct gcttctgctg gccttcctcc tgctgcccag ggcagatgca 120
ggggagatca tcgggggaca tgaggccaag ccccactccc gcccctacat ggcttatctt 180
atgatctggg atcagaagtc tctgaagagg tgcggtggct tcctgataca agacgacttc 240
gtgctgacag ctgctcactg ttggggaagc tccataaatg tcaccttggg ggcccacaat 300
atcaaagaac aggagccgac ccagcagttt atccctgtga aaagacccat cccccatcca 360
gcctataatc ctaagaactt ctccaacgac atcatgctac tgcagctgga gagaaaggcc 420
aagcggacca gagctgtgca gcccctcagg ctacctagca acaaggccca ggtgaagcca 480
gggcagacat gcagtgtggc cggctggggg cagacggccc ccctgggaaa acactcacac 540
acactacaag aggtgaagat gacagtgcag gaagatcgaa agtgcgaatc tgacttacgc 600
cattattacg acagtaccat tgagttgtgc gtgggggacc cagagattaa aaagacttcc 660
tttaaggggg actctggagg ccctcttgtg tgtaacaagg tggcccaggg cattgtctcc 720
tatggacgaa acaatggcat gcctccacga gcctgcacca aagtctcaag ctttgtacac 780
tggataaaga aaaccatgaa acgctactaa ctacaggaag caaactaagc ccccgctgta 840
atgaaacacc ttctctggag ccaagtccag atttacactg ggagaggtgc cagcaactga 900
ataaatacct cttagctgag tggaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa      955
```

<210> 53
<211> 247
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de granzima B

<400> 53

```
Met Gln Pro Ile Leu Leu Leu Leu Ala Phe Leu Leu Leu Pro Arg Ala
 1               5                  10                  15
Asp Ala Gly Glu Ile Ile Gly Gly His Glu Ala Lys Pro His Ser Arg
            20                  25                  30
Pro Tyr Met Ala Tyr Leu Met Ile Trp Asp Gln Lys Ser Leu Lys Arg
        35                  40                  45
Cys Gly Gly Phe Leu Ile Gln Asp Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His
    50                  55                  60
```

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

<210> 54
<211> 227
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Granzima B madura

<400> 54

```
Ile Ile Gly Gly His Glu Ala Lys Pro His Ser Arg Pro Tyr Met Ala
 1               5                  10                  15

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

613

```
Tyr Asp Ser Thr Ile Glu Leu Cys Val Gly Asp Pro Glu Ile Lys Lys
                165                 170                 175
Thr Ser Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Lys Val
            180                 185                 190
Ala Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Asn Asn Gly Met Pro Pro Arg
        195                 200                 205
Ala Cys Thr Lys Val Ser Ser Phe Val His Trp Ile Lys Lys Thr Met
    210                 215                 220
Lys Arg Tyr
225
```

<210> 55
<211> 4100
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina S

<400> 55
gtacctcatg tgacaagttc caatttcttt tcaagtcaat tgaactgaaa tctccttgtt 60
gctttgaaat cttagaagag agcccactaa ttcaaggact cttactgtgg gagcaactgc 120
tggttctatc acaatgaaac ggctggtttg tgtgctcttg gtgtgctcct ctgcagtggc 180
acagttgcat aaagatccta ccctggatca ccactggcat ctctggaaga aaacctatgg 240
caaacaatac aaggaaaaga atgaagaagc agtacgacgt ctcatctggg aaaagaatct 300
aaagtttgtg atgcttcaca acctggagca ttcaatggga atgcactcat acgatctggg 360
catgaaccac ctgggagaca tgaccagtga agaagtgatg tctttgatga gttccctgag 420
agttcccagc cagtggcaga gaaatatcac atataagtca aaccctaatc ggatattgcc 480
tgattctgtg gactggagag agaaagggtg tgttactgaa gtgaaatatc aaggttcttg 540
tggtgcttgc tgggctttca gtgctgtggg ggccctggaa gcacagctga agctgaaaac 600
aggaaagctg gtgtctctca gtgcccagaa cctggtggat tgctcaactg aaaaatatgg 660
aaacaaaggc tgcaatggtg gcttcatgac aacggctttc cagtacatca ttgataacaa 720
gggcatcgac tcagacgctt cctatcccta caaagccatg gatcagaaat gtcaatatga 780
ctcaaaatat cgtgctgcca catgttcaaa gtacactgaa cttccttatg gcagagaaga 840
tgtcctgaaa gaagctgtgg ccaataaagg cccagtgtct gttggtgtag atgcgcgtca 900
tccttctttc ttcctctaca gaagtggtgt ctactatgaa ccatcctgta ctcagaatgt 960
gaatcatggt gtacttgtgg ttggctatgg tgatcttaat gggaaagaat actggcttgt 1020
gaaaaacagc tggggccaca actttggtga agaaggatat attcggatgg caagaaataa 1080
aggaaatcat tgtgggattg ctagctttcc ctcttaccca gaaatctaga ggatctctcc 1140
tttttataac aaatcaagaa atatgaagca ctttctctta acttaatttt tcctgctgta 1200
tccagaagaa ataattgtgt catgattaat gtgtatttac tgtactaatt agaaaatata 1260
gtttgaggcc gggcacggtg gctcacgcct gtaatcccag tacttgggag gccaaggcag 1320
gcatatcaac ttgaggccag gagttaaaga gcagcctggc taacatggtg aaaccccatc 1380
tctactaaaa atacaaaaaa ttagccgagc acggtggtgc atgcctgtaa tcccagctac 1440
ttgggaggct gaggcacgag attccttgaa cccaagaggt tgaggctatg ttgagctgag 1500
atcacaccac tgtactccag cctggatgac agagtggaga ctctgtttca aaaaaacaga 1560
aaagaaaata tagtttgatt cttcattttt ttaaatttgc aaatctcagg ataaagtttg 1620
ctaagtaaat tagtaatgta ctatagatat aactgtacaa aaattgttca acctaaaaca 1680
atctgtaatt gcttattgtt ttattgtata ctctttgtct ttttaagacc cctaatagcc 1740
ttttgtaact tgatggctta aaaatactta ataaatctgc catttcaaat ttctatcatt 1800
gccacatacc attcttattc ctaggcaact attaataatc tatcctgaga atattaattg 1860
tggtattctg gtgatggggt ttagcaactt tgatggaaga aaatattagg ctataaatgt 1920
cctaaggact cagattgtat ctttgtacag aagaggattc aaaacgccac gtgtagtggc 1980
tcatgcctgt aatcccaaca ctttgggagg ctgaagtagg aggatcgtct tgagcccagg 2040
agttcaagac cagcctggac aacatagtga gaccttgtct ccacaaaaat aaaaaagaaa 2100
ctatccagga gtggtggtgt gtgcctgtgg tccctgctat gcagatgtct aagacaggag 2160

gatcacaaga gcccaggagg ttgagaatgc agtgagcttg taattgcacc actgcactcc 2220
agcctgggtg acagagcaag accctgtctt aaaaaaagag gattcaacac atatttttat 2280
attatgttaa agtaaagaaa tgcataaaag acaagcactt tggaagaatt attttaatga 2340
tcaacaattt aatgtattag tccaaattat ttttacgtag tcatcaacaa tttgaccagg 2400
gcctttattt ggcaaataac tgagccaacc agaataaaat aaccaatact ccactgctca 2460
tatttttatc taattcagat ggatcttcct tacaactgct ctagattagt agatgcatct 2520
aagcaggcag caggaacttt aaatttttta agttcatgtc tatgacatga acaatgtgtg 2580
ggataatgtc attaatatat cctaaattaa cctaaacgta tttcactaac tctggctcct 2640
tctccataaa gcacatttta aggaacaaga attgctaaat ataaaaacat aaataatacc 2700
ataatacatg gctatcatca aaagtgtata gaatattata gtttaaaagt atttagttga 2760
ttacttttca gttttgtttt gttttttgag acggagtctc actctgttgc ccaggctgga 2820
gtgcagtggc accatctcag ttcactgcaa cttctgcctc ccgagttcaa gcgattctcc 2880
tgcctcagcc tcccgagtag ctggaattat aggcgtgcac caccacgccc agctaatttt 2940
tgtattttta gtaaagacag ggttttgcca cattagccag gctggtctca aactcctgac 3000
ctcaggtgat ccacccaccc cagcctccca aagtgctaag attacaggcg tgagccactg 3060
agcccagcct acttttcagt ttttaacata atttttgttt tatccacaac ttttcaagta 3120
ttgaaagtag aataaaaaca tgggttctta gtctttagct atctgttaaa gcctatgaat 3180
gccttcttaa aatcatgttt ttaaatgcat aaaatatata ggattacaaa ggaatctaat 3240
tatatcgaaa tacagttatt aaaatgttaa aagataagtt tgttatatat taatatgcat 3300
gcttctttat aaatgcatta aataagagtt aatagctatc ctaaatttga aatagtgata 3360
agcataatga aaatagatgc aaaaaactaa tgtgatatga aaatatctgg gtttttcttt 3420
tgatgatgaa gtattgctaa tattaccgtg gtttatgaac tatgttcaga attgaagaaa 3480
atcctaactt tcagttagag gttagtgacg gggttcagga caccctacac aaaatacagc 3540
actttgacat attgaatatt ttaagctgaa ggcatttgag gaaattgcag aagcaggaag 3600
gtgactctga ccttctgcct gctgttctcc ccagaagcag ccataaaacc tgggaaggat 3660
tttctgacct tcccctgaag tagatcataa gactgtcatg taagaggtgc tctcctggca 3720
cccagagaaa aggagcatcc ttacctccaa aagcacaggg acacaaagag gaatctaaac 3780
aaacaggcct ctcagtttcc cccagtttat tacatttagc ttgttcacac tttgccctat 3840
gacatttcta catcactggc tgctcttcat caaacctact ataaaaaaca ttcaagttca 3900
actgtttctt tgggccttta tttccttatg gagcccctcg tgtcgtgtaa aacttatatt 3960
aaataaatgt gcatgctttt ctcttgctaa tctctctttt gttatagaga tctcagccct 4020
aaacctagga tggatagaag gaaacatatg ttctccccta cattagtaaa aataaaaatg 4080
gaatttttta cccatacaaa 4100

<210> 56
<211> 331
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina S precursor

<400> 56

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

615

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

<210> 57
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina S madura

<400> 57

```
Leu Pro Asp Ser Val Asp Trp Arg Glu Lys Gly Cys Val Thr Glu Val
 1               5                  10                  15

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

```
Ala Asn Lys Gly Pro Val Ser Val Gly Val Asp Ala Arg His Pro Ser
    130                 135                 140
Phe Phe Leu Tyr Arg Ser Gly Val Tyr Tyr Glu Pro Ser Cys Thr Gln
145                 150                 155                 160
Asn Val Asn His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Asp Leu Asn Gly
                165                 170                 175
Lys Glu Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly His Asn Phe Gly Glu
            180                 185                 190
Glu Gly Tyr Ile Arg Met Ala Arg Asn Lys Gly Asn His Cys Gly Ile
        195                 200                 205
Ala Ser Phe Pro Ser Tyr Pro Glu Ile
    210                 215
```

<210> 58
<211> 1702
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de Catepsina K

<400> 58

```
aaattttcca gccgatcact ggagctgact tccgcaatcc cgatggaata aatctagcac 60
ccctgatggt gtgcccacac tttgctgccg aaacgaagcc agacaacaga tttccatcag 120
caggatgtgg gggctcaagg ttctgctgct acctgtggtg agctttgctc tgtaccctga 180
ggagatactg gacacccact gggagctatg gaagaagacc cacaggaagc aatataacaa 240
caaggtggat gaaatctctc ggcgtttaat ttgggaaaaa aacctgaagt atatttccat 300
ccataacctt gaggcttctc ttggtgtcca tacatatgaa ctggctatga accacctggg 360
ggacatgacc agtgaagagg tggttcagaa gatgactgga ctcaaagtac ccctgtctca 420
ttcccgcagt aatgacaccc tttatatccc agaatgggaa ggtagagccc cagactctgt 480
cgactatcga aagaaaggat atgttactcc tgtcaaaaat cagggtcagt gtggttcctg 540
ttgggctttt agctctgtgg gtgccctgga gggccaactc aagaagaaaa ctggcaaact 600
cttaaatctg agtccccaga acctagtgga ttgtgtgtct gagaatgatg gctgtggagg 660
gggctacatg accaatgcct tccaatatgt gcagaagaac cggggtattg actctgaaga 720
tgcctaccca tatgtgggac aggaagagag ttgtatgtac aacccaacag gcaaggcagc 780
taaatgcaga gggtacagag agatccccga ggggaatgag aaagccctga agagggcagt 840
ggcccgagtg ggacctgtct ctgtggccat tgatgcaagc ctgacctcct tccagtttta 900
cagcaaaggt gtgtattatg atgaaagctg caatagcgat aatctgaacc atgcggtttt 960
ggcagtggga tatggaatcc agaagggaaa caagcactgg ataattaaaa acagctgggg 1020
agaaaactgg ggaaacaaag gatatatcct catggctcga aataagaaca acgcctgtgg 1080
cattgccaac ctggccagct tccccaagat gtgactccag ccagccaaat ccatcctgct 1140
cttccatttc ttccacgatg gtgcagtgta acgatgcact ttggaaggga gttggtgtgc 1200
tatttttgaa gcagatgtgg tgatactgag attgtctgtt cagtttcccc atttgtttgt 1260
gcttcaaatg atccttccta ctttgcttct ctccacccat gacctttttc actgtggcca 1320
tcaggacttt ccctgacagc tgtgtactct taggctaaga gatgtgacta cagcctgccc 1380
ctgactgtgt tgtcccaggg ctgatgctgt acaggtacag gctggagatt ttcacatagg 1440
ttagattctc attcacggga ctagttagct ttaagcaccc tagaggacta gggtaatctg 1500
acttctcact tcctaagttc ccttctatat cctcaaggta gaaatgtcta tgttttctac 1560
tccaattcat aaatctattc ataagtcttt ggtacaagtt tacatgataa aaagaaatgt 1620
gatttgtctt cccttctttg cacttttgaa ataaagtatt tatctcctgt ctacagttta 1680
ataaatagca tctagtacac at                                          1702
```

<210> 59
<211> 329
<212> PRT
<213> Homo sapiens

617

<220>
<223> precursor de Catepsina K

<400> 59
Met Trp Gly Leu Lys Val Leu Leu Leu Pro Val Val Ser Phe Ala Leu
 1   5   10   15
Tyr Pro Glu Glu Ile Leu Asp Thr His Trp Glu Leu Trp Lys Lys Thr
            20   25   30
His Arg Lys Gln Tyr Asn Asn Lys Val Asp Glu Ile Ser Arg Arg Leu
        35   40   45
Ile Trp Glu Lys Asn Leu Lys Tyr Ile Ser Ile His Asn Leu Glu Ala
    50   55   60
Ser Leu Gly Val His Thr Tyr Glu Leu Ala Met Asn His Leu Gly Asp
65   70   75   80
Met Thr Ser Glu Glu Val Val Gln Lys Met Thr Gly Leu Lys Val Pro
                85   90   95
Leu Ser His Ser Arg Ser Asn Asp Thr Leu Tyr Ile Pro Glu Trp Glu
            100   105   110
Gly Arg Ala Pro Asp Ser Val Asp Tyr Arg Lys Lys Gly Tyr Val Thr
        115   120   125
Pro Val Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ser
    130   135   140
Val Gly Ala Leu Glu Gly Gln Leu Lys Lys Lys Thr Gly Lys Leu Leu
145   150   155   160
Asn Leu Ser Pro Gln Asn Leu Val Asp Cys Val Ser Glu Asn Asp Gly
                165   170   175
Cys Gly Gly Gly Tyr Met Thr Asn Ala Phe Gln Tyr Val Gln Lys Asn
            180   185   190
Arg Gly Ile Asp Ser Glu Asp Ala Tyr Pro Tyr Val Gly Gln Glu Glu
        195   200   205
Ser Cys Met Tyr Asn Pro Thr Gly Lys Ala Ala Lys Cys Arg Gly Tyr
    210   215   220
Arg Glu Ile Pro Glu Gly Asn Glu Lys Ala Leu Lys Arg Ala Val Ala
225   230   235   240
Arg Val Gly Pro Val Ser Val Ala Ile Asp Ala Ser Leu Thr Ser Phe
                245   250   255
Gln Phe Tyr Ser Lys Gly Val Tyr Tyr Asp Glu Ser Cys Asn Ser Asp
            260   265   270
Asn Leu Asn His Ala Val Leu Ala Val Gly Tyr Gly Ile Gln Lys Gly
        275   280   285
Asn Lys His Trp Ile Ile Lys Asn Ser Trp Gly Glu Asn Trp Gly Asn
    290   295   300
Lys Gly Tyr Ile Leu Met Ala Arg Asn Lys Asn Asn Ala Cys Gly Ile
305   310   315   320
Ala Asn Leu Ala Ser Phe Pro Lys Met
                325

<210> 60
<211> 215
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina K madura

<400> 60

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

<210> 61
<211> 1731
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor Catepsina L

<400> 61

```
ggcggtgccg gccgaaccca gacccgaggt tttagaagca gagtcaggcg aagctgggcc 60
agaaccgcga cctccgcaac cttgagcggc atccgtggag tgcgcctgcg cagctacgac 120
cgcagcagga aagcgccgcc ggccaggccc agctgtggcc ggacagggac tggaagagag 180
gacgcggtcg agtaggtgtg caccagccct ggcaacgaga gcgtctaccc cgaactctgc 240
tggccttgag gtggggaagc cggggagggc agttgaggac cccgcggagg cgcgtgactg 300
gttgagcggg caggccagcc tccgagccgg gtggacacag ttttaaaaca tgaatcctac 360
actcatcctt gctgcctttt gcctgggaat tgcctcagct actctaacat ttgatcacag 420
tttagaggca cagtggacca agtggaaggc gatgcacaac agattatacg gcatgaatga 480
agaaggatgg aggagagcag tgtgggagaa gaacatgaag atgattgaac tgcacaatca 540
ggaatacagg gaagggaaac acagcttcac aatggccatg aacgcctttg gagacatgac 600
cagtgaagaa ttcaggcagg tgatgaatgg ctttcaaaac cgtaagccca ggaaggggaa 660
agtgttccag gaacctctgt tttatgaggc ccccagatct gtggattgga gagagaaagg 720
ctacgtgact cctgtgaaga atcagggtca gtgtggttct tgttgggctt ttagtgctac 780
tggtgctctt gaaggacaga tgttccggaa aactgggagg cttatctcac tgagtgagca 840
gaatctggta gactgctctg ggcctcaagg caatgaaggc tgcaatggtg gcctaatgga 900
ttatgctttc cagtatgttc aggataatgg aggcctggac tctgaggaat cctatccata 960
tgaggcaaca gaagaatcct gtaagtacaa tcccaagtat tctgttgcta atgacaccgg 1020
```

ctttgtggac atccctaagc aggagaaggc cctgatgaag gcagttgcaa ctgtggggcc 1080
catttctgtt gctattgatg caggtcatga gtccttcctg ttctataaag aaggcattta 1140
ttttgagcca gactgtagca gtgaagacat ggatcatggt gtgctggtgg ttggctacgg 1200
atttgaaagc acagaatcag ataacaataa atattggctg gtgaagaaca gctggggtga 1260
agaatggggc atgggtggct acgtaaagat ggccaaagac cggagaaacc attgtggaat 1320
tgcctcagca gccagctacc ccactgtgtg agctggtgga cggtgatgag gaaggacttg 1380
actggggatg gcgcatgcat gggaggaatt catcttcagt ctaccagccc ccgctgtgtc 1440
ggatacacac tcgaatcatt gaagatccga gtgtgatttg aattctgtga tattttcaca 1500
ctggtaaatg ttacctctat tttaattact gctataaata ggtttatatt attgattcac 1560
ttactgactt tgcattttcg tttttaaaag gatgtataaa tttttacctg tttaaataaa 1620
atttaatttc aaatgtagtg gtggggcttc tttctatttt tgatgcactg aatttttgtg 1680
taataaagaa cataattggg ctctaagcca taaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1731

<210> 62
<211> 333
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de Catepsina L

<400> 62

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

620

```
Asp Met Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Ser Thr
        275                 280                 285
Glu Ser Asp Asn Asn Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly Glu
    290                 295                 300
Glu Trp Gly Met Gly Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Arg Arg Asn
305                 310                 315                 320
His Cys Gly Ile Ala Ser Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
                325                 330
```

<210> 63
<211> 3783
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de Catepsina B

<400> 63

```
ggggcggggc cgggagggta cttagggccg gggctggccc aggctacggc ggctgcaggg 60
ctccggcaac cgctccggca acgccaaccg ctccgctgcg cgcaggctgg gctgcaggct 120
ctcggctgca gcgctgggtg gatctaggat ccggcttcca acatgtggca gctctgggcc 180
tccctctgct gcctgctggt gttggccaat gcccggagca ggccctcttt ccatcccctg 240
tcggatgagc tggtcaacta tgtcaacaaa cggaatacca cgtggcaggc cgggcacaac 300
ttctacaacg tggacatgag ctacttgaag aggctatgtg gtaccttcct gggtgggccc 360
aagccacccc agagagttat gtttaccgag gacctgaagc tgcctgcaag cttcgatgca 420
cgggaacaat ggccacagtg tcccaccatc aaagagatca gagaccaggg ctcctgtggc 480
tcctgctggg ccttcggggc tgtggaagcc atctctgacc ggatctgcat ccacaccaat 540
gcgcacgtca gcgtggaggt gtcggcggag gacctgctca catgctgtgg cagcatgtgt 600
ggggacggct gtaatggtgg ctatcctgct gaagcttgga acttctggac aagaaaaggc 660
ctggtttctg gtggcctcta tgaatcccat gtagggtgca gaccgtactc catccctccc 720
tgtgagcacc acgtcaacgg ctcccggccc ccatgcacgg gggagggaga taccccaag 780
tgtagcaaga tctgtgagcc tggctacagc ccgacctaca aacaggacaa gcactacgga 840
tacaattcct acagcgtctc caatagcgag aaggacatca tggccgagat ctacaaaaac 900
ggccccgtgg agggagcttt ctctgtgtat tcggacttcc tgctctacaa gtcaggagtg 960
taccaacacg tcaccggaga gatgatgggt ggccatgcca tccgcatcct gggctgggga 1020
gtggagaatg gcacacccta ctggctggtt gccaactcct ggaacactga ctggggtgac 1080
aatggcttct ttaaaatact cagaggacag gatcactgtg gaatcgaatc agaagtggtg 1140
gctggaattc cacgcaccga tcagtactgg gaaaagatct aatctgccgt gggcctgtcg 1200
tgccagtcct gggggcgaga tcggggtaga aatgcatttt attctttaag ttcacgtaag 1260
atacaagttt cagacagggt ctgaaggact ggattggcca aacatcagac ctgtcttcca 1320
aggagaccaa gtcctggcta catcccagcc tgtggttaca gtgcagacag gccatgtgag 1380
ccaccgctgc cagcacagag cgtccttccc cctgtagact agtgccgtag ggagtacctg 1440
ctgccccagc tgactgtggc cccctccgtg atccatccat ctccagggag caagacagag 1500
acgcaggaat ggaaagcgga gttcctaaca ggatgaaagt tcccccatca gttccccccag 1560
tacctccaag caagtagctt tccacatttg tcacagaaat cagaggagag acggtgttgg 1620
gagccctttg gagaacgcca gtctcccagg ccccctgcat ctatcgagtt tgcaatgtca 1680
caacctctct gatcttgtgc tcagcatgat tctttaatag aagttttatt ttttcgtgca 1740
ctctgctaat catgtgggtg agccagtgga acagcgggag acctgtgcta gttttacaga 1800
ttgcctcctt atgacgcggc tcaaaaggaa accaagtggt caggagttgt ttctgaccca 1860
ctgatctcta ctaccacaag gaaaatagtt taggagaaac cagcttttac tgtttttgaa 1920
aaattacagc ttcaccctgt caagttaaca aggaatgcct gtgccaataa aagttttctc 1980
caacttgaag tctactctga tgggatctca gatcctttgt cactgcctat agacttgtag 2040
ctgctgtctc tctttgtccc tgcagagaat cacgtcctgg aactgcatgt tcttgcgact 2100
cttgggactt catcttaact tctcgctgcc ccagccatgt tttcaaccat ggcatccctc 2160
ccccaattag ttccctgtca tcctcgtcaa ccttctctgt aagtgcctgg taagcttgcc 2220
cttgcttaag aactcaaaac atagctgtgc tctatttttt tgttgttgtt gtgactgaca 2280
```

621

gagtgagatt ccgtctccca ggctggagtg cagtggcgcc ttctcagctc actgcaacct 2340
gcagcctcct agattcaagc gattctcctg cttcagcctt ccgagtagct gggatgacag 2400
gcactcacca atatgcctgg gtaatttttg tatttttaag tacatacagg atttcaccat 2460
gttggccagg ctagtttcaa actcccggcc tcaggtggtc tgcctgcctc agcctcccaa 2520
agtgttggga ttacaggcgt gagccactgg gccctgcctg tatttttat cagccacaaa 2580
tccagcaaca agctgaggat tcagctcata aaacaggctt ggtgtcttgg tgatctcaca 2640
taaccaagat gctaccccgt ggggaaccac atccccctgg atgccctcca gccttggttt 2700
gggctggagt cagggcctgt atacagtatt ttgaatttgt atgccactgg tttgcattgc 2760
tggtcaggaa ctctagtgct ttgcatagcc ctggtttaga aacatgttat agcagttctt 2820
ggtatagagc aaactagaag aaccagcaat cattccactg tcctgccaag gtacacctca 2880
gtactccct tcccaactga agtggtatga ggctagctct ttccaaaagc attcaagttt 2940
ggcttctgat gtgactcaga atttaggaac cagatgctag atcaaataag ctctgaaaat 3000
ctgaggaaca ttgtaggaaa ggtttgttaa gcatctctta agtgccatga tgagcataac 3060
agccggccgt cgtggctcac gcctgtaatc ccagcacttt gggaggccaa ggtgggagga 3120
tgacaaggtc aggagttcaa gaccagcctg gccaacatgc tgaaacctca cctctactaa 3180
aaatacaaaa attagctggg catggtggca catgcctgta atcccagcta cttgggaggc 3240
tgaggcagga gaatcgcttg aacccgggag gcggaggttg cagtgagcca agacagtgcc 3300
agtgcactcc agcctcggtg acagcgcaag gctccgtctc aataattaaa aaaaaaaaaa 3360
aaaaaaaaaa ggccgggcgc agtggctcaa gcctgtaatc ccagcacttt gggaggctga 3420
ggcgggcaga tcacctgagg tcaggagttt tgagatcagc cttggcaaca cggtgaaacc 3480
ccatctctac taaaaataca aaattagcca agcatgctgg cacatgcctg taatcccagc 3540
tactcgggag gctgaggtac gagaatcgct tgaacctggg aggcagagga tgcagtgagc 3600
cgagatcacg ccattgcact ccagcctggg ggacaagagt gaatctgtgt ctcaccaaaa 3660
aaaaaaagaa aaagaaagat gcttaacaaa ggttaccata agccacaaat tcataaccac 3720
ttatccttcc agtttcaagt agaatatatt cataacctca ataaagttct ccctgctccc 3780
aaa 3783

<210> 64
<211> 339
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina B

<400> 64
Met Trp Gln Leu Trp Ala Ser Leu Cys Cys Leu Leu Val Leu Ala Asn

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

622

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

<210> 65
<211> 260
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina B madura

<220>
<223> catepsina B de cadena ligera 1-47

<220>
<223> catepsina B de cadena pesada 48-254

<400> 65
Leu Pro Ala Ser Phe Asp Ala Arg Glu Gln Trp Pro Gln Cys Pro Thr
1 5 10 15
Ile Lys Glu Ile Arg Asp Gln Gly Ser Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe
20 25 30
Gly Ala Val Glu Ala Ile Ser Asp Arg Ile Cys Ile His Thr Asn Ala
35 40 45
His Val Ser Val Glu Val Ser Ala Glu Asp Leu Leu Thr Cys Cys Gly
50 55 60

Ser Met Cys Gly Asp Gly Cys Asn Gly Gly Tyr Pro Ala Glu Ala Trp
65 70 75 80
Asn Phe Trp Thr Arg Lys Gly Leu Val Ser Gly Gly Leu Tyr Glu Ser
85 90 95
His Val Gly Cys Arg Pro Tyr Ser Ile Pro Pro Cys Glu His His Val
100 105 110

623

```
Asn Gly Ser Arg Pro Pro Cys Thr Gly Glu Gly Asp Thr Pro Lys Cys
        115                 120                 125
Ser Lys Ile Cys Glu Pro Gly Tyr Ser Pro Thr Tyr Lys Gln Asp Lys
    130                 135                 140
His Tyr Gly Tyr Asn Ser Tyr Ser Val Ser Asn Ser Glu Lys Asp Ile
145                 150                 155                 160
Met Ala Glu Ile Tyr Lys Asn Gly Pro Val Glu Gly Ala Phe Ser Val
                165                 170                 175

Tyr Ser Asp Phe Leu Leu Tyr Lys Ser Gly Val Tyr Gln His Val Thr
            180                 185                 190
Gly Glu Met Met Gly Gly His Ala Ile Arg Ile Leu Gly Trp Gly Val
        195                 200                 205
Glu Asn Gly Thr Pro Tyr Trp Leu Val Ala Asn Ser Trp Asn Thr Asp
    210                 215                 220
Trp Gly Asp Asn Gly Phe Phe Lys Ile Leu Arg Gly Gln Asp His Cys
225                 230                 235                 240
Gly Ile Glu Ser Glu Val Val Ala Gly Ile Pro Arg Thr Asp Gln Tyr
                245                 250                 255
Trp Glu Lys Ile
            260
```

<210> 66
<211> 1399
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina H

<400> 66

```
ttgccggcgc aagagccaag ccgccagcgc tgctatgtgg gccacgctgc cgctgctctg 60
cgccggggcc tggctcctgg gagtccccgt ctgcggtgcc gccgaactgt ccgtgaactc 120
cttagagaag tttcacttca agtcatggat gtctaagcac cgtaagacct acagtacgga 180
ggagtaccac cacaggctgc agacgtttgc cagcaactgg aggaagataa acgcccacaa 240
caatgggaac cacacattta aaatggcact gaaccaattt tcagacatga gctttgctga 300
aataaaacac aagtatctct ggtcagagcc tcagaattgc tcagccacca aaagtaacta 360
ccttcgaggt actggtccct acccaccttc cgtggactgg cggaaaaaag gaaatttgt 420
ctcacctgtg aaaaatcagg gtgcctgcgg cagttgctgg actttctcca ccactggggc 480
cctggagtct gcaatcgcca tcgcaaccgg aaagatgctg tccttggcgg aacagcagct 540
ggtggactgc gcccaggact tcaataatta cggctgccaa gggggtctcc ccagccaggc 600
tttcgagtat atcctgtaca acaaggggat catgggtgaa gacacctacc cctaccaggg 660
caaggatggt tattgcaagt tccaacctgg aaaggccatc ggctttgtca aggatgtagc 720
caacatcaca atctatgacg aggaagcgat ggtggaggct gtggccctct acaaccctgt 780
gagctttgcc tttgaggtga ctcaggactt catgatgtat agaacgggca tctactccag 840
tacttcctgc ataaaactc cagataaagt aaaccatgca gtactggctg ttgggtatgg 900
agaaaaaaat gggatccctt actggatcgt gaaaaactct tggggtcccc agtggggaat 960
gaacgggtac ttcctcatcg agcgcggaaa gaacatgtgt ggcctggctg cctgcgcctc 1020
ctaccccatc cctctggtgt gagccgtggc agccgcagcg cagactggcg gagaaggaga 1080
ggaacgggca gcctgggcct gggtggaaat cctgccctgg aggaagttgt ggggagatcc 1140
actgggaccc ccaacattct gccctcacct ctgtgcccag cctggaaacc tacagacaag 1200
gaggagttcc accatgagct cacccgtgtc tatgacgcaa agatcaccag ccatgtgcct 1260
tagtgtcctt cttaacagac tcaaaccaca tggaccacga atattctttc tgtccagaag 1320
ggctactttc cacatataga gctccaggga ctgtcttttc tgtattcgct gttcaataaa 1380
cattgagtga gcacctcca                                              1399
```

624

<210> 67
<211> 335
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina H

<400> 67

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

<210> 68
<211> 238
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina H madura

<400> 68
Glu Pro Gln Asn Cys Ser Ala Thr Lys Ser Asn Tyr Leu Arg Gly Thr
1 5 10 15
Gly Pro Tyr Pro Pro Ser Val Asp Trp Arg Lys Lys Gly Asn Phe Val
20 25 30
Ser Pro Val Lys Asn Gln Gly Ala Cys Gly Ser Cys Trp Thr Phe Ser
35 40 45
Thr Thr Gly Ala Leu Glu Ser Ala Ile Ala Ile Ala Thr Gly Lys Met
50 55 60
Leu Ser Leu Ala Glu Gln Gln Leu Val Asp Cys Ala Gln Asp Phe Asn
65 70 75 80
Asn His Gly Cys Gln Gly Gly Leu Pro Ser Gln Ala Phe Glu Tyr Ile
85 90 95
Leu Tyr Asn Lys Gly Ile Met Gly Glu Asp Thr Tyr Pro Tyr Gln Gly
100 105 110
Lys Asp Gly Tyr Cys Lys Phe Gln Pro Gly Lys Ala Ile Gly Phe Val
115 120 125
Lys Asp Val Ala Asn Ile Thr Ile Tyr Asp Glu Glu Ala Met Val Glu
130 135 140
Ala Val Ala Leu Tyr Asn Pro Val Ser Phe Ala Phe Glu Val Thr Gln
145 150 155 160
Asp Phe Met Met Tyr Arg Thr Gly Ile Tyr Ser Ser Thr Ser Cys His
165 170 175
Lys Thr Pro Asp Lys Val Asn His Ala Val Leu Ala Val Gly Tyr Gly
180 185 190
Glu Lys Asn Gly Ile Pro Tyr Trp Ile Val Lys Asn Ser Trp Gly Pro
195 200 205
Gln Trp Gly Met Asn Gly Tyr Phe Leu Ile Glu Arg Gly Lys Asn Met
210 215 220
Cys Gly Leu Ala Ala Cys Ala Ser Tyr Pro Ile Pro Leu Val
225 230 235

<210> 69

<211> 1975
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina F

<400> 69
cggtgcccat tggccgcccc ggcgttctcc aacgttgtag ggaaactctc tgtggcctct 60
gacagcaggc tccgcctcgg gtctcttgat ccgtgtgttt gtgggtcagt gaatccgggc 120
gagcagcttc gacctcgcta tggcgccccc actgcagctt ctgtggctgc tgacactgct 180
ctcgactgtg gccctgagcc ccgtccccgc caagccctgg gcagatgacg agcaggcctg 240
gaacttgtcg tcccaggagc tgctggcccc cgcccgcttc gcgctggaca tgtacaatta 300
cggccgtgct gcggggacaa gggccgtgct aggagcggtg cgcggacgcg tccgccgggc 360
cggccagggc tctctgttct ccctggaagc cacactagag gagccacctt gcaatgatcc 420
cctggtgtgc ccactgcctg agacgaagaa aacagtgctc tgcagttttg aagtcctgga 480
agagctaaaa gaacacttgc tgctgaggag ggactgtagc ccagtgaatg ccaaggtcac 540
agagtttaga aatgcgactt tcagctcatt ccttccattg ttggacaagg atcccctgcc 600
ccaggacttc tctgtgaaga tggctccact cttcaaggac ttcatgacca cctataaccg 660

626

gacttatgaa tcaagggaag aagcccagtg gcgattgact gtctttgcaa gaaatatgat 720
acgagcacag aagattcagg ccctggaccg cggcacagct cagtatggga tcaccaagtt 780
cagtgacctc acagaggagg aattccacac catctacctg aatcccctct tacagaagga 840
gtctggcagg aagatgagtc cagccaagtc cataaatgat cttgccccgc ctgaatggga 900
ctggaggaag aaaggggctg tcactgaagt gaagaaccag ggcatgtgtg gctcctgctg 960
ggccttttct gtcacaggca acgtggaggg ccagtggttc ctgaaccggg ggactctgct 1020
ctccctgtca gagcaggagc tcttggattg tgacaaggtg gacaaggcct gcttgggtgg 1080
attgccctcc aacgcctatg cagccataaa gaatttggga gggctggaga cagaggatga 1140
ctacggctac cagggccatg ttcagacctg caacttctca gcacagatgg caaaagtcta 1200
catcaatgat tcagtggagc tgagccggaa tgaaaataag atagcagcct ggctggccca 1260
gaaaggacct atctcagttg ccattaacgc cttcggcatg cagttctatc gccacgggat 1320
tgctcaccca ttccggcccc tctgcagccc ttggttcatc gaccatgctg tgttgctggt 1380
gggctatggc aaccgctcta acattcctta ctgggccatc aagaacagct ggggcagtga 1440
ctggggtgag gagggttact actacttgta ccgtggatct ggagcctgtg gtgtgaatac 1500
catggccagc tcagccgtgg tgaactgaga gttgctggct caggacctat gttgtcacag 1560
tggccccttc cttagcccga ctcatgccca ggcccttcct cacgagacag agctggttgg 1620
ctgagggccg ggcactttgg acctcacggt gagccctggg ccctgggccc cttcgtccct 1680
ctttcctcta gtgctcatct gaagttcccc agctgcacct gtgtccgatt gtggtagcta 1740
ggaggatcct gaggtgcagg aggctttcat ggaagccagc gccggggcaa gaacctggct 1800
acagtatgat gcaggatgaa aatatgctcg tcataaaact agatctgtcc tcagcaggct 1860
ctgtcttttt gctttggtgc tcctcggtct gatgctgtca gttttctggt ccctttccac 1920
atccaggaaa gttgtgaccg gccttctcta agggcaataa agaggtagcc tgctc 1975

<210> 70
<211> 462
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina F

<400> 70
Met Ala Pro Leu Leu Gln Leu Leu Trp Leu Leu Thr Leu Leu Ser Thr
 1   5   10   15
Val Ala Leu Ser Pro Val Pro Ala Lys Pro Trp Ala Asp Asp Glu Gln
            20   25   30
Ala Trp Asn Leu Ser Ser Gln Glu Leu Leu Ala Pro Ala Arg Phe Ala
        35   40   45
Leu Asp Met Tyr Asn Tyr Gly Arg Ala Ala Gly Thr Arg Ala Val Leu
    50   55   60
Gly Ala Val Arg Gly Arg Val Arg Arg Ala Gly Gln Gly Ser Leu Phe
65   70   75   80
Ser Leu Glu Ala Thr Leu Glu Glu Pro Pro Cys Asn Asp Pro Leu Val
                85   90   95
Cys Pro Leu Pro Glu Thr Lys Lys Thr Val Leu Cys Ser Phe Glu Val
            100   105   110
Leu Glu Glu Leu Lys Glu His Leu Leu Leu Arg Arg Asp Cys Ser Pro
        115   120   125
Val Asn Ala Lys Val Thr Glu Phe Arg Asn Ala Thr Phe Ser Ser Phe
    130   135   140
Leu Pro Leu Leu Asp Lys Asp Pro Leu Pro Gln Asp Phe Ser Val Lys
145   150   155   160
Met Ala Pro Leu Phe Lys Asp Phe Met Thr Thr Tyr Asn Arg Thr Tyr
                165   170   175
Glu Ser Arg Glu Glu Ala Gln Trp Arg Leu Thr Val Phe Ala Arg Asn
            180   185   190

627

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

<210> 71
<211> 214
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> catepsina F madura

<400> 71

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

628

```
Leu Glu Thr Glu Asp Asp Tyr Gly Tyr Gln Gly His Val Gln Thr Cys
                85                  90                  95
Asn Phe Ser Ala Gln Met Ala Lys Val Tyr Ile Asn Asp Ser Val Glu
            100                 105                 110
Leu Ser Arg Asn Glu Asn Lys Ile Ala Ala Trp Leu Ala Gln Lys Gly
        115                 120                 125
Pro Ile Ser Val Ala Ile Asn Ala Phe Gly Met Gln Phe Tyr Arg His
    130                 135                 140
Gly Ile Ala His Pro Phe Arg Pro Leu Cys Ser Pro Trp Phe Ile Asp
145                 150                 155                 160
His Ala Val Leu Leu Val Gly Tyr Gly Asn Arg Ser Asn Ile Pro Tyr
                165                 170                 175
Trp Ala Ile Lys Asn Ser Trp Gly Ser Asp Trp Gly Glu Glu Gly Tyr
            180                 185                 190
Tyr Tyr Leu Tyr Arg Gly Ser Gly Ala Cys Gly Val Asn Thr Met Ala
        195                 200                 205
Ser Ser Ala Val Val Asn
    210
```

<210> 72
<211> 3453
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina O

<400> 72

```
gaaaccgaaa gagaaagcgg gccgggcaca gtggacctcg ggcaccggga tgaagccgca 60
gttggtgaac ctcttgctac tgtgttgctg ctgtctcggc cgccacgggg tcgccgggac 120
ctggtcttgg agccaccagc gggaggccgc cgccttgcgg gaaagccttc atagacaccg 180
atacttgaac tcttttcctc atgaaaactc cactgccttc tatggagtaa atcagttttc 240
ttatttgttt cctgaagagt ttaaagcttt gtatttaggc agcaaatatg cctgggctcc 300
cagataccca gcagaaggac agagacctat ccccaatgtg tctttgccat tgagatttga 360
ctggagggac aagcatgttg tgaatcctgt aaggaaccag gagatgtgtg gaggatgctg 420
ggccttcagc gtggtgagtg ccatagagtc agctcgtgca atccaaggga aatctctgga 480
ttacctgagc gtgcagcagg tcatcgactg ctcctttaat aattctggct gcctcggtgg 540
ctctcctctc tgtgccttgc gctggctaaa tgagacacag ttgaagttgg tggcagattc 600
acagtaccca ttcaaggcag taaatggcca gtgtcgccac tttcctcaat cacaagctgg 660
agtttcagtc aaggattttt ctgcatataa cttcaggggc caagaggatg aaatggccag 720
agcacttctg tccttcggcc ctttggttgt gatagttgat gcgatgagct ggcaggatta 780
tctgggggggc ataatccaac atcactgctc cagtggggag gccaaccatg ccgttctcat 840
cacaggcttt gataggacag gaaatacacc atattggatg gtgcgaaact cctggggatc 900
ctcctgggga gtagaaggct atgcccacgt gaaaatggga ggtaatgttt gtggcattgc 960
agactctgta gctgctgtct ttgtgtgatc atgaattgtt ttggattcac catgagacaa 1020
ctacgaaaat gatgcacttc atagtgtgat ccaacatcat actcaactct aagcattatg 1080
caccttcaag ttccaacaat ttgtctacag agaggttcta agagcaaact ggcattttgt 1140
aaagcaacct aggacattct atttttttgca aagacatgga cagccaaact tcataggaaa 1200
tccccaggac gttgactgat caacggactc tgtgggatag tgtgcacctc tgagagtttg 1260
gtgggatcag aagtcacata gtattctcct cctggaagca gttgggactt ttgcttgctt 1320
gttgtctttc tggctgtcta cattaaggaa gtattttggt cagggtgaat tgaagatatg 1380
atgagccttt gtttttccct tgtgacttat aatcaccagt cttagattac ctcatctaca 1440
agaactctca acctgatgca atgtgtgcct cataattaga atggccttct gttccatgtg 1500
aacagatttg gaatatcagt tgttttattt cagcaaatgg aacttactct agacagtaga 1560
acaaatgtgc accaagatga aacaacgatg cacaaagaga atcccatctt cagagagaca 1620
atccaactgg agttaaataa acacgtgaca acagtgtgat aaggagtaca ctatgccact 1680
```

629

```
tccagggagt catgatgtct ataaagcttc acttttaaac acccaaaatg tttagcttct 1740
tgccttcttc cctctgaggt agagaatgaa gtattgtcca catttattcc ctctcttgtc 1800
ctttatggta caagtcctat ggtttcctgg tggtttacct tccagtccaa agtaactcag 1860
taccgttggt tgtattccat ttctgttacc caatctctta cttaaaaaca aaatctctga 1920
cacaggctca cattgctcct tgtttatgtc cttcattaga ataccagcat caataacaaa 1980
gctccttact cttttgtctg taccagtgag aagcaatctt gaatgtgcag atcatggagg 2040
gtaaagaaac ggcagaagac atttcttaag gttttgaata aagtagccta attatcgaag 2100
gaatccagga aggaatgtag ttcagctata gtgtttctta atgactttca ttatgttatc 2160
agcaatgttt ctaataccca gtttcaaatg cagataaact tgaaattttc aaaatcactg 2220
ttactcttta agtattctgg attgataaca tttataataa tacaacctac atttgacttt 2280
gaattaaaag taacttattc ttaaatatgt agtctatgat ttattattat ttatgagcac 2340
taatagatat ttattagtat cgataagctt tatatttaca ttttcttgga tttgaaccct 2400
tatatccaat gtgcttttct ccatagatga ttttaattcc accatgtcca agattcctct 2460
catcatcttc ccatatctgt tgtcaatgct cagtggtcct cttctcctta ccttttcttt 2520
ctgtcagcag cattgctatt gtataagcag gccatagagt caaaaggaat tctagacaat 2580
caagttgtct cctccttaga acccattcct acatctgtct ccatcctctc tttcacgcat 2640
cctttctggg aggtacactt tttattatct cctatctaca ctcttcagtt gtttccagcc 2700
aacctaaaat aaaaagggag atatcttcat aaaagtttag gttttttttt tgtttgtttg 2760
tttgtttggt tggcttttgt cttttatttt tgtatagagt tatgatgagt tttgatgtga 2820
tgcacttcaa acacttttttg tgatagtttt tgttatgtat caattatatg taacactccc 2880
tttcagtgac ttgttagctt tattcctttc gttttcttgt tagtgcctgg tgtaagtaac 2940
tccctatggt tctgacaacc tttattagta actaaactat gtgaccttta acacagtagg 3000
tcctgaacag taatctccag agcagaacag atggctttga aagatgctac tataatgtgt 3060
cctatatttc cccagattta tatttctaaa atgatgttat cattttactc acaagtttta 3120
cagcactgga aatcagtaag ataacatgca aatttttca aataagcatt atggagaggt 3180
ctctctctac ctttgtatcc cctgtaaata agtgatgacg catatacacc agctcatggg 3240
tgctcctgcc ccagaaaacc agagacagag cagccgaatg tgttccttac tacacagcat 3300
tcatactgaa gatcaccaac aggtcctgaa agtgatttga caaggtcccc attgcaactg 3360
ttaaatgggt caactttgca gtgcctttga aatatcccat cacttgggag gcagaggcag 3420
gtgaatttct gaggtcaagg ccagcccccc cac                              3453
```

<210> 73
<211> 312
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina O

<400> 73

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

630

```
Val Ser Ala Ile Glu Ser Ala Arg Ala Ile Gln Gly Lys Ser Leu Asp
    130                 135                 140

Tyr Leu Ser Val Gln Gln Val Ile Asp Cys Ser Phe Asn Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Cys Leu Gly Gly Ser Pro Leu Cys Ala Leu Arg Trp Leu Asn Glu Thr
                165                 170                 175
Gln Leu Lys Leu Val Ala Asp Ser Gln Tyr Pro Phe Lys Ala Val Asn
            180                 185                 190
Gly Gln Cys Arg His Phe Pro Gln Ser Gln Ala Gly Val Ser Val Lys
        195                 200                 205
Asp Phe Ser Ala Tyr Asn Phe Arg Gly Gln Glu Asp Glu Met Ala Arg
    210                 215                 220
Ala Leu Leu Ser Phe Gly Pro Leu Val Val Ile Val Asp Ala Met Ser
225                 230                 235                 240
Trp Gln Asp Tyr Leu Gly Gly Ile Ile Gln His His Cys Ser Ser Gly
                245                 250                 255
Glu Ala Asn His Ala Val Leu Ile Thr Gly Phe Asp Arg Thr Gly Asn
            260                 265                 270
Thr Pro Tyr Trp Met Val Arg Asn Ser Trp Gly Ser Ser Trp Gly Val
        275                 280                 285
Glu Gly Tyr Ala His Val Lys Met Gly Gly Asn Val Cys Gly Ile Ala
    290                 295                 300
Asp Ser Val Ala Ala Val Phe Val
305                 310
```

<210> 74
<211> 214
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> catepsina O madura

<400> 74

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

631

```
Asn His Ala Val Leu Ile Thr Gly Phe Asp Arg Thr Gly Asn Thr Pro
                165                 170                 175
Tyr Trp Met Val Arg Asn Ser Trp Gly Ser Ser Trp Gly Val Glu Gly
            180                 185                 190

Tyr Ala His Val Lys Met Gly Gly Asn Val Cys Gly Ile Ala Asp Ser
        195                 200                 205
Val Ala Ala Val Phe Val
    210
```

<210> 75
<211> 1335
<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina R

<400> 75
agcaactttt gaagagttga gtctgtggag tggattgagg cagaggcagt cacctcaggt 60
acttgagaca tggctgctgt tgtcttcata gccttcctgt atttgggagt ggcctcaggt 120
gttccagtac ttgattcaag tttggatgct gaatggcaag actggaagat aaagtataac 180
aaatcatata gcctgaagga agaaaaactg aagagagtgg tttgggaaga aaaattgaaa 240
atgatcaaac tacacaacag ggagaacagc ctgggtaaga atggcttcac catgaaaatg 300
aatgaatttg gtgaccagac tgatgaagaa ttcaggaaaa tgatgattga aatttcagtt 360
tggactcaca gagaggggaa aagtatcatg aaacgggaag ctggcagtat tctccccaaa 420
tttgtcgatt ggcgaaagaa aggatatgtg actcctgtac ggagacaggg agattgtgat 480
gcttgttggg catttgctgt gactggtgcc atagaagcac aggcaatctg gcaaacgggc 540
aaactcaccc ctctgagtgt gcagaacctg gtggactgtt ctaaacctca aggcaacaat 600
ggttgtcttg gtggtgatac atacaatgcc ttccagtatg ttttgcacaa tggtggtctg 660
gagtctgagg caacatatcc atatgaaggg aaagatggac catgcaggta taatccaaag 720
aattctaagg ctgaaatcac aggatttgtg tccctccccc aaagtgagga tatcctaatg 780
gctgctgtag caactattgg gcccatcact gctggaattg atgcttcaca tgagtctttc 840
aagaactata agggaggtat ttaccatgag ccaaattgta gcagtgatac tgtgactcat 900
ggagtcctcg tggttggtta cggatttaag ggaattgaga ccgatggtaa tcactactgg 960
ctgatcaaga atagctgggg taaacgatgg ggcattagag gctacatgaa gctcgccaaa 1020
gacaagaaca accactgtgg aattgcttca tatgctcact accctactat ttgagcaacc 1080
tggtggccac aaggaaggtt ttggcacaag acagcatttc taggggaggg ctatctgcta 1140
gtcagcgacc agcctttgct tggtatattc aagacttgtg tccctgaaga gcaaccttgt 1200
aatgtgattc tgggaccctt caactatttt gacatcatga acactattgc tctaactaac 1260
gtatgtttat tattccttca aaaaaatcag ctttaccgat tgtgcaaata aaatccttta 1320
aaaaataaaa tgcaa 1335

<210> 76
<211> 334
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina R

<400> 76
```
Met Ala Ala Val Val Phe Ile Ala Phe Leu Tyr Leu Gly Val Ala Ser
 1               5                  10                  15
Gly Val Pro Val Leu Asp Ser Ser Leu Asp Ala Glu Trp Gln Asp Trp
            20                  25                  30
```

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

<210> 77
<211> 220
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> catepsina R madura

<400> 77
Leu Pro Lys Phe Val Asp Trp Arg Lys Lys Gly Tyr Val Thr Pro Val
1 5 10 15
Arg Arg Gln Gly Asp Cys Asp Ala Cys Trp Ala Phe Ala Val Thr Gly
20 25 30
Ala Ile Glu Ala Gln Ala Ile Trp Gln Thr Gly Lys Leu Thr Pro Leu
35 40 45
Ser Val Gln Asn Leu Val Asp Cys Ser Lys Pro Gln Gly Asn Asn Gly
50 55 60

633

```
Cys Leu Gly Gly Asp Thr Tyr Asn Ala Phe Gln Tyr Val Leu His Asn
65                  70                  75                  80
Gly Gly Leu Glu Ser Glu Ala Thr Tyr Pro Tyr Glu Gly Lys Asp Gly
                85                  90                  95
Pro Cys Arg Tyr Asn Pro Lys Asn Ser Lys Ala Glu Ile Thr Gly Phe
            100                 105                 110

Val Ser Leu Pro Gln Ser Glu Asp Ile Leu Met Ala Ala Val Ala Thr
        115                 120                 125
Ile Gly Pro Ile Thr Ala Gly Ile Asp Ala Ser His Glu Ser Phe Lys
    130                 135                 140
Asn Tyr Lys Gly Gly Ile Tyr His Glu Pro Asn Cys Ser Ser Asp Thr
145                 150                 155                 160
Val Thr His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Lys Gly Ile Glu
                165                 170                 175
Thr Asp Gly Asn His Tyr Trp Leu Ile Lys Asn Ser Trp Gly Lys Arg
            180                 185                 190
Trp Gly Ile Arg Gly Tyr Met Lys Leu Ala Lys Asp Lys Asn Asn His
        195                 200                 205
Cys Gly Ile Ala Ser Tyr Ala His Tyr Pro Thr Ile
    210                 215                 220
```

<210> 78
<211> 1327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina W

<400> 78

```
tgcgcggctt cctgcctcca tgccactcca gactgcaccg gcatggcact gactgcccac 60
ccctcctgcc tcctggccct gttggtggca ggcctagccc aaggcatcag aggccccctt 120
agggcccagg acctaggtcc ccagccgcta gagctgaaag aggccttcaa gttgttccag 180
atccagttca accggagtta cctgagccca gaagagcatg ctcaccgcct ggacatcttt 240
gcccacaacc tggcccaggc tcagaggctg caggaggagg acttgggcac agctgagttt 300
ggggtgactc cattcagtga cctcacagag gaggagtttg gccagctcta tggctatcgg 360
agggcagctg gaggggtccc cagcatgggc agagaaataa ggtctgaaga gccagaggag 420
tcagtacctt tcagctgtga ctggcggaag gtggccggcg ccatctcacc catcaaggac 480
cagaaaaact gcaactgctg ctgggccatg gcagcggcag gcaacataga gaccctgtgg 540
cgcatcagtt tctgggattt tgtggacgtc tccgtgcagg aactgctgga ctgtggccgc 600
tgtggggatg gctgccacgg tggcttcgtc tgggacgcgt tcataactgt cctcaacaac 660
agcggcctgg ccagtgaaaa ggactacccg ttccagggca aagtcagagc ccacaggtgc 720
caccccaaga agtaccagaa ggtggcctgg atccaggact tcatcatgct gcagaacaac 780
gagcacagaa ttgcgcagta cctggccact tatggcccca tcaccgtgac catcaacatg 840
aagccccttc agctataccg gaaaggtgtg atcaaggcca cacccaccac ctgtgacccc 900
cagcttgtgg accactctgt cctgctggtg ggttttggca gcgtcaagtc agaggagggg 960
atatgggcag agacagtctc atcgcagtct cagcctcagc ctccacaccc caccccatac 1020
tggatcctga agaactcctg gggggcccaa tggggagaga agggctattt ccggctgcac 1080
cgagggagca atacctgtgg catcaccaag ttcccgctca ctgcccgtgt gcagaaaccg 1140
gatatgaagc cccgagtctc ctgccctccc tgaacccacc tggccccctc agctctgtcc 1200
tgttaggcca actgcctcct tgccagcccc acccccaggt ttttgcccat cctcccaatc 1260
tcaatacagc ctgaataaac caagacaaga cctctgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320
aaaaaaa                                                          1327
```

<210> 79

634

<211> 376
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina W

<400> 79

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

635

<210> 80
<211> 249
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina W madura

<400> 80
Val Pro Phe Ser Cys Asp Trp Arg Lys Val Ala Gly Ala Ile Ser Pro
1 5 10 15
Ile Lys Asp Gln Lys Asn Cys Asn Cys Cys Trp Ala Met Ala Ala Ala
20 25 30
Gly Asn Ile Glu Thr Leu Trp Arg Ile Ser Phe Trp Asp Phe Val Asp
35 40 45
Val Ser Val His Glu Leu Leu Asp Cys Gly Arg Cys Gly Asp Gly Cys
50 55 60
His Gly Gly Phe Val Trp Asp Ala Phe Ile Thr Val Leu Asn Asn Ser
65 70 75 80
Gly Leu Ala Ser Glu Lys Asp Tyr Pro Phe Gln Gly Lys Val Arg Ala
85 90 95
His Arg Cys His Pro Lys Lys Tyr Gln Lys Val Ala Trp Ile Gln Asp
100 105 110
Phe Ile Met Leu Gln Asn Asn Glu His Arg Ile Ala Gln Tyr Leu Ala
115 120 125
Thr Tyr Gly Pro Ile Thr Val Thr Ile Asn Met Lys Pro Leu Gln Leu
130 135 140
Tyr Arg Lys Gly Val Ile Lys Ala Thr Pro Thr Thr Cys Asp Pro Gln
145 150 155 160
Leu Val Asp His Ser Val Leu Leu Val Gly Phe Gly Ser Val Lys Ser
165 170 175
Glu Glu Gly Ile Trp Ala Glu Thr Val Ser Ser Gln Ser Gln Pro Gln
180 185 190
Pro Pro His Pro Thr Pro Tyr Trp Ile Leu Lys Asn Ser Trp Gly Ala
195 200 205
Gln Trp Gly Glu Lys Gly Tyr Phe Arg Leu His Arg Gly Ser Asn Thr
210 215 220
Cys Gly Ile Thr Lys Phe Pro Leu Thr Ala Arg Val Gln Lys Pro Asp
225 230 235 240
Met Lys Pro Arg Val Ser Cys Pro Pro
245

<210> 81
<211> 3007
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de subunidad grande de calpaina 1

<400> 81
aaggagagag ggagggcgga gggcggaggg gcggcgggag gagggcgggg aggagcgctc 60
ttcctggttg ggccctgccc tgagctgcca ccgggaagcc agcctcaggg actgcagcga 120
cccccaaaca cccctccccc aggatgtcgg aggagatcat cacgccggtg tactgcactg 180
gggtgtcagc ccaagtgcag aagcagcggg ccagggagct gggcctgggc cgccatgaga 240
atgccatcaa gtacctgggc caggattatg agcagctgcg ggtgcgatgc ctgcagagtg 300

636

ggaccctctt ccgtgatgag gccttccccc cggtacccca gagcctgggt tacaaggacc 360
tgggtcccaa ttcctccaag acctatggca tcaagtggaa gcgtcccacg gaactgctgt 420
caaaccccca gttcattgtg gatggagcta cccgcacaga catctgccag ggagcactgg 480
gggactgctg gctcttggcg gccattgcct ccctcactct caacgacacc ctcctgcacc 540
gagtggttcc gcacggccag agcttccaga atggctatgc cggcatcttc catttccagc 600
tgtggcaatt tggggagtgg gtggacgtgg tcgtggatga cctgctgccc atcaaggacg 660
ggaagctagt gttcgtgcac tctgccgaag gcaacgagtt ctggagcgcc ctgcttgaga 720
aggcctatgc caaggtaaat ggcagctacg aggccctgtc agggggcagc acctcagagg 780
gctttgagga cttcacaggc ggggttaccg agtggtacga gttgcgcaag gctcccagtg 840
acctctacca gatcatcctc aaggcgctgg agcggggctc cctgctgggc tgctccatag 900
acatctccag cgttctagac atggaggcca tcactttcaa gaagttggtg aagggccatg 960
cctactctgt gaccggggcc aagcaggtga actaccgagg ccaggtggtg agcctgatcc 1020
ggatgcggaa cccctggggc gaggtggagt ggacgggagc ctggagcgac agctcctcag 1080
agtggaacaa cgtggaccca tatgaacggg accagctccg ggtcaagatg gaggacgggg 1140
agttctggat gtcattccga gacttcatgc gggagttcac ccgcctggag atctgcaacc 1200
tcacacccga cgccctcaag agccggacca tccgcaaatg gaacaccaca ctctacgaag 1260
gcacctggcg gcgggggagc accgcggggg gctgccgaaa ctacccagcc accttctggg 1320
tgaaccctca gttcaagatc cggctggatg agacggatga cccggacgac tacggggacc 1380
gcgagtcagg ctgcagcttc gtgctcgccc ttatgcagaa gcaccgtcgc cgcgagcgcc 1440
gcttcggccg cgacatggag actattggct tcgcggtcta cgaggtccct ccggagctgg 1500
tgggccagcc ggccgtacac ttgaagcgtg acttcttcct ggccaatgcg tctcgggcgc 1560
gctcagagca gttcatcaac ctgcgagagg tcagcacccg cttccgcctg ccacccgggg 1620
agtatgtggt ggtgccctcc accttcgagc ccaacaagga gggcgacttc gtgctgcgct 1680
tcttctcaga gaagagtgct gggactgtgg agctggatga ccagatccag gccaatctcc 1740
ccgatgagca agtgctctca gaagaggaga ttgacgagaa cttcaaggcc ctcttcaggc 1800
agctggcagg ggaggacatg gagatcagcg tgaaggagtt gcggacaatc ctcaatagga 1860
tcatcagcaa acacaaagac ctgcggacca agggcttcag cctagagtcg tgccgcagca 1920
tggtgaacct catggatcgt gatggcaatg ggaagctggg cctggtggag ttcaacatcc 1980
tgtggaaccg catccggaat tacctgtcca tcttccggaa gtttgacctg gacaagtcgg 2040
gcagcatgag tgcctacgag atgcggatgg ccattgagtc ggcaggcttc aagctcaaca 2100
agaagctgta cgagctcatc atcacccgct actcggagcc cgacctggcg gtcgactttg 2160
acaatttcgt ttgctgcctg gtgcggctag agaccatgtt ccgatttttc aaaactctgg 2220
acacagatct ggatggagtt gtgacctttg acttgtttaa gtggttgcag ctgaccatgt 2280
ttgcatgagg cagggactcg gtcccccttg ccgtgctccc ctccctcctc gtctgccaag 2340
cctcgcctcc taccacacca caccaggcca ccccagctgc aagtgccttc cttggagcag 2400
agaggcagcc tcgtcctcct gtcccctctc ctcccagcca ccatcgttca tctgctccgg 2460
gcagaactgt gtggcccctg cctgtgccag ccatgggctc gggatggact ccctgggccc 2520
cacccattgc caagccagga aggcagcttt cgcttgttcc tgcctcggga cagccccggg 2580
tttccccagc atcctgatgt gtcccctctc cccacttcag aggccaccca ctcagcacca 2640
ccggcctggc cttgcctgca gactataaac tataaccact agctcgacac agtctgcagt 2700
ccaggcgtgt ggagccgcct cccggctcgg ggaggccccg gggctgggaa cgcctgtgcc 2760
ttcctgcgcc gaagccaacg ccccctctgt ccttccctgg ccctgctgcc gaccaggagc 2820
tgcccagcct gtgggcggtc ggccttccct ccttcgctcc ttttttatat tagtgatttt 2880
aaaggggact cttcagggac ttgtgtactg gttatggggg tgccagaggc actaggcttg 2940
gggtggggag gtcccgtgtt ccatatagag gaaccccaaa taataaaagg ccccacatct 3000
gtctgtg 3007

<210> 82
<211> 714
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> subunidad grande de calpaina 1

<400> 82

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

638

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Phe Arg Gln Leu Ala Gly Glu Asp Met Glu
545 550 555 560
Ile Ser Val Lys Glu Leu Arg Thr Ile Leu Asn Arg Ile Ile Ser Lys
565 570 575
His Lys Asp Leu Arg Thr Lys Gly Phe Ser Leu Glu Ser Cys Arg Ser
580 585 590
Met Val Asn Leu Met Asp Arg Asp Gly Asn Gly Lys Leu Gly Leu Val
595 600 605
Glu Phe Asn Ile Leu Trp Asn Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Ile Phe
610 615 620
Arg Lys Phe Asp Leu Asp Lys Ser Gly Ser Met Ser Ala Tyr Glu Met
625 630 635 640
Arg Met Ala Ile Glu Ser Ala Gly Phe Lys Leu Asn Lys Lys Leu Tyr
645 650 655
Glu Leu Ile Ile Thr Arg Tyr Ser Glu Pro Asp Leu Ala Val Asp Phe
660 665 670
Asp Asn Phe Val Cys Cys Leu Val Arg Leu Glu Thr Met Phe Arg Phe
675 680 685
Phe Lys Thr Leu Asp Thr Asp Leu Asp Gly Val Val Thr Phe Asp Leu
690 695 700
Phe Lys Trp Leu Gln Leu Thr Met Phe Ala
705 710

<210> 83
<211> 3492
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de subunidad grande de calpaina 2

<400> 83
caggccgcag gatggcctgg tcccgggccg ggagcccagc aggccgggag cggctgaggc 60
cacaccccgc gggccgggcc gcttccctcc ggtgaatcat cgctcgcagc ggcggcgccc 120
gcagtggccg cagcagcgcg ccgggccctg gccgcgcccc agccgagcgc agcgcggagt 180
cgccccgacc tttctctgcg cagtacggcc gccgggaccg cagcatggcg ggcatcgcgg 240
ccaagctggc gaaggaccgg gaggcggccg aggggctggg ctcccacgag agggccatca 300
agtacctcaa ccaggactac gaggcgctgc ggaacgagtg cctggaggcc gggacgctct 360
tccaggaccc gtccttcccg gccatccgct cggccctggg cttcaaggag ttggggccct 420
actccagcaa aacccggggc atcgagtgga agcgccccac ggagatctgc gctgaccccc 480
agtttatcat tggaggagcc acccgcacag acatctgcca aggagccctg ggtgactgct 540
ggctgctggc agccattgcc tccctcacct tgaatgaaga aatcctggct cgagtcgtcc 600
ccctaaacca gagcttccag gaaaactatg cagggatctt tcacttccag ttctggcaat 660

639

acggcgagtg ggtggaggtg gtggtggatg acaggctgcc caccaaggac ggggagctgc 720
tctttgtgca ttcagccgaa gggagcgagt tctggagcgc cctgctggag aaggcatacg 780
ccaagatcaa cggatgctat gaagcgctat cagggggtgc caccactgag ggcttcgaag 840
acttcaccgg aggcattgct gagtggtatg agttgaagaa gccccctccc aacctgttca 900
agatcatcca gaaagctctg caaaaaggct ctctccttgg ctgctccatc gacatcacca 960
gcgccgcgga ctcggaggcc atcacgtttc agaagctggt gaaggggcac gcgtactcgg 1020
tcaccggagc cgaggaggtt gaaagtaacg gaagcctaca gaaactgatc cgcatccgaa 1080
atccctgggg agaagtggag tggacagggc ggtggaatga caactgccca agctggaaca 1140
ctatagaccc agaggagagg gaaaggctga ccagacggca tgaagatgga gaattctgga 1200
tgtctttcag tgacttcctg aggcactatt cccgcctgga gatctgtaac ctgaccccag 1260
acactctcac cagcgatacc tacaagaagt ggaaactcac caaaatggat gggaactgga 1320
ggcggggctc caccgcggga ggttgcagga actacccgaa cacattctgg atgaaccctc 1380
agtacctgat caagctggag gaggaggatg aggacgagga ggatggggag agcggctgca 1440
ccttcctggt ggggctcatt cagaagcacc gacggcggca gaggaagatg ggcgaggaca 1500
tgcacaccat cggctttggc atctatgagg ttccagagga gttaagtggg cagaccaaca 1560
tccacctcag caaaaacttc ttcctgacga atcgcgccag ggagcgctca gacaccttca 1620
tcaacctccg ggaggtgctc aaccgcttca agctgccgcc aggagagtac attctcgtgc 1680
cttccacctt cgaacccaac aaggatgggg atttctgcat ccgggtcttt tctgaaaaga 1740
aagctgacta ccaagctgtc gatgatgaaa tcgaggccaa tcttgaagag ttcgacatca 1800
gcgaggatga cattgatgat ggattcagga gactgtttgc ccagttggca ggagaggatg 1860
cggagatctc tgcctttgag ctgcagacca tcctgagaag ggttctagca aagcgccaag 1920
atatcaagtc agatggcttc agcatcgaga catgcaaaat tatggttgac atgctagatt 1980
cggacgggag tggcaagctg gggctgaagg agttctacat tctctggacg aagattcaaa 2040
aataccaaaa aatttaccga gaaatcgacg ttgacaggtc tggtaccatg aattcctatg 2100
aaatgcggaa ggcattagaa gaagcaggtt tcaagatgcc ctgtcaactc caccaagtca 2160
tcgttgctcg gtttgcagat gaccagctca tcatcgattt tgataatttt gttcggtgtt 2220
tggttcggct ggaaacgcta ttcaagatat ttaagcagct ggatcccgag aatactggaa 2280
caatagagct cgaccttatc tcttggctct gtttctcagt actttgaagt tataactaat 2340
ctgcctgaag acttctcatg atggaaaatc agccaaggac taagcttcca tagaaataca 2400
ctttgtatct ggacctcaaa attatgggaa catttactta aacggatgat catagctgaa 2460
aataatgata ctgtcaattt gagatagcag aagtttcaca catcaaagta aaagatttgc 2520
atatcattat actaaatgca aatgagtcgc ttaacccttg acaaggtcaa agaaagcttt 2580
aaatctgtaa atagtataca ctttttactt ttacacactt tcctgttcat agcaatatta 2640
aatcaggaaa aaaaaatgca gggaggtatt taacagctga gcaaaaacat tgagtcgctc 2700
tcaaaggaca cgaggccctt ggcagggaat atttaaagca acttcaagtt taaaatgcag 2760
ctgttgattc taccaaacaa cagtccaaga ttaccatttc ccatgagcca actgggaaac 2820
atggtatatc atgaagtaat cttgtcaagg catctggaga gtccaggaga gaagactcac 2880
ctctgtcgct tgggttaaac aagagacagg ttttgtagaa tattgattgg taatagtaaa 2940
tcgttctcct tacaatcaag ttcttgaccc tattcggcct tatacatctg gtcttacaaa 3000
gaccaaaggg atcctgcgct tgatcaactg aaccagtatg ccaaaaccag gcatccaatt 3060
tgtaaaccaa ttatgataaa ggacaaaata agctgtttgc cacctcaaaa ctttatgaac 3120
ttcaccacca ctagtgtctg tccatggagt tagaggggac atcacttaga agttcttata 3180
gaaaggacac aagtttgttt cctggcttta ccttgggaaa atgctagcaa cattatagaa 3240
attttgcctt gttgccttat cttcttccaa atgtactgtt aaataaaaat aaagggttac 3300
cccatgcaat cacaccatgc catgttttcc ttcctggagg gcagccccac aggacggttt 3360
atgagcacac aattatagct tgtttctact ttaacaaggt atgctgcctc tgtaaattca 3420
tgtattcaaa ggaaaagaca ccttgcctat aattaaaatg tggaactata aaatttttta 3480
aaatccaaaa aa 3492

<210> 84
<211> 700
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de subunidad grande de calpaina 2

640

<400> 84

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

641

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

<210> 85
<211> 699
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> subunidad grande de calpaina 2

```
<400> 85
Ala Gly Ile Ala Ala Lys Leu Ala Lys Asp Arg Glu Ala Ala Glu Gly
 1                5                  10                  15
Leu Gly Ser His Glu Arg Ala Ile Lys Tyr Leu Asn Gln Asp Tyr Glu
            20                  25                  30
Ala Leu Arg Asn Glu Cys Leu Glu Ala Gly Thr Leu Phe Gln Asp Pro
        35                  40                  45
Ser Phe Pro Ala Ile Pro Ser Ala Leu Gly Phe Lys Glu Leu Gly Pro
    50                  55                  60
Tyr Ser Ser Lys Thr Arg Gly Ile Glu Trp Lys Arg Pro Thr Glu Ile
65                  70                  75                  80
Cys Ala Asp Pro Gln Phe Ile Ile Gly Gly Ala Thr Arg Thr Asp Ile
                85                  90                  95
Cys Gln Gly Ala Leu Gly Asp Cys Trp Leu Leu Ala Ala Ile Ala Ser
            100                 105                 110
```

642

```
Leu Thr Leu Asn Glu Glu Ile Leu Ala Arg Val Val Pro Leu Asn Gln
        115                 120                 125
Ser Phe Gln Glu Asn Tyr Ala Gly Ile Phe His Phe Gln Phe Trp Gln
    130                 135                 140
Tyr Gly Glu Trp Val Glu Val Val Val Asp Asp Arg Leu Pro Thr Lys
145                 150                 155                 160
Asp Gly Glu Leu Leu Phe Val His Ser Ala Glu Gly Ser Glu Phe Trp
                165                 170                 175
Ser Ala Leu Leu Glu Lys Ala Tyr Ala Lys Ile Asn Gly Cys Tyr Glu
            180                 185                 190
Ala Leu Ser Gly Gly Ala Thr Thr Glu Gly Phe Glu Asp Phe Thr Gly
        195                 200                 205
Gly Ile Ala Glu Trp Tyr Glu Leu Lys Lys Pro Pro Pro Asn Leu Phe
    210                 215                 220
Lys Ile Ile Gln Lys Ala Leu Gln Lys Gly Ser Leu Leu Gly Cys Ser
225                 230                 235                 240

Ile Asp Ile Thr Ser Ala Ala Asp Ser Glu Ala Ile Thr Phe Gln Lys
                245                 250                 255
Leu Val Lys Gly His Ala Tyr Ser Val Thr Gly Ala Glu Glu Val Glu
            260                 265                 270
Ser Asn Gly Ser Leu Gln Lys Leu Ile Arg Ile Arg Asn Pro Trp Gly
        275                 280                 285
Glu Val Glu Trp Thr Gly Arg Trp Asn Asp Asn Cys Pro Ser Trp Asn
    290                 295                 300
Thr Ile Asp Pro Glu Glu Arg Glu Arg Leu Thr Arg Arg His Glu Asp
305                 310                 315                 320
Gly Glu Phe Trp Met Ser Phe Ser Asp Phe Leu Arg His Tyr Ser Arg
                325                 330                 335
Leu Glu Ile Cys Asn Leu Thr Pro Asp Thr Leu Thr Ser Asp Thr Tyr
            340                 345                 350
Lys Lys Trp Lys Leu Thr Lys Met Asp Gly Asn Trp Arg Arg Gly Ser
        355                 360                 365
Thr Ala Gly Gly Cys Arg Asn Tyr Pro Asn Thr Phe Trp Met Asn Pro
    370                 375                 380
Gln Tyr Leu Ile Lys Leu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Glu Glu Asp Gly
385                 390                 395                 400
Glu Ser Gly Cys Thr Phe Leu Val Gly Leu Ile Gln Lys His Arg Arg
                405                 410                 415
Arg Gln Arg Lys Met Gly Glu Asp Met His Thr Ile Gly Phe Gly Ile
            420                 425                 430
Tyr Glu Val Pro Glu Glu Leu Ser Gly Gln Thr Asn Ile His Leu Ser
        435                 440                 445
Lys Asn Phe Phe Leu Thr Asn Arg Ala Arg Glu Arg Ser Asp Thr Phe
    450                 455                 460
Ile Asn Leu Arg Glu Val Leu Asn Arg Phe Lys Leu Pro Pro Gly Glu
465                 470                 475                 480
Tyr Ile Leu Val Pro Ser Thr Phe Glu Pro Asn Lys Asp Gly Asp Phe
                485                 490                 495
Cys Ile Arg Val Phe Ser Glu Lys Lys Ala Asp Tyr Gln Ala Val Asp
            500                 505                 510
Asp Glu Ile Glu Ala Asn Leu Glu Glu Phe Asp Ile Ser Glu Asp Asp
        515                 520                 525
Ile Asp Asp Gly Phe Arg Arg Leu Phe Ala Gln Leu Ala Gly Glu Asp
    530                 535                 540
Ala Glu Ile Ser Ala Phe Glu Leu Gln Thr Ile Leu Arg Arg Val Leu
545                 550                 555                 560
```

643

```
Ala Lys Arg Gln Asp Ile Lys Ser Asp Gly Phe Ser Ile Glu Thr Cys
                565                 570                 575
Lys Ile Met Val Asp Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Gly Lys Leu Gly
            580                 585                 590
Leu Lys Glu Phe Tyr Ile Leu Trp Thr Lys Ile Gln Lys Tyr Gln Lys
        595                 600                 605
Ile Tyr Arg Glu Ile Asp Val Asp Arg Ser Gly Thr Met Asn Ser Tyr
    610                 615                 620
Glu Met Arg Lys Ala Leu Glu Glu Ala Gly Phe Lys Met Pro Cys Gln
625                 630                 635                 640
Leu His Gln Val Ile Val Ala Arg Phe Ala Asp Asp Gln Leu Ile Ile
                645                 650                 655
Asp Phe Asp Asn Phe Val Arg Cys Leu Val Arg Leu Glu Thr Leu Phe
            660                 665                 670
Lys Ile Phe Lys Gln Leu Asp Pro Glu Asn Thr Gly Thr Ile Glu Leu
        675                 680                 685
Asp Leu Ile Ser Trp Leu Cys Phe Ser Val Leu
    690                 695
```

<210> 86
<211> 1492
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> subunidad pequeña de calpaina 1

<400> 86

```
cgggcgacag cagggccgcg gtgcagtgtc cgacccgaga gttgcggcct gagtcaccgg 60
ccccgccctc cggagccgga cgctgcggga ggcccgggag cggcagtgga accgactccc 120
agaactccgg acgtgtgcgg cgcagtgagt cgcagccatg ttcctggtta actcgttctt 180
gaagggcggc ggcggcggcg gcgggggagg cgggggcctg ggtgggggcc tgggaaatgt 240
gcttggaggc ctgatcagcg gggccggggg cggcggcggc ggcggcggcg gcggcggcgg 300
tggtggaggc ggcggtggcg gtggaacggc catgcgcatc ctaggcggag tcatcagcgc 360
catcagcgag gcggctgcgc agtacaaccc ggagcccccg cccccacgca cacattactc 420
caacattgag gccaacgaga gtgaggaggt ccggcagttc cggagactct ttgcccagct 480
ggctggagat gacatggagg tcagcgccac agaactcatg aacattctca ataaggttgt 540
gacacgacac cctgatctga agactgatgg ttttggcatt gacacatgtc gcagcatggt 600
ggccgtgatg gatagcgaca ccacaggcaa gctgggcttt gaggaattca agtacttgtg 660
gaacaacatc aaaaggtggc aggccatata caaacagttc gacactgacc gatcagggac 720
catttgcagt agtgaactcc caggtgcctt tgaggcagca gggttccacc tgaatgagca 780
tctctataac atgatcatcc gacgctactc agatgaaagt gggaacatgg attttgacaa 840
cttcatcagc tgcttggtca ggctggacgc catgttccgt gccttcaaat ctcttgacaa 900
agatggcact ggacaaatcc aggtgaacat ccaggagtgg ctgcagctga ctatgtattc 960
ctgaactgga gccccagacc cgccccctca ctgccttgct ataggagtca cctggagcct 1020
cggtctctcc cagggccgat cctgtctgca gtcacatctt tgtggggcct gctgacccac 1080
aagcttttgt tctctcagta cttgttaccc agcttctcaa catccagggc ccaatttgcc 1140
ctgcctggag ttccccctgg ctctaggaca ctctaacaag ctctgtccac gggtctcccc 1200
attcccacca ggccctgcac acacccactc cgtaacctct cccctgtacc tgtgccaagc 1260
ctagcacttg tgatgcctcc atgccccgag ggccctctct cagttctggg aggatgactc 1320
cagtccctgc acgccctggc acacccttca cggttgctac ccaggcggcc aagctccaga 1380
ccgtgccaga cccaggtgcc ccagtgcctt tgtctatatt ctgctcccag cctgccaggc 1440
ccaggaggaa ataaacatgc cccagttgct gatctctaaa aaaaaaaaaa aa          1492
```

<210> 87
<211> 268

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> subunidad pequeña de calpaina 1

<400> 87
Met Phe Leu Val Asn Ser Phe Leu Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1   5   10   15
Gly Gly Gly Gly Leu Gly Gly Gly Leu Gly Asn Val Leu Gly Gly Leu
            20   25   30
Ile Ser Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
        35   40   45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Thr Ala Met Arg Ile Leu Gly Gly
    50   55   60
Val Ile Ser Ala Ile Ser Glu Ala Ala Ala Gln Tyr Asn Pro Glu Pro
65   70   75   80
Pro Pro Pro Arg Thr His Tyr Ser Asn Ile Glu Ala Asn Glu Ser Glu
                85   90   95
Glu Val Arg Gln Phe Arg Arg Leu Phe Ala Gln Leu Ala Gly Asp Asp
            100   105   110
Met Glu Val Ser Ala Thr Glu Leu Met Asn Ile Leu Asn Lys Val Val
        115   120   125
Thr Arg His Pro Asp Leu Lys Thr Asp Gly Phe Gly Ile Asp Thr Cys
    130   135   140
Arg Ser Met Val Ala Val Met Asp Ser Asp Thr Thr Gly Lys Leu Gly
145   150   155   160
Phe Glu Glu Phe Lys Tyr Leu Trp Asn Asn Ile Lys Arg Trp Gln Ala
                165   170   175
Ile Tyr Lys Gln Phe Asp Thr Asp Arg Ser Gly Thr Ile Cys Ser Ser
            180   185   190
Glu Leu Pro Gly Ala Phe Glu Ala Ala Gly Phe His Leu Asn Glu His
        195   200   205
Leu Tyr Asn Met Ile Ile Arg Arg Tyr Ser Asp Glu Ser Gly Asn Met
    210   215   220
Asp Phe Asp Asn Phe Ile Ser Cys Leu Val Arg Leu Asp Ala Met Phe
225   230   235   240
Arg Ala Phe Lys Ser Leu Asp Lys Asp Gly Thr Gly Gln Ile Gln Val
                245   250   255
Asn Ile Gln Glu Trp Leu Gln Leu Thr Met Tyr Ser
            260   265

<210> 88
<211> 2205
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina D

<400> 88
gcgcacgccg gccgcgccca cgtgaccggt ccgggtgcaa acacgcgggt cagctgatcc 60
ggcccaactg cggcgtcatc ccggctataa gcgcacggcc tcggcgaccc tctccgaccc 120
ggccgccgcc gccatgcagc cctccagcct tctgccgctc gccctctgcc tgctggctgc 180
acccgcctcc gcgctcgtca ggatcccgct gcacaagttc acgtccatcc gccggaccat 240
gtcggaggtt gggggctctg tggaggacct gattgccaaa ggccccgtct caaagtactc 300

ccaggcggtg ccagccgtga ccgaggggcc cattcccgag gtgctcaaga actacatgga 360
cgcccagtac tacggggaga ttggcatcgg gacgcccccc cagtgcttca cagtcgtctt 420
cgacacgggc tcctccaacc tgtgggtccc ctccatccac tgcaaactgc tggacatcgc 480
ttgctggatc caccacaagt acaacagcga caagtccagc acctacgtga agaatggtac 540
ctcgtttgac atccactatg gctcgggcag cctctccggg tacctgagcc aggacactgt 600
gtcggtgccc tgccagtcag cgtcgtcagc ctctgccctg ggcggtgtca aagtggagag 660
gcaggtcttt ggggaggcca ccaagcagcc aggcatcacc ttcatcgcag ccaagttcga 720
tggcatcctg ggcatggcct acccccgcat ctccgtcaac aacgtgctgc ccgtcttcga 780
caacctgatg cagcagaagc tggtggacca gaacatcttc tccttctacc tgagcaggga 840
cccagatgcg cagcctgggg gtgagctgat gctgggtggc acagactcca agtattacaa 900
gggttctctg tcctacctga atgtcacccg caaggcctac tggcaggtcc acctggacca 960
ggtggaggtg gccagcgggc tgaccctgtg caaggagggc tgtgaggcca ttgtggacac 1020
aggcacttcc ctcatggtgg gcccggtgga tgaggtgcgc gagctgcaga aggccatcgg 1080
ggccgtgccg ctgattcagg gcgagtacat gatcccctgt gagaaggtgt ccaccctgcc 1140
cgcgatcaca ctgaagctgg gaggcaaagg ctacaagctg tccccagagg actacacgct 1200
caaggtgtcg caggccggga agaccctctg cctgagcggc ttcatgggca tggacatccc 1260
gccacccagc gggccactct ggatcctggg cgacgtcttc atcggccgct actacactgt 1320
gtttgaccgt gacaacaaca gggtgggctt cgccgaggct gcccgcctct agttcccaag 1380
gcgtccgcgc gccagcacag aaacagagga gagtcccaga gcaggaggcc cctggcccag 1440
cggcccctcc cacacacacc cacacactcg cccgcccact gtcctgggcg ccctggaagc 1500
cggcggccca agcccgactt gctgttttgt tctgtggttt tcccctccct gggttcagaa 1560
atgctgcctg cctgtctgtc tctccatctg tttggtgggg gtagagctga tccagagcac 1620
agatctgttt cgtgcattgg aagaccccac ccaagcttgg cagccgagct cgtgtatcct 1680
ggggctccct tcatctccag ggagtcccct ccccggccct accagcgccc gctgggctga 1740
gcccctaccc cacaccaggc cgtcctcccg ggccctccct tggaaacctg ccctgcctga 1800
gggcccctct gcccagcttg ggcccagctg ggctctgcca ccctacctgt tcagtgtccc 1860
gggcccgttg aggatgaggc cgctagaggc ctgaggatga gctggaagga gtgagagggg 1920
acaaaaccca ccttgttgga gcctgcaggg tggtgctggg actgagccag tcccaggggc 1980
atgtattggc ctggaggtgg ggttgggatt gggggctggt gccagccttc ctctgcagct 2040
gacctctgtt gtcctcccct tgggcggctg agagccccag ctgacatgga aatacagttg 2100
ttggcctccg gcctcccctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 2205

<210> 89
<211> 412
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina D

<400> 89

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

646

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

<210> 90
<211> 348
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina D madura

<400> 90

```
Gly Pro Ile Pro Glu Val Leu Lys Asn Tyr Met Asp Ala Gln Tyr Tyr
 1               5                  10                  15
Gly Glu Ile Gly Ile Gly Thr Pro Pro Gln Cys Phe Thr Val Val Phe
            20                  25                  30
Asp Thr Gly Ser Ser Asn Leu Trp Val Pro Ser Ile His Cys Lys Leu
        35                  40                  45
Leu Asp Ile Ala Cys Trp Ile His His Lys Tyr Asn Ser Asp Lys Ser
    50                  55                  60
```

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

Val Asp Glu Val Arg Glu Leu Gln Lys Ala Ile Gly Ala Val Pro Leu
245 250 255
Ile Gln Gly Glu Tyr Met Ile Pro Cys Glu Lys Val Ser Thr Leu Pro
260 265 270
Ala Ile Thr Leu Lys Leu Gly Gly Lys Gly Tyr Lys Leu Ser Pro Glu
275 280 285
Asp Tyr Thr Leu Lys Val Ser Gln Ala Gly Lys Thr Leu Cys Leu Ser
290 295 300
Gly Phe Met Gly Met Asp Ile Pro Pro Pro Ser Gly Pro Leu Trp Ile
305 310 315 320
Leu Gly Asp Val Phe Ile Gly Arg Tyr Tyr Thr Val Phe Asp Arg Asp
325 330 335
Asn Asn Arg Val Gly Phe Ala Glu Ala Ala Arg Leu
340 345

<210> 91
<211> 2228
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> variante 1 del transcripto de catepsina e

<400> 91
atcattcggc cctcagactg ggctgggcag gtctgagagt tagggaaagt ccgttcccac 60
tgccctcggg gagagaagaa aggaggggggc aagggagaag ctgctggtcg gactcacaat 120
gaaaacgctc cttcttttgc tgctggtgct cctggagctg ggagaggccc aaggatccct 180
tcacagggtg cccctcagga ggcatccgtc cctcaagaag aagctgcggg cacggagcca 240
gctctctgag ttctggaaat cccataattt ggacatgatc cagttcaccg agtcctgctc 300
aatggaccag agtgccaagg aacccctcat caactacttg gatatggaat acttcggcac 360
tatctccatt ggctccccac cacagaactt cactgtcatc ttcgacactg gctcctccaa 420
cctctgggtc ccctctgtgt actgcactag cccagcctgc aagacgcaca gcaggttcca 480
gccttcccag tccagcacat acagccagcc aggtcaatct ttctccattc agtatggaac 540

cgggagcttg tccgggatca ttggagccga ccaagtctct gtggaaggac taaccgtggt 600
tggccagcag tttggagaaa gtgtcacaga gccaggccag acctttgtgg atgcagagtt 660
tgatggaatt ctgggcctgg gataccctc cttggctgtg ggaggagtga ctccagtatt 720
tgacaacatg atggctcaga acctggtgga cttgccgatg ttttctgtct acatgagcag 780
taacccagaa ggtggtgcgg ggagcgagct gatttttgga ggctacgacc actcccattt 840
ctctgggagc ctgaattggg tcccagtcac caagcaagct tactggcaga ttgcactgga 900
taacatccag gtgggaggca ctgttatgtt ctgctccgag ggctgccagg ccattgtgga 960
cacagggact tccctcatca ctggcccttc cgacaagatt aagcagctgc aaaacgccat 1020
tggggcagcc cccgtggatg gagaatatgc tgtggagtgt gccaacctta acgtcatgcc 1080
ggatgtcacc ttcaccatta acggagtccc ctataccctc agcccaactg cctacaccct 1140
actggacttc gtggatggaa tgcagttctg cagcagtggc tttcaaggac ttgacatcca 1200
ccctccagct gggcccctct ggatcctggg ggatgtcttc attcgacagt tttactcagt 1260
ctttgaccgt gggaataacc gtgtgggact ggccccagca gtcccctaag gaggggcctt 1320
gtgtctgtgc ctgcctgtct gacagacctt gaatatgtta ggctggggca ttctttacac 1380
ctacaaaaag ttattttcca gagaatgtag ctgtttccag ggttgcaact tgaattaaga 1440
ccaaacagaa catgagaata cacacacaca cacacatata cacacacaca cacttcacac 1500
atacacacca ctcccaccac cgtcatgatg gaggaattac gttatacatt catattttgt 1560
attgattttt gattatgaaa atcaaaaatt ttcacatttg attatgaaaa tctccaaaca 1620
tatgcacaag cagagatcat ggtataataa atccctttgc aactccactc agccctgaca 1680
acccatccac acacggccag gcctgtttat ctacactgct gcccactcct ctctccagct 1740
ccacatgctg tacctggatc attctgaagc aaattccgag cattacatca ttttgtccat 1800
aaatatttct aacatcctta aatatacaat cggaattcaa gcatctccca ttgtcccaca 1860
aatgtttggc tgtttttgta gttggattgt ttgtattagg attcaagcaa ggcccatata 1920
ttgcatttat ttgaaatgtc tgtaagtctc tttccatcta cagagtttag cacatttgaa 1980
cgttgctggt tgaaatcccg aggtgtcatt tgacatggtt ctctgaactt atctttccta 2040
taaaatggta gttagatctg gaggtctgat tttgtggcaa aaatacttcc taggtggtgc 2100
tgggtacttc ttgttgcatc ctgtcaggag gcagataatg ctggtgcctc tctattggta 2160
atgttaagac tgctgggtgg gtttggagtt cttggcttta atcattcatt acaaagttca 2220
gcatttta 2228

<210> 92
<211> 396
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina E isoforma a

<400> 92
Met Lys Thr Leu Leu Leu Leu Leu Val Leu Leu Glu Leu Gly Glu
1 5 10 15
Ala Gln Gly Ser Leu His Arg Val Pro Leu Arg Arg His Pro Ser Leu
20 25 30
Lys Lys Lys Leu Arg Ala Arg Ser Gln Leu Ser Glu Phe Trp Lys Ser
35 40 45
His Asn Leu Asp Met Ile Gln Phe Thr Glu Ser Cys Ser Met Asp Gln
50 55 60
Ser Ala Lys Glu Pro Leu Ile Asn Tyr Leu Asp Met Glu Tyr Phe Gly
65 70 75 80
Thr Ile Ser Ile Gly Ser Pro Pro Gln Asn Phe Thr Val Ile Phe Asp
85 90 95
Thr Gly Ser Ser Asn Leu Trp Val Pro Ser Val Tyr Cys Thr Ser Pro
100 105 110
Ala Cys Lys Thr His Ser Arg Phe Gln Pro Ser Gln Ser Ser Thr Tyr
115 120 125
Ser Gln Pro Gly Gln Ser Phe Ser Ile Gln Tyr Gly Thr Gly Ser Leu
130 135 140

649

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

Thr Ala Tyr Thr Leu Leu Asp Phe Val Asp Gly Met Gln Phe Cys Ser
            340                 345                 350
Ser Gly Phe Gln Gly Leu Asp Ile His Pro Pro Ala Gly Pro Leu Trp
        355                 360                 365
Ile Leu Gly Asp Val Phe Ile Arg Gln Phe Tyr Ser Val Phe Asp Arg
    370                 375                 380
Gly Asn Asn Arg Val Gly Leu Ala Pro Ala Val Pro
385                 390                 395
```

<210> 93
<211> 343
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina E isoforma a madura

```
<400> 93
Ile Gln Phe Thr Glu Ser Cys Ser Met Asp Gln Ser Ala Lys Glu Pro
 1               5                  10                  15
Leu Ile Asn Tyr Leu Asp Met Glu Tyr Phe Gly Thr Ile Ser Ile Gly
            20                  25                  30
Ser Pro Pro Gln Asn Phe Thr Val Ile Phe Asp Thr Gly Ser Ser Asn
        35                  40                  45
Leu Trp Val Pro Ser Val Tyr Cys Thr Ser Pro Ala Cys Lys Thr His
    50                  55                  60
Ser Arg Phe Gln Pro Ser Gln Ser Ser Thr Tyr Ser Gln Pro Gly Gln
65                  70                  75                  80
Ser Phe Ser Ile Gln Tyr Gly Thr Gly Ser Leu Ser Gly Ile Ile Gly
                85                  90                  95
```

650

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

Leu Asp Ile His Pro Pro Ala Gly Pro Leu Trp Ile Leu Gly Asp Val
305                 310                 315                 320
Phe Ile Arg Gln Phe Tyr Ser Val Phe Asp Arg Gly Asn Asn Arg Val
                325                 330                 335
Gly Leu Ala Pro Ala Val Pro
            340
```

<210> 94
<211> 2086
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> variante 2 del transcripto de catepsina E

<400> 94

```
atcattcggc cctcagactg ggctgggcag gtctgagagt tagggaaagt ccgttcccac 60
tgccctcggg gagagaagaa aggagggggc aagggagaag ctgctggtcg gactcacaat 120
gaaaacgctc cttcttttgc tgctggtgct cctggagctg ggagaggccc aaggatccct 180
tcacagggtg cccctcagga ggcatccgtc cctcaagaag aagctgcggg cacggagcca 240
gctctctgag ttctggaaat cccataattt ggacatgatc cagttcaccg agtcctgctc 300
aatggaccag agtgccaagg aacccctcat caactacttg gatatggaat acttcggcac 360
tatctccatt ggctccccac cacagaactt cactgtcatc ttcgacactg gctcctccaa 420
cctctgggtc ccctctgtgt actgcactag cccagcctgc aagacgcaca gcaggttcca 480
gccttcccag tccagcacat acagccagcc aggtcaatct ttctccattc agtatggaac 540
cgggagcttg tccgggatca ttggagccga ccaagtctct gtggaaggac taaccgtggt 600
tggccagcag tttggagaaa gtgtcacaga gccaggccag acctttgtgg atgcagagtt 660
tgatggaatt ctgggcctgg gataccctc cttggctgtg ggaggagtga ctccagtatt 720
tgacaacatg atggctcaga acctggtgga cttgccgatg ttttctgtct acatgagcag 780
```

651

taacccagaa ggtggtgcgg ggagcgagct gatttttgga ggctacgacc actcccattt 840
ctctgggagc ctgaattggg tcccagtcac caagcaagct tactggcaga ttgcactgga 900
taatatgctg tggagtgtgc caaccttaac gtcatgccgg atgtcacctt caccattaac 960
ggagtcccct ataccctcag cccaactgcc tacaccctac tggacttcgt ggatggaatg 1020
cagttctgca gcagtggctt tcaaggactt gacatccacc ctccagctgg gcccctctgg 1080
atcctggggg atgtcttcat tcgacagttt tactcagtct ttgaccgtgg gaataaccgt 1140
gtgggactgg ccccagcagt cccctaagga ggggccttgt gtctgtgcct gcctgtctga 1200
cagaccttga atatgttagg ctggggcatt ctttacacct acaaaaagtt attttccaga 1260
gaatgtagct gtttccaggg ttgcaacttg aattaagacc aaacagaaca tgagaataca 1320
cacacacaca cacatataca cacacacaca cttcacacat acacaccact cccaccaccg 1380
tcatgatgga ggaattacgt tatacattca tattttgtat tgatttttga ttatgaaaat 1440
caaaaatttt cacatttgat tatgaaaatc tccaaacata tgcacaagca gagatcatgg 1500
tataataaat ccctttgcaa ctccactcag ccctgacaac ccatccacac acggccaggc 1560
ctgtttatct acactgctgc ccactcctct ctccagctcc acatgctgta cctggatcat 1620
tctgaagcaa attccgagca ttacatcatt ttgtccataa atatttctaa catccttaaa 1680
tatacaatcg gaattcaagc atctcccatt gtcccacaaa tgtttggctg tttttgtagt 1740
tggattgttt gtattaggat tcaagcaagg cccatatatt gcatttattt gaaatgtctg 1800
taagtctctt tccatctaca gagtttagca catttgaacg ttgctggttg aaatcccgag 1860
gtgtcatttg acatggttct ctgaacttat ctttcctata aaatggtagt tagatctgga 1920
ggtctgattt tgtggcaaaa atacttccta ggtggtgctg ggtacttctt gttgcatcct 1980
gtcaggaggc agataatgct ggtgcctctc tattggtaat gttaagactg ctgggtgggt 2040
ttggagttct tggctttaat cattcattac aaagttcagc atttta 2086

<210> 95
<211> 363
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina E isoforma B

<400> 95

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

652

```
Ala Val Gly Gly Val Thr Pro Val Phe Asp Asn Met Met Ala Gln Asn
        195                 200                 205
Leu Val Asp Leu Pro Met Phe Ser Val Tyr Met Ser Ser Asn Pro Glu
    210                 215                 220
Gly Gly Ala Gly Ser Glu Leu Ile Phe Gly Gly Tyr Asp His Ser His
225                 230                 235                 240
Phe Ser Gly Ser Leu Asn Trp Val Pro Val Thr Lys Gln Ala Tyr Trp
                245                 250                 255
Gln Ile Ala Leu Asp Asn Met Leu Trp Ser Val Pro Thr Leu Thr Ser
            260                 265                 270
Cys Arg Met Ser Pro Ser Pro Leu Thr Glu Ser Pro Ile Pro Ser Ala
        275                 280                 285
Gln Leu Pro Thr Pro Tyr Trp Thr Ser Trp Met Glu Cys Ser Ser Ala
    290                 295                 300
Ala Val Ala Phe Lys Asp Leu Thr Ser Thr Leu Gln Leu Gly Pro Ser
305                 310                 315                 320
Gly Ser Trp Gly Met Ser Ser Phe Asp Ser Phe Thr Gln Ser Leu Thr
                325                 330                 335
Val Gly Ile Thr Val Trp Asp Trp Pro Gln Gln Ser Pro Lys Glu Gly
            340                 345                 350
Pro Cys Val Cys Ala Cys Leu Ser Asp Arg Pro
        355                 360
```

<210> 96
<211> 310
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina E isoforma b madura

<400> 96

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

653

```
Asn Trp Val Pro Val Thr Lys Gln Ala Tyr Trp Gln Ile Ala Leu Asp
        195                 200                 205
Asn Met Leu Trp Ser Val Pro Thr Leu Thr Ser Cys Arg Met Ser Pro
    210                 215                 220
Ser Pro Leu Thr Glu Ser Pro Ile Pro Ser Ala Gln Leu Pro Thr Pro
225                 230                 235                 240
Tyr Trp Thr Ser Trp Met Glu Cys Ser Ser Ala Ala Val Ala Phe Lys
                245                 250                 255
Asp Leu Thr Ser Thr Leu Gln Leu Gly Pro Ser Gly Ser Trp Gly Met
            260                 265                 270
Ser Ser Phe Asp Ser Phe Thr Gln Ser Leu Thr Val Gly Ile Thr Val
        275                 280                 285
Trp Asp Trp Pro Gln Gln Ser Pro Lys Glu Gly Pro Cys Val Cys Ala
    290                 295                 300
Cys Leu Ser Asp Arg Pro
305                 310
```

<210> 97
<211> 1973
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-1

<400> 97

```
gggatattgg agtagcaaga ggctgggaag ccatcactta ccttgcactg agaaagaaga 60
caaaggccag tatgcacagc tttcctccac tgctgctgct gctgttctgg ggtgtggtgt 120
ctcacagctt cccagcgact ctagaaacac aagagcaaga tgtggactta gtccagaaat 180
acctggaaaa atactacaac ctgaagaatg atgggaggca agttgaaaag cggagaaata 240
gtggcccagt ggttgaaaaa ttgaagcaaa tgcaggaatt ctttgggctg aaagtgactg 300
ggaaaccaga tgctgaaacc ctgaaggtga tgaagcagcc cagatgtgga gtgcctgatg 360
tggctcagtt tgtcctcact gaggggaacc ctcgctggga gcaaacacat ctgacctaca 420
ggattgaaaa ttacacgcca gatttgccaa gagcagatgt ggaccatgcc attgagaaag 480
ccttccaact ctggagtaat gtcacacctc tgacattcac caaggtctct gagggtcaag 540
cagacatcat gatatctttt gtcaggggag atcatcggga caactctcct tttgatggac 600
ctggaggaaa tcttgctcat gcttttcaac caggcccagg tattggaggg gatgctcatt 660
ttgatgaaga tgaaaggtgg accaacaatt tcagagagta caacttacat cgtgttgcgg 720
ctcatgaact cggccattct cttggactct cccattctac tgatatcggg gctttgatgt 780
accctagcta caccttcagt ggtgatgttc agctagctca ggatgacatt gatggcatcc 840
aagccatata tggacgttcc caaaatcctg tccagcccat cggcccacaa accccaaaag 900
cgtgtgacag taagctaacc tttgatgcta taactacgat tcggggagaa gtgatgttct 960
ttaaagacag attctacatg cgcacaaatc ccttctaccc ggaagttgag ctcaatttca 1020
tttctgtttt ctggccacaa ctgccaaatg ggcttgaagc tgcttacgaa tttgccgaca 1080
gagatgaagt ccggtttttc aaagggaata agtactgggc tgttcaggga cagaatgtgc 1140
tacacggata ccccaaggac atctacagct cctttggctt ccctagaact gtgaagcata 1200
tcgatgctgc tctttctgag gaaaacactg gaaaaaccta cttctttgtt gctaacaaat 1260
actggaggta tgatgaatat aaacgatcta tggatccagg ttatcccaaa atgatagcac 1320
atgactttcc tggaattggc cacaaagttg atgcagtttt catgaaagat ggatttttct 1380
atttctttca tggaacaaga caatacaaat ttgatcctaa aacgaagaga attttgactc 1440
tccagaaagc taatagctgg ttcaactgca ggaaaaattg aacattacta atttgaatgg 1500
aaaacacatg gtgtgagtcc aaagaaggtg ttttcctgaa gaactgtcta ttttctcagt 1560
cattttaac ctctagagtc actgatacac agaatataat cttatttata cctcagtttg 1620
catatttttt tactatttag aatgtagccc tttttgtact gatataattt agttccacaa 1680
atggtgggta caaaaagtca agtttgtggc ttatggattc atataggcca gagttgcaaa 1740
gatcttttcc agagtatgca actctgacgt tgatcccaga gagcagcttc agtgacaaac 1800
```

atatcctttc aagacagaaa gagacaggag acatgagtct ttgccggagg aaaagcagct 1860
caagaacaca tgtgcagtca ctggtgtcac cctggatagg caagggataa ctcttctaac 1920
acaaaataag tgttttatgt ttggaataaa gtcaaccttg tttctactgt ttt 1973

<210> 98
<211> 469
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-1

<400> 98

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

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

655

```
Arg Asp Glu Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln
            340                 345                 350
Gly Gln Asn Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe
        355                 360                 365
Gly Phe Pro Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu
    370                 375                 380
Asn Thr Gly Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr
385                 390                 395                 400
Asp Glu Tyr Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala
                405                 410                 415
His Asp Phe Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys
            420                 425                 430
Asp Gly Phe Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp
        435                 440                 445
Pro Lys Thr Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe
    450                 455                 460
Asn Cys Arg Lys Asn
465
```

<210> 99
<211> 370
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-1 maduro

<400> 99

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

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

656

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    210                 215                 220
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                245                 250                 255
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            260                 265                 270
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        275                 280                 285
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    290                 295                 300
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
305                 310                 315                 320
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                325                 330                 335
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            340                 345                 350
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        355                 360                 365
Lys Asn
    370
```

<210> 100
<211> 2223
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-8

<400> 100

```
gctcgccagg gaagggccct acccagagga cagaaagaaa gccaggaggg gtagagtttg 60
aagagaagat catgttctcc ctgaagacgc ttccatttct gctcttactc catgtgcaga 120
tttccaaggc ctttcctgta tcttctaaag agaaaaatac aaaaactgtt caggactacc 180
tggaaaagtt ctaccaatta ccaagcaacc agtatcagtc tacaaggaag aatggcacta 240
atgtgatcgt tgaaaagctt aaagaaatgc agcgattttt tgggttgaat gtgacgggga 300
agccaaatga ggaaactctg gacatgatga aaaagcctcg ctgtggagtg cctgacagtg 360
gtggttttat gttaacccca ggaaacccca agtgggaacg cactaacttg acctacagga 420
ttcgaaacta taccccacag ctgtcagagg ctgaggtaga aagagctatc aaggatgcct 480
ttgaactctg gagtgttgca tcacctctca tcttcaccag gatctcacag ggagaggcag 540
atatcaacat tgctttttac caaagagatc acggtgacaa ttctccattt gatggaccca 600
atggaatcct tgctcatgcc tttcagccag gccaaggtat tggaggagat gctcattttg 660
atgccgaaga aacatggacc aacacctccg caaattacaa cttgtttctt gttgctgctc 720
atgaatttgg ccattctttg gggctcgctc actcctctga ccctggtgcc ttgatgtatc 780
ccaactatgc tttcagggaa accagcaact actcactccc tcaagatgac atcgatggca 840
ttcaggccat ctatggactt tcaagcaacc ctatccaacc tactggacca agcacaccca 900
aaccctgtga ccccagtttg acatttgatg ctatcaccac actccgtgga gaaatacttt 960
tctttaaaga caggtacttc tggagaaggc atcctcagct acaaagagtc gaaatgaatt 1020
ttatttctct attctggcca tcccttccaa ctggtataca ggctgcttat gaagattttg 1080
acagagacct cattttccta tttaaaggca accaatactg ggctctgagt ggctatgata 1140
ttctgcaagg ttatcccaag gatatatcaa actatggctt ccccagcagc gtccaagcaa 1200
ttgacgcagc tgttttctac agaagtaaaa catacttctt tgtaaatgac caattctgga 1260
gatatgataa ccaaagacaa ttcatggagc caggttatcc caaaagcata tcaggtgcct 1320
ttccaggaat agagagtaaa gttgatgcag ttttccagca agaacatttc ttccatgtct 1380
tcagtggacc aagatattac gcatttgatc ttattgctca gagagttacc agagttgcaa 1440
```

657

gaggcaataa atggcttaac tgtagatatg gctgaagcaa aatcaaatgt ggctgtatcc 1500
actttcagaa tgttgaaggg aagttcagca tgcattttcg ttacattgtg tcctgcttat 1560
acttttctca atattaagtc attgtttccc atcactgtat ccattctacc tgtcctccgt 1620
gaaaatatgt ttggaatatt ccactatttg cagaggctta ttcagttctt acacattcca 1680
tcttacatta gtgattccat caaagagaag gaaagtaagc ctttttgtca cctcaatatt 1740
tactatttca atacttacat atctgacttc taggatttat tgttatatta cttgcctatc 1800
tgacttcata catccctcag tttcttaaaa tgtcctatgt atatcttcta catgcaattt 1860
agaactagat tttggttaga agtaaggatt ataaacaacc tagacagtac ccttggcctt 1920
tacagaaaat atggtgctgt tttctaccct tggaaagaaa tgtagatgat atgtttcgtg 1980
ggttgaattg tgtcccccat aaaagatatg ttgaagttct aaccccaggt acccatgaat 2040
gtgagcttac cagggtcttt gcagatgtaa ttagttaagt taaggtgaga tcacactgaa 2100
ttagggtggg ctctaaatcc attatgactg ttgttcttat aagaagaaga gagcatagcc 2160
acctagggga ggaggccgtg tgaagacaga ggcagagatt ggagtgacgc atctccaagc 2220
caa 2223

<210> 101
<211> 467
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-8

<400> 101

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

658

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

<210> 102
<211> 367
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-8 maduro

<400> 102

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

659

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

<210> 103
<211> 2722
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-13

<400> 103

```
caacagtccc caggcatcac cattcaagat gcatccaggg gtcctggctg ccttcctctt 60
cttgagctgg actcattgtc gggccctgcc ccttcccagt ggtggtgatg aagatgattt 120
gtctgaggaa gacctccagt ttgcagagcg ctacctgaga tcatactacc atcctacaaa 180
tctcgcggga atcctgaagg agaatgcagc aagctccatg actgagaggc tccgagaaat 240
gcagtctttc ttcggcttag aggtgactgg caaacttgac gataacacct tagatgtcat 300
gaaaaagcca agatgcgggg ttcctgatgt gggtgaatac aatgttttcc ctcgaactct 360
taaatggtcc aaaatgaatt taacctacag aattgtgaat tacacccctg atatgactca 420
ttctgaagtc gaaaaggcat tcaaaaaagc cttcaaagtt tggtccgatg taactcctct 480
gaatttttacc agacttcacg atggcattgc tgacatcatg atctcttttg gaattaagga 540
gcatggcgac ttctacccat ttgatgggcc ctctggcctg ctggctcatg cttttcctcc 600
tgggccaaat tatggaggag atgcccattt tgatgatgat gaaacctgga caagtagttc 660
caaaggctac aacttgtttc ttgttgctgc gcatgagttc ggccactcct taggtcttga 720
ccactccaag gaccctggag cactcatgtt tcctatctac acctacaccg gcaaaagcca 780
ctttatgctt cctgatgacg atgtacaagg gatccagtct ctctatggtc caggagatga 840
agaccccaac cctaaacatc caaaaacgcc agacaaatgt gacccttcct tatccttga 900
tgccattacc agtctccgag gagaaacaat gatctttaaa gacagattct tctggcgcct 960
gcatcctcag caggttgatg cggagctgtt tttaacgaaa tcattttggc cagaacttcc 1020
caaccgtatt gatgctgcat atgagcaccc ttctcatgac ctcatcttca tcttcagagg 1080
```

660

```
tagaaaattt tgggctctta atggttatga cattctggaa ggttatccca aaaaaatatc 1140
tgaactgggt cttccaaaag aagttaagaa gataagtgca gctgttcact ttgaggatac 1200
aggcaagact ctcctgttct caggaaacca ggtctggaga tatgatgata ctaaccatat 1260
tatggataaa gactatccga gactaataga agaagacttc ccaggaattg gtgataaagt 1320
agatgctgtc tatgagaaaa atggttatat ctatttttc aacggaccca tacagtttga 1380
atacagcatc tggagtaacc gtattgttcg cgtcatgcca gcaaattcca ttttgtggtg 1440
ttaagtgtct ttttaaaaat tgttatttaa atcctgaaga gcatttgggg taatacttcc 1500
agaagtgcgg ggtaggggaa gaagagctat caggagaaag cttggttctg tgaacaagct 1560
tcagtaagtt atctttgaat atgtagtatc tatatgacta tgcgtggctg gaaccacatt 1620
gaagaatgtt agagtaatga aatggaggat ctctaaagag catctgattc ttgttgctgt 1680
acaaaagcaa tggttgatga tacttcccac accacaaatg ggacacatgg tctgtcaatg 1740
agagcataat ttaaaaatat atttataagg aaatttaca agggcataaa gtaaatacat 1800
gcatataatg aataaatcat tcttactaaa aagtataaaa tagtatgaaa atggaaattt 1860
gggagagcca tacataaaag aaataaacca aaggaaaatg tctgtaataa tagactgtaa 1920
cttccaaata aataattttc attttgcact gaggatattc agatgtatgt gcccttcttc 1980
acacagacac taacgaaata tcaaagtcat taaagacagg agacaaaaga gcagtggtaa 2040
gaatagtaga tgtggccttt gaattctgtt taattttcac ttttggcaat gactcaaagt 2100
ctgctctcat ataagacaaa tattcctttg catattataa aggataaaga aggatgatgt 2160
ctttttatta aaatatttca ggttcttcag aagtcacaca ttacaaagtt aaaattgtta 2220
tcaaaatagt ctaaggccat ggcatccctt tttcataaat tatttgatta tttaagacta 2280
aaagttgcat tttaacccta ttttacctag ctaattattt aattgtccgg tttgtcttgg 2340
atatataggc tattttctaa agacttgtat agcatgaaat aaaatatatc ttataaagtg 2400
gaagtatgta tattaaaaaa gagacatcca aatttttttt taaagcagtc tactagattg 2460
tgatcccttg agatatggaa ggatgccttt ttttctctgc atttaaaaaa atcccccagc 2520
acttcccaca gtgcctattg atacttgggg agggtgcttg gcacttattg aatatatgat 2580
cggccatcaa gggaagaact attgtgctca gagacactgt tgataaaaac tcaggcaaag 2640
aaaatgaaat gcatatttgc aaagtgtatt aggaagtgtt tatgttgttt ataataaaaa 2700
tatattttca acagaaaaaa aa                                          2722
```

<210> 104
<211> 471
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-13

<400> 104

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

661

```
Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu Asn Phe Thr Arg Leu His Asp Gly Ile
145                 150                 155                 160
Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe Gly Ile Lys Glu His Gly Asp Phe Tyr
                165                 170                 175
Pro Phe Asp Gly Pro Ser Gly Leu Leu Ala His Ala Phe Pro Pro Gly
            180                 185                 190
Pro Asn Tyr Gly Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Asp Glu Thr Trp Thr
        195                 200                 205
Ser Ser Ser Lys Gly Tyr Asn Leu Phe Leu Val Ala Ala His Glu Phe
    210                 215                 220
Gly His Ser Leu Gly Leu Asp His Ser Lys Asp Pro Gly Ala Leu Met
225                 230                 235                 240
Phe Pro Ile Tyr Thr Tyr Thr Gly Lys Ser His Phe Met Leu Pro Asp
                245                 250                 255
Asp Asp Val Gln Gly Ile Gln Ser Leu Tyr Gly Pro Gly Asp Glu Asp
            260                 265                 270
Pro Asn Pro Lys His Pro Lys Thr Pro Asp Lys Cys Asp Pro Ser Leu
        275                 280                 285
Ser Leu Asp Ala Ile Thr Ser Leu Arg Gly Glu Thr Met Ile Phe Lys
    290                 295                 300
Asp Arg Phe Phe Trp Arg Leu His Pro Gln Gln Val Asp Ala Glu Leu
305                 310                 315                 320
Phe Leu Thr Lys Ser Phe Trp Pro Glu Leu Pro Asn Arg Ile Asp Ala
                325                 330                 335
Ala Tyr Glu His Pro Ser His Asp Leu Ile Phe Ile Phe Arg Gly Arg
            340                 345                 350
Lys Phe Trp Ala Leu Asn Gly Tyr Asp Ile Leu Glu Gly Tyr Pro Lys
        355                 360                 365
Lys Ile Ser Glu Leu Gly Leu Pro Lys Glu Val Lys Lys Ile Ser Ala
    370                 375                 380
Ala Val His Phe Glu Asp Thr Gly Lys Thr Leu Leu Phe Ser Gly Asn
385                 390                 395                 400
Gln Val Trp Arg Tyr Asp Asp Thr Asn His Ile Met Asp Lys Asp Tyr
                405                 410                 415
Pro Arg Leu Ile Glu Glu Asp Phe Pro Gly Ile Gly Asp Lys Val Asp
            420                 425                 430
Ala Val Tyr Glu Lys Asn Gly Tyr Ile Tyr Phe Phe Asn Gly Pro Ile
        435                 440                 445
Gln Phe Glu Tyr Ser Ile Trp Ser Asn Arg Ile Val Arg Val Met Pro
    450                 455                 460
Ala Asn Ser Ile Leu Trp Cys
465                 470
```

<210> 105
<211> 368
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-13 maduro

<400> 105

```
Tyr Asn Val Phe Pro Arg Thr Leu Lys Trp Ser Lys Met Asn Leu Thr
 1               5                  10                  15
Tyr Arg Ile Val Asn Tyr Thr Pro Asp Met Thr His Ser Glu Val Glu
            20                  25                  30
```

662

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

<210> 106
<211> 1609
<212> ADN
<213> Xenopus laevis

<220>
<223> MMP-18

<400> 106
accttcaaat cctagaaagc cttagaagaa tgaacagcct cctgctaaag ctgctactat 60
gtgtagccat tactgctgcc ttcccagcag ataaacaaga tgagccccca gcaacaaagg 120
aagaaatggc agagaattac ttgaagagat tttacagtct tggaactgat gggggaccag 180
ttggaagaaa gaaacacatc caacctttca ctgaaaagct cgagcagatg cagaagtttt 240

663

ttggcttaaa ggtgacagga acattggacc ccaagactgt agaagtaatg gagaaaccca 300

gatgtggagt ctatgatgtt ggccagtaca gcacagtcgc aaaaagttct gcatggcaga 360
agaaggatct gacctacaga attctaaact tcactcctga cctgcctcag gctgatgtgg 420
agactgccat acaaagagct ttcaaagtct ggagtgacgt gacacctttg acctttacca 480
gaatctacaa tgaagtatca gatatagaaa tctcctttac agctggagat cacaaagaca 540
attctccttt tgatggatct ggtggcattt tggcccatgc ctttcagccc ggcaatggca 600
ttggtggaga tgcccatttt gatgaagatg aaacctggac aaagaccagt gaaatataca 660
atctgtttct tgttgctgct catgaatttg gacactcgct ggggctttct cattccactg 720
atcagggtgc tttgatgtat ccaacatact caaataccga ccccaagaca tttcagcttc 780
ctcaagatga tatcaatgct atacagtatc tatatggaaa atcctccaat ccagtccaac 840
caaccggacc atccactcct tccagatgtg atccaaatgt tgttttcaat gctgtcacca 900
ccatgagagg agaactgatt ttctttgtga agaggttttt atggaggaag catccccaag 960
catccgaggc tgaactcatg tttgttcaag cattctggcc atcgctgccc actaatattg 1020
atgcggcgta tgaaaatcct ataacggagc agatccttgt gtttaaagga tcaaaatata 1080
cagctctgga cggcttcgat gtagtacaag gttaccccag gaacatctac agcctgggat 1140
ttccaaagac cgtgaaaaga attgatgcgg ctgttcatat tgaacaacta gggaaaacat 1200
atttctttgc agctaagaaa tactggagtt atgatgaaga taaaaaacaa atggacaaag 1260
gctttccaaa gcaaataagc aacgatttcc cgggaattcc tgataaaatt gatgcagctt 1320
tttattacag aggccgcctg tatttcttca ttggaaggag ccagtttgaa tacaatatca 1380
actctaaaag aatcgtacag gtcttaagaa gcaacagctg gttgggctgt taataagacg 1440
gaccccaagc tctgtaacaa gggcaacgat gaatgtgatg gcagctcatt tctgcacctg 1500
ccgtgtgacc aatattattt aaaatcattt cctttgaatg tttgacttta tttaatcttt 1560
atgaattaat attttgtact catgttgttt taataaaaac gttttgttt 1609

<210> 107
<211> 467
<212> PRT
<213> Xenopus laevis

<220>
<223> MMP-18

<400> 107

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

664

```
Ser Gly Gly Ile Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Asn Gly Ile Gly
            180                 185                 190
Gly Asp Ala His Phe Asp Glu Asp Glu Thr Trp Thr Lys Thr Ser Glu
        195                 200                 205
Ile Tyr Asn Leu Phe Leu Val Ala Ala His Glu Phe Gly His Ser Leu
    210                 215                 220
Gly Leu Ser His Ser Thr Asp Gln Gly Ala Leu Met Tyr Pro Thr Tyr
225                 230                 235                 240
Ser Asn Thr Asp Pro Lys Thr Phe Gln Leu Pro Gln Asp Asp Ile Asn
                245                 250                 255
Ala Ile Gln Tyr Leu Tyr Gly Lys Ser Ser Asn Pro Val Gln Pro Thr
            260                 265                 270
Gly Pro Ser Thr Pro Ser Arg Cys Asp Pro Asn Val Val Phe Asn Ala
        275                 280                 285
Val Thr Thr Met Arg Gly Glu Leu Ile Phe Phe Val Lys Arg Phe Leu
    290                 295                 300
Trp Arg Lys His Pro Gln Ala Ser Glu Ala Glu Leu Met Phe Val Gln
305                 310                 315                 320
Ala Phe Trp Pro Ser Leu Pro Thr Asn Ile Asp Ala Ala Tyr Glu Asn
                325                 330                 335
Pro Ile Thr Glu Gln Ile Leu Val Phe Lys Gly Ser Lys Tyr Thr Ala
            340                 345                 350
Leu Asp Gly Phe Asp Val Val Gln Gly Tyr Pro Arg Asn Ile Tyr Ser
        355                 360                 365
Leu Gly Phe Pro Lys Thr Val Lys Arg Ile Asp Ala Ala Val His Ile
    370                 375                 380
Glu Gln Leu Gly Lys Thr Tyr Phe Phe Ala Ala Lys Lys Tyr Trp Ser
385                 390                 395                 400
Tyr Asp Glu Asp Lys Lys Gln Met Asp Lys Gly Phe Pro Lys Gln Ile
                405                 410                 415
Ser Asn Asp Phe Pro Gly Ile Pro Asp Lys Ile Asp Ala Ala Phe Tyr
            420                 425                 430
Tyr Arg Gly Arg Leu Tyr Phe Phe Ile Gly Arg Ser Gln Phe Glu Tyr
        435                 440                 445
Asn Ile Asn Ser Lys Arg Ile Val Gln Val Leu Arg Ser Asn Ser Trp
    450                 455                 460
Leu Gly Cys
465
```

<210> 108
<211> 368
<212> PRT
<213> Xenopus laevis

<220>
<223> MMP-18 maduro

<400> 108

```
Tyr Ser Thr Val Ala Lys Ser Ser Ala Trp Gln Lys Lys Asp Leu Thr
 1               5                  10                  15
Tyr Arg Ile Leu Asn Phe Thr Pro Asp Leu Pro Gln Ala Asp Val Glu
            20                  25                  30
Thr Ala Ile Gln Arg Ala Phe Lys Val Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Arg Ile Tyr Asn Glu Val Ser Asp Ile Glu Ile Ser Phe
    50                  55                  60
```

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

<210> 109
<211> 3546
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-2

<400> 109
gcggctgccc tcccttgttt ccgctgcatc cagacttcct caggcggtgg ctggaggctg 60
cgcatctggg gctttaaaca tacaaaggga ttgccaggac ctgcggcggc ggcggcggcg 120
gcgggggctg gggcgcgggg gccggaccat gagccgctga gccgggcaaa ccccaggcca 180
ccgagccagc ggaccctcgg agcgcagccc tgcgccgcgg agcaggctcc aaccaggcgg 240
cgaggcggcc acacgcaccg agccagcgac ccccgggcga cgcgcggggc cagggagcgc 300
tacgatggag gcgctaatgg cccggggcgc gctcacgggt cccctgaggg cgctctgtct 360
cctgggctgc ctgctgagcc acgccgccgc cgcgccgtcg cccatcatca agttccccgg 420
cgatgtcgcc cccaaaacgg acaaagagtt ggcagtgcaa tacctgaaca ccttctatgg 480

ctgccccaag gagagctgca acctgtttgt gctgaaggac acactaaaga agatgcagaa 540
gttctttgga ctgccccaga caggtgatct tgaccagaat accatcgaga ccatgcggaa 600
gccacgctgc ggcaacccag atgtggccaa ctacaacttc ttccctcgca agcccaagtg 660
ggacaagaac cagatcacat acaggatcat tggctacaca cctgatctgg acccagagac 720
agtggatgat gcctttgctc gtgccttcca agtctggagc gatgtgaccc cactgcggtt 780
ttctcgaatc catgatggag aggcagacat catgatcaac tttggccgct gggagcatgg 840
cgatggatac ccctttgacg gtaaggacgg actcctggct catgccttcg ccccaggcac 900
tggtgttggg ggagactccc attttgatga cgatgagcta tggaccttgg gagaaggcca 960
agtggtccgt gtgaagtatg ggaacgccga tggggagtac tgcaagttcc ccttcttgtt 1020
caatggcaag gagtacaaca gctgcactga taccggccgc agcgatggct tcctctggtg 1080
ctccaccacc tacaactttg agaaggatgg caagtacggc ttctgtcccc atgaagccct 1140
gttcaccatg ggcggcaacg ctgaaggaca gccctgcaag tttccattcc gcttccaggg 1200
cacatcctat gacagctgca ccactgaggg ccgcacggat ggctaccgct ggtgcggcac 1260
cactgaggac tacgaccgcg acaagaagta tggcttctgc cctgagaccg ccatgtccac 1320
tgttggtggg aactcagaag gtgccccctg tgtcttcccc ttcactttcc tgggcaacaa 1380
atatgagagc tgcaccagcg ccggccgcag tgacggaaag atgtggtgtg cgaccacagc 1440
caactacgat gatgaccgca agtggggctt ctgccctgac caagggtaca gcctgttcct 1500
cgtggcagcc cacgagtttg gccacgccat ggggctggag cactcccaag accctggggc 1560
cctgatggca cccatttaca cctacaccaa gaacttccgt ctgtcccagg atgacatcaa 1620
gggcattcag gagctctatg gggcctctcc tgacattgac cttggcaccg gccccacccc 1680
cacgctgggc cctgtcactc ctgagatctg caaacaggac attgtatttg atggcatcgc 1740
tcagatccgt ggtgagatct tcttcttcaa ggaccggttc atttggcgga ctgtgacgcc 1800
acgtgacaag cccatggggc ccctgctggt ggccacattc tggcctgagc tcccggaaaa 1860
gattgatgcg gtatacgagg ccccacagga ggagaaggct gtgttctttg cagggaatga 1920
atactggatc tactcagcca gcaccctgga gcgagggtac cccaagccac tgaccagcct 1980
gggactgccc cctgatgtcc agcgagtgga tgccgccttt aactggagca aaaacaagaa 2040
gacatacatc tttgctggag acaaattctg gagatacaat gaggtgaaga agaaaatgga 2100
tcctggcttc cccaagctca tcgcagatgc ctggaatgcc atccccgata acctggatgc 2160
cgtcgtggac ctgcagggcg gcggtcacag ctacttcttc aagggtgcct attacctgaa 2220
gctggagaac caaagtctga agagcgtgaa gtttggaagc atcaaatccg actggctagg 2280
ctgctgagct ggccctggct cccacaggcc cttcctctcc actgccttcg atacaccggg 2340
cctggagaac tagagaagga cccggagggg cctggcagcc gtgccttcag ctctacagct 2400
aatcagcatt ctcactccta cctggtaatt taagattcca gagagtggct cctcccggtg 2460
cccaagaata gatgctgact gtactcctcc caggcgcccc ttccccctcc aatcccacca 2520
accctcagag ccacccctaa agagatactt tgatattttc aacgcagccc tgctttgggc 2580
tgccctggtg ctgccacact tcaggctctt ctcctttcac aaccttctgt ggctcacaga 2640
acccttggag ccaatggaga ctgtctcaag agggcactgg tggcccgaca gcctggcaca 2700
gggcagtggg acagggcatg gccaggtggc cactccagac ccctggcttt tcactgctgg 2760
ctgccttaga acctttctta cattagcagt ttgctttgta tgcactttgt ttttttcttt 2820
gggtcttgtt ttttttttcc acttagaaat tgcatttcct gacagaagga ctcaggttgt 2880
ctgaagtcac tgcacagtgc atctcagccc acatagtgat ggttcccctg ttcactctac 2940
ttagcatgtc cctaccgagt ctcttctcca ctggatggag gaaaaccaag ccgtggcttc 3000
ccgctcagcc ctccctgccc ctcccttcaa ccattcccca tgggaaatgt caacaagtat 3060
gaataaagac acctactgag tggccgtgtt tgccatctgt tttagcagag cctagacaag 3120
ggccacagac ccagccagaa gcggaaactt aaaaagtccg aatctctgct ccctgcaggg 3180
cacaggtgat ggtgtctgct ggaaaggtca gagcttccaa agtaaacagc aagagaacct 3240
cagggagagt aagctctagt ccctctgtcc tgtagaaaga gccctgaaga atcagcaatt 3300
ttgttgcttt attgtggcat ctgttcgagg tttgcttcct ctttaagtct gtttcttcat 3360
tagcaatcat atcagtttta atgctactac taacaatgaa cagtaacaat aatatccccc 3420
tcaattaata gagtgctttc tatgtgcaag gcacttttca cgtgtcacct attttaacct 3480
ttccaaccac ataaataaaa aaggccatta ttagttgaat cttattgatg aagagaaaaa 3540
aaaaaa 3546

<210> 110
<211> 660
<212> PRT
<213> Homo sapiens

667

<220>
<223> precursor MMP-2

<400> 110

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

668

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

<210> 111
<211> 551
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-2 maduro

```
<400> 111
Tyr Asn Phe Phe Pro Arg Lys Pro Lys Trp Asp Lys Asn Gln Ile Thr
 1               5                  10                  15
Tyr Arg Ile Ile Gly Tyr Thr Pro Asp Leu Asp Pro Glu Thr Val Asp
            20                  25                  30
Asp Ala Phe Ala Arg Ala Phe Gln Val Trp Ser Asp Val Thr Pro Leu
        35                  40                  45

Arg Phe Ser Arg Ile His Asp Gly Glu Ala Asp Ile Met Ile Asn Phe
    50                  55                  60
Gly Arg Trp Glu His Gly Asp Gly Tyr Pro Phe Asp Gly Lys Asp Gly
65                  70                  75                  80
Leu Leu Ala His Ala Phe Ala Pro Gly Thr Gly Val Gly Gly Asp Ser
                85                  90                  95
```

669

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

620

Lys Ser Asp Trp Leu Gly Cys
545 550

<210> 112
<211> 2387
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-9

<400> 112
agacacctct gccctcacca tgagcctctg gcagcccctg gtcctggtgc tcctggtgct 60
gggctgctgc tttgctgccc ccagacagcg ccagtccacc cttgtgctct tccctggaga 120
cctgagaacc aatctcaccg acaggcagct ggcagaggaa tacctgtacc gctatggtta 180
cactcgggtg gcagagatgc gtggagagtc gaaatctctg gggcctgcgc tgctgcttct 240
ccagaagcaa ctgtccctgc ccgagaccgg tgagctggat agcgccacgc tgaaggccat 300
gcgaacccca cggtgcgggg tcccagacct gggcagattc caaacctttg agggcgacct 360
caagtggcac caccacaaca tcacctattg gatccaaaac tactcggaag acttgccgcg 420
ggcggtgatt gacgacgcct ttgcccgcgc cttcgcactg tggagcgcgg tgacgccgct 480
caccttcact cgcgtgtaca gccgggacgc agacatcgtc atccagtttg gtgtcgcgga 540
gcacggagac gggtatccct tcgacgggaa ggacgggctc ctggcacacg cctttcctcc 600
tggccccggc attcagggag acgcccattt cgacgatgac gagttgtggt ccctgggcaa 660
gggcgtcgtg gttccaactc ggtttggaaa cgcagatggc gcggcctgcc acttcccctt 720
catcttcgag ggccgctcct actctgcctg caccaccgac ggtcgctccg acggcttgcc 780
ctggtgcagt accacggcca actacgacac cgacgaccgg tttggcttct gccccagcga 840
gagactctac acccaggacg gcaatgctga tgggaaaccc tgccagtttc cattcatctt 900
ccaaggccaa tcctactccg cctgcaccac ggacggtcgc tccgacggct accgctggtg 960
cgccaccacc gccaactacg accgggacaa gctcttcggc ttctgcccga cccgagctga 1020
ctcgacggtg atgggggggca actcggcggg ggagctgtgc gtcttccccc tcactttcct 1080
gggtaaggag tactcgacct gtaccagcga gggccgcgga gatgggcgcc tctggtgcgc 1140
taccacctcg aactttgaca gcgacaagaa gtggggcttc tgcccggacc aaggatacag 1200
tttgttcctc gtggcggcgc atgagttcgg ccacgcgctg ggcttagatc attcctcagt 1260
gccggaggcg ctcatgtacc ctatgtaccg cttcactgag gggccccccc tgcataagga 1320
cgacgtgaat ggcatccggc acctctatgg tcctcgcccc gaacctgagc cacggcctcc 1380
aaccaccacc acaccgcagc ccacggctcc cccgacggtc tgccccaccg gacccccccac 1440
tgtccacccc tcagagcgcc ccacagctgg ccccacaggt ccccccctcag ctggccccac 1500
aggtcccccc actgctggcc cttctacggc cactactgtg cctttgagtc cggtggacga 1560
tgcctgcaac gtgaacatct tcgacgccat cgcggagatt gggaaccagc tgtatttgtt 1620
caaggatggg aagtactggc gattctctga gggcaggggg agccggccgc agggcccctt 1680
ccttatcgcc gacaagtggc ccgcgctgcc ccgcaagctg gactcggtct ttgaggagcg 1740
gctctccaag aagcttttct tcttctctgg gcgccaggtg tgggtgtaca caggcgcgtc 1800
ggtgctgggc ccgaggcgtc tggacaagct gggcctggga gccgacgtgg cccaggtgac 1860
cggggccctc cggagtggca gggggaagat gctgctgttc agcgggcggc gcctctggag 1920
gttcgacgtg aaggcgcaga tggtggatcc ccggagcgcc agcgaggtgg accggatgtt 1980
ccccggggtg cctttggaca cgcacgacgt cttccagtac cgagagaaag cctatttctg 2040
ccaggaccgc ttctactggc gcgtgagttc ccggagtgag ttgaaccagg tggaccaagt 2100
gggctacgtg acctatgaca tcctgcagtg ccctgaggac tagggctccc gtcctgcttt 2160
ggcagtgcca tgtaaatccc cactgggacc aaccctgggg aaggagccag tttgccggat 2220
acaaactggt attctgttct ggaggaaagg gaggagtgga ggtgggctgg gccctctctt 2280
ctcacctttg ttttttgttg gagtgtttct aataaacttg gattctctaa cctttaaaaa 2340
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 2387

<210> 113
<211> 707
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-9

<400> 113

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

Trp Gly Phe Cys Pro Asp Gln Gly Tyr Ser Leu Phe Leu Val Ala Ala
385                 390                 395                 400
```

672

```
His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Asp His Ser Ser Val Pro Glu
                405                 410                 415
Ala Leu Met Tyr Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His
            420                 425                 430
Lys Asp Asp Val Asn Gly Ile Arg His Leu Tyr Gly Pro Arg Pro Glu
        435                 440                 445
Pro Glu Pro Arg Pro Pro Thr Thr Thr Thr Pro Gln Pro Thr Ala Pro
    450                 455                 460
Pro Thr Val Cys Pro Thr Gly Pro Pro Thr Val His Pro Ser Glu Arg
465                 470                 475                 480
Pro Thr Ala Gly Pro Thr Gly Pro Pro Ser Ala Gly Pro Thr Gly Pro
                485                 490                 495
Pro Thr Ala Gly Pro Ser Thr Ala Thr Thr Val Pro Leu Ser Pro Val
            500                 505                 510
Asp Asp Ala Cys Asn Val Asn Ile Phe Asp Ala Ile Ala Glu Ile Gly
        515                 520                 525
Asn Gln Leu Tyr Leu Phe Lys Asp Gly Lys Tyr Trp Arg Phe Ser Glu
    530                 535                 540
Gly Arg Gly Ser Arg Pro Gln Gly Pro Phe Leu Ile Ala Asp Lys Trp
545                 550                 555                 560
Pro Ala Leu Pro Arg Lys Leu Asp Ser Val Phe Glu Glu Arg Leu Ser
                565                 570                 575
Lys Lys Leu Phe Phe Phe Ser Gly Arg Gln Val Trp Val Tyr Thr Gly
            580                 585                 590
Ala Ser Val Leu Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly Leu Gly Ala
        595                 600                 605
Asp Val Ala Gln Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg Gly Lys Met
    610                 615                 620
Leu Leu Phe Ser Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val Lys Ala Gln
625                 630                 635                 640
Met Val Asp Pro Arg Ser Ala Ser Glu Val Asp Arg Met Phe Pro Gly
                645                 650                 655
Val Pro Leu Asp Thr His Asp Val Phe Gln Tyr Arg Glu Lys Ala Tyr
            660                 665                 670
Phe Cys Gln Asp Arg Phe Tyr Trp Arg Val Ser Ser Arg Ser Glu Leu
        675                 680                 685
Asn Gln Val Asp Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile Leu Gln Cys
    690                 695                 700
Pro Glu Asp
705
```

<210> 114
<211> 614
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-9 maduro

<400> 114

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

673

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

624

Tyr Thr Gly Ala Ser Val Leu Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly
500 505 510
Leu Gly Ala Asp Val Ala Gln Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg
515 520 525
Gly Lys Met Leu Leu Phe Ser Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val
530 535 540
Lys Ala Gln Met Val Asp Pro Arg Ser Ala Ser Glu Val Asp Arg Met
545 550 555 560
Phe Pro Gly Val Pro Leu Asp Thr His Asp Val Phe Gln Tyr Arg Glu
565 570 575
Lys Ala Tyr Phe Cys Gln Asp Arg Phe Tyr Trp Arg Val Ser Ser Arg
580 585 590
Ser Glu Leu Asn Gln Val Asp Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile
595 600 605
Leu Gln Cys Pro Glu Asp
610

<210> 115
<211> 1828
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-3

<400> 115
ctacaaggag gcaggcaaga cagcaaggca tagagacaac atagagctaa gtaaagccag 60
tggaaatgaa gagtcttcca atcctactgt tgctgtgcgt ggcagtttgc tcagcctatc 120
cattggatgg agctgcaagg ggtgaggaca ccagcatgaa ccttgttcag aaatatctag 180
aaaactacta cgacctcaaa aaagatgtga aacagtttgt taggagaaag gacagtggtc 240
ctgttgttaa aaaaatccga gaaatgcaga agttccttgg attggaggtg acggggaagc 300
tggactccga cactctggag gtgatgcgca agcccaggtg tggagttcct gatgttggtc 360
acttcagaac ctttcctggc atcccgaagt ggaggaaaac ccaccttaca tacaggattg 420
tgaattatac accagatttg ccaaaagatg ctgttgattc tgctgttgag aaagctctga 480
aagtctggga agaggtgact ccactcacat tctccaggct gtatgaagga gaggctgata 540
taatgatctc ttttgcagtt agagaacatg gagactttta ccctttgat ggacctggaa 600
atgttttggc ccatgcctat gcccctgggc cagggattaa tggagatgcc cactttgatg 660
atgatgaaca atggacaaag gatacaacag ggaccaattt atttctcgtt gctgctcatg 720
aaattggcca ctccctgggt ctctttcact cagccaacac tgaagctttg atgtacccac 780
tctatcactc actcacagac ctgactcggt tccgcctgtc tcaagatgat ataaatggca 840
ttcagtccct ctatggacct ccccctgact cccctgagac ccccctggta cccacggaac 900
ctgtccctcc agaacctggg acgccagcca actgtgatcc tgctttgtcc tttgatgctg 960
tcagcactct gaggggagaa atcctgatct ttaaagacag gcacttttgg cgcaaatccc 1020
tcaggaagct tgaacctgaa ttgcatttga tctcttcatt ttggccatct cttccttcag 1080
gcgtggatgc cgcatatgaa gttactagca aggacctcgt tttcattttt aaaggaaatc 1140
aattctgggc tatcagagga aatgaggtac gagctggata cccaagaggc atccacaccc 1200
taggtttccc tccaaccgtg aggaaaatcg atgcagccat ttctgataag gaaaagaaca 1260
aaacatattt ctttgtagag gacaaatact ggagatttga tgagaagaga aattccatgg 1320
agccaggctt tcccaagcaa atagctgaag actttccagg gattgactca aagattgatg 1380
ctgtttttga agaatttggg ttcttttatt tctttactgg atcttcacag ttggagtttg 1440
acccaaatgc aaagaaagtg acacacactt tgaagagtaa cagctggctt aattgttgaa 1500
agagatatgt agaaggcaca atatgggcac tttaaatgaa gctaataatt cttcacctaa 1560
gtctctgtga attgaaatgt tcgttttctc ctgcctgtgc tgtgactcga gtcacactca 1620
agggaacttg agcgtgaatc tgtatcttgc cggtcatttt tatgttatta cagggcattc 1680
aaatgggctg ctgcttagct tgcaccttgt cacatagagt gatctttccc aagagaaggg 1740
gaagcactcg tgtgcaacag acaagtgact gtatctgtgt agactatttg cttatttaat 1800

aaagacgatt tgtcagttat tttatctt 1828

<210> 116
<211> 477
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-3

<400> 116

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

```
Arg Ala Gly Tyr Pro Arg Gly Ile His Thr Leu Gly Phe Pro Pro Thr
    370                 375                 380
Val Arg Lys Ile Asp Ala Ala Ile Ser Asp Lys Glu Lys Asn Lys Thr
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Phe Val Glu Asp Lys Tyr Trp Arg Phe Asp Glu Lys Arg Asn
                405                 410                 415
Ser Met Glu Pro Gly Phe Pro Lys Gln Ile Ala Glu Asp Phe Pro Gly
            420                 425                 430
Ile Asp Ser Lys Ile Asp Ala Val Phe Glu Glu Phe Gly Phe Phe Tyr
        435                 440                 445
Phe Phe Thr Gly Ser Ser Gln Leu Glu Phe Asp Pro Asn Ala Lys Lys
    450                 455                 460
Val Thr His Thr Leu Lys Ser Asn Ser Trp Leu Asn Cys
465                 470                 475
```

<210> 117
<211> 378
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-3 maduro

<400> 117

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

627

```
Val Asp Ala Ala Tyr Glu Val Thr Ser Lys Asp Leu Val Phe Ile Phe
                245                 250                 255
Lys Gly Asn Gln Phe Trp Ala Ile Arg Gly Asn Glu Val Arg Ala Gly
            260                 265                 270
Tyr Pro Arg Gly Ile His Thr Leu Gly Phe Pro Pro Thr Val Arg Lys
        275                 280                 285
Ile Asp Ala Ala Ile Ser Asp Lys Glu Lys Asn Lys Thr Tyr Phe Phe
    290                 295                 300
Val Glu Asp Lys Tyr Trp Arg Phe Asp Glu Lys Arg Asn Ser Met Glu
305                 310                 315                 320
Pro Gly Phe Pro Lys Gln Ile Ala Glu Asp Phe Pro Gly Ile Asp Ser
                325                 330                 335
Lys Ile Asp Ala Val Phe Glu Glu Phe Gly Phe Phe Tyr Phe Phe Thr
            340                 345                 350
Gly Ser Ser Gln Leu Glu Phe Asp Pro Asn Ala Lys Lys Val Thr His
        355                 360                 365
Thr Leu Lys Ser Asn Ser Trp Leu Asn Cys
    370                 375
```

<210> 118
<211> 1743
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-10

<400> 118

```
aaagaaggta agggcagtga gaatgatgca tcttgcattc cttgtgctgt tgtgtctgcc 60
agtctgctct gcctatcctc tgagtggggc agcaaaagag gaggactcca acaaggatct 120
tgcccagcaa tacctagaaa agtactacaa cctcgaaaag gatgtgaaac agtttagaag 180
aaaggacagt aatctcattg ttaaaaaaat ccaaggaatg cagaagttcc ttgggttgga 240
ggtgacaggg aagctagaca ctgacactct ggaggtgatg cgcaagccca ggtgtggagt 300
tcctgacgtt ggtcacttca gctcctttcc tggcatgccg aagtggagga aaacccacct 360
tacatacagg attgtgaatt atacaccaga tttgccaaga gatgctgttg attctgccat 420
tgagaaagct ctgaaagtct gggaagaggt gactccactc acattctcca ggctgtatga 480
aggagaggct gatataatga tctctttcgc agttaaagaa catggagact tttactcttt 540
tgatggccca ggacacagtt tggctcatgc ctacccacct ggacctgggc tttatggaga 600
tattcacttt gatgatgatg aaaaatggac agaagatgca tcaggcacca atttattcct 660
cgttgctgct catgaacttg gccactccct ggggctcttt cactcagcca acactgaagc 720
tttgatgtac ccactctaca actcattcac agagctcgcc cagttccgcc tttcgcaaga 780
tgatgtgaat ggcattcagt ctctctacgg acctcccccc gcctctactg aggaacccct 840
ggtgcccaca aaatctgttc cttcgggatc tgagatgcca gccaagtgtg atcctgcttt 900
gtccttcgat gccatcagca ctctgagggg agaatatctg ttctttaaag acagatattt 960
ttggcgaaga tcccactgga accctgaacc tgaatttcat ttgatttctg cattttggcc 1020
ctctcttcca tcatatttgg atgctgcata tgaagttaac agcagggaca ccgtttttat 1080
ttttaaagga aatgagttct gggccatcag aggaaatgag gtacaagcag gttatccaag 1140
aggcatccat accctgggtt ttcctccaac cataaggaaa attgatgcag ctgtttctga 1200
caaggaaaag aagaaaacat acttctttgc agcggacaaa tactggagat ttgatgaaaa 1260
tagccagtcc atggagcaag gcttccctag actaatagct gatgactttc caggagttga 1320
gcctaaggtt gatgctgtat tacaggcatt tggatttttc tacttcttca gtggatcatc 1380
acagtttgag tttgacccca atgccaggat ggtgacacac atattaaaga gtaacagctg 1440
gttacattgc taggcgagat agggggaaga cagatatggg tgtttttaat aaatctaata 1500
attattcatc taatgtatta tgagccaaaa tggttaattt ttcctgcatg ttctgtgact 1560
gaagaagatg agccttgcag atatctgcat gtgtcatgaa gaatgtttct ggaattcttc 1620
acttgctttt gaattgcact gaacagaatt aagaaatact catgtgcaat aggtgagaga 1680
```

atgtattttc atagatgtgt tattacttcc tcaataaaaa gttttatttt gggcctgttc 1740
ctt 1743

<210> 119
<211> 476
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-10

<400> 119

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

```
Ile Phe Lys Gly Asn Glu Phe Trp Ala Ile Arg Gly Asn Glu Val Gln
        355                 360                 365
Ala Gly Tyr Pro Arg Gly Ile His Thr Leu Gly Phe Pro Pro Thr Ile
    370                 375                 380
Arg Lys Ile Asp Ala Ala Val Ser Asp Lys Glu Lys Lys Lys Thr Tyr
385                 390                 395                 400

Phe Phe Ala Ala Asp Lys Tyr Trp Arg Phe Asp Glu Asn Ser Gln Ser
                405                 410                 415
Met Glu Gln Gly Phe Pro Arg Leu Ile Ala Asp Asp Phe Pro Gly Val
            420                 425                 430
Glu Pro Lys Val Asp Ala Val Leu Gln Ala Phe Gly Phe Phe Tyr Phe
        435                 440                 445
Phe Ser Gly Ser Ser Gln Phe Glu Phe Asp Pro Asn Ala Arg Met Val
    450                 455                 460
Thr His Ile Leu Lys Ser Asn Ser Trp Leu His Cys
465                 470                 475


<210> 120
<211> 378
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-10 maduro

<400> 120
Phe Ser Ser Phe Pro Gly Met Pro Lys Trp Arg Lys Thr His Leu Thr
 1                  5                  10                  15
Tyr Arg Ile Val Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Asp Ala Val Asp
            20                  25                  30
Ser Ala Ile Glu Lys Ala Leu Lys Val Trp Glu Glu Val Thr Pro Leu
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Arg Leu Tyr Glu Gly Glu Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    50                  55                  60
Ala Val Lys Glu His Gly Asp Phe Tyr Ser Phe Asp Gly Pro Gly His
65                  70                  75                  80
Ser Leu Ala His Ala Tyr Pro Pro Gly Pro Gly Leu Tyr Gly Asp Ile
                85                  90                  95
His Phe Asp Asp Asp Glu Lys Trp Thr Glu Asp Ala Ser Gly Thr Asn
            100                 105                 110
Leu Phe Leu Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Phe
        115                 120                 125
His Ser Ala Asn Thr Glu Ala Leu Met Tyr Pro Leu Tyr Asn Ser Phe
    130                 135                 140
Thr Glu Leu Ala Gln Phe Arg Leu Ser Gln Asp Asp Val Asn Gly Ile
145                 150                 155                 160
Gln Ser Leu Tyr Gly Pro Pro Pro Ala Ser Thr Glu Glu Pro Leu Val
                165                 170                 175
Pro Thr Lys Ser Val Pro Ser Gly Ser Glu Met Pro Ala Lys Cys Asp
            180                 185                 190
Pro Ala Leu Ser Phe Asp Ala Ile Ser Thr Leu Arg Gly Glu Tyr Leu
        195                 200                 205
Phe Phe Lys Asp Arg Tyr Phe Trp Arg Arg Ser His Trp Asn Pro Glu
    210                 215                 220
```

```
Pro Glu Phe His Leu Ile Ser Ala Phe Trp Pro Ser Leu Pro Ser Tyr
225                 230                 235                 240
Leu Asp Ala Ala Tyr Glu Val Asn Ser Arg Asp Thr Val Phe Ile Phe
                245                 250                 255
Lys Gly Asn Glu Phe Trp Ala Ile Arg Gly Asn Glu Val Gln Ala Gly
            260                 265                 270
Tyr Pro Arg Gly Ile His Thr Leu Gly Phe Pro Pro Thr Ile Arg Lys
        275                 280                 285
Ile Asp Ala Ala Val Ser Asp Lys Glu Lys Lys Lys Thr Tyr Phe Phe
    290                 295                 300
Ala Ala Asp Lys Tyr Trp Arg Phe Asp Glu Asn Ser Gln Ser Met Glu
305                 310                 315                 320
Gln Gly Phe Pro Arg Leu Ile Ala Asp Asp Phe Pro Gly Val Glu Pro
                325                 330                 335
Lys Val Asp Ala Val Leu Gln Ala Phe Gly Phe Phe Tyr Phe Phe Ser
            340                 345                 350
Gly Ser Ser Gln Phe Glu Phe Asp Pro Asn Ala Arg Met Val Thr His
        355                 360                 365
Ile Leu Lys Ser Asn Ser Trp Leu His Cys
    370                 375
```

<210> 121
<211> 2247
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-11

<400> 121

```
ccggggcgga tggctccggc cgcctggctc cgcagcgcgg ccgcgcgcgc cctcctgccc 60
ccgatgctgc tgctgctgct ccagccgccg ccgctgctgg cccgggctct gccgccggac 120
gtccaccacc tccatgccga gaggaggggg ccacagccct ggcatgcagc cctgcccagt 180
agcccggcac ctgcccctgc cacgcaggaa gccccccggc ctgccagcag cctcaggcct 240
ccccgctgtg gcgtgcccga cccatctgat gggctgagtg cccgcaaccg acagaagagg 300
ttcgtgcttt ctggcgggcg ctgggagaag acggacctca cctacaggat ccttcggttc 360
ccatggcagt tggtgcagga gcaggtgcgg cagacgatgg cagaggccct aaaggtatgg 420
agcgatgtga cgccactcac ctttactgag gtgcacgagg gccgtgctga catcatgatc 480
gacttcgcca ggtactggca tggggacgac ctgccgtttg atgggcctgg gggcatcctg 540
gcccatgcct tcttccccaa gactcaccga gaaggggatg tccacttcga ctatgatgag 600
acctggacta tcggggatga ccagggcaca gacctgctgc aggtggcagc ccatgaattt 660
ggccacgtgc tggggctgca gcacacaaca gcagccaagg ccctgatgtc cgccttctac 720
acctttcgct acccactgag tctcagccca gatgactgca ggggcgttca acacctatat 780
ggccagccct ggcccactgt cacctccagg accccagccc tgggccccca ggctgggata 840
gacaccaatg agattgcacc gctggagcca gacgccccgc cagatgcctg tgaggcctcc 900
tttgacgcgg tctccaccat ccgaggcgag ctctttttct tcaaagcggg ctttgtgtgg 960
cgcctccgtg ggggccagct gcagcccggc tacccagcat tggcctctcg ccactggcag 1020
ggactgccca gccctgtgga cgctgccttc gaggatgccc agggccacat ttggttcttc 1080
caaggtgctc agtactgggt gtacgacggt gaaaagccag tcctgggccc cgcacccctc 1140
accgagctgg gcctggtgag gttcccggtc catgctgcct tggtctgggg tcccgagaag 1200
aacaagatct acttcttccg aggcagggac tactggcgtt tccaccccag cacccggcgt 1260
gtagacagtc ccgtgccccg cagggccact gactggagag gggtgccctc tgagatcgac 1320
gctgccttcc aggatgctga tggctatgcc tacttcctgc gcggccgcct ctactggaag 1380
tttgaccctg tgaaggtgaa ggctctggaa ggcttccccc gtctcgtggg tcctgacttc 1440
tttggctgtg ccgagcctgc caacactttc ctctgaccat ggcttggatg ccctcagggg 1500
tgctgacccc tgccaggcca cgaatatcag gctagagacc catggccatc tttgtggctg 1560
```

681

tgggcaccag gcatgggact gagcccatgt ctcctgcagg gggatggggt ggggtacaac 1620
caccatgaca actgccggga gggccacgca ggtcgtggtc acctgccagc gactgtctca 1680
gactgggcag ggaggctttg gcatgactta agaggaaggg cagtcttggg acccgctatg 1740
caggtcctgg caaacctggc tgccctgtct catccctgtc cctcagggta gcaccatggc 1800
aggactgggg gaactggagt gtccttgctg tatccctgtt gtgaggttcc ttccaggggc 1860
tggcactgaa gcaagggtgc tggggcccca tggccttcag ccctggctga gcaactgggc 1920
tgtagggcag ggccacttcc tgaggtcagg tcttggtagg tgcctgcatc tgtctgcctt 1980
ctggctgaca atcctggaaa tctgttctcc agaatccagg ccaaaaagtt cacagtcaaa 2040
tggggagggg tattcttcat gcaggagacc ccaggccctg gaggctgcaa catacctcaa 2100
tcctgtccca ggccggatcc tcctgaagcc cttttcgcag cactgctatc ctccaaagcc 2160
attgtaaatg tgtgtacagt gtgtataaac cttcttcttc ttttttttt ttaaactgag 2220
gattgtcatt aaacacagtt gttttct 2247

<210> 122
<211> 488
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-11

<400> 122

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

```
Pro Gln Ala Gly Ile Asp Thr Asn Glu Ile Ala Pro Leu Glu Pro Asp
        275                 280                 285
Ala Pro Pro Asp Ala Cys Glu Ala Ser Phe Asp Ala Val Ser Thr Ile
    290                 295                 300
Arg Gly Glu Leu Phe Phe Phe Lys Ala Gly Phe Val Trp Arg Leu Arg
305                 310                 315                 320
Gly Gly Gln Leu Gln Pro Gly Tyr Pro Ala Leu Ala Ser Arg His Trp
                325                 330                 335
Gln Gly Leu Pro Ser Pro Val Asp Ala Ala Phe Glu Asp Ala Gln Gly
            340                 345                 350
His Ile Trp Phe Phe Gln Gly Ala Gln Tyr Trp Val Tyr Asp Gly Glu
        355                 360                 365
Lys Pro Val Leu Gly Pro Ala Pro Leu Thr Glu Leu Gly Leu Val Arg
    370                 375                 380

Phe Pro Val His Ala Ala Leu Val Trp Gly Pro Glu Lys Asn Lys Ile
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Phe Arg Gly Arg Asp Tyr Trp Arg Phe His Pro Ser Thr Arg
                405                 410                 415
Arg Val Asp Ser Pro Val Pro Arg Arg Ala Thr Asp Trp Arg Gly Val
            420                 425                 430
Pro Ser Glu Ile Asp Ala Ala Phe Gln Asp Ala Asp Gly Tyr Ala Tyr
        435                 440                 445
Phe Leu Arg Gly Arg Leu Tyr Trp Lys Phe Asp Pro Val Lys Val Lys
    450                 455                 460
Ala Leu Glu Gly Phe Pro Arg Leu Val Gly Pro Asp Phe Phe Gly Cys
465                 470                 475                 480
Ala Glu Pro Ala Asn Thr Phe Leu
                485
```

<210> 123
<211> 391
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-11 maduro

<400> 123

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

687

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

<210> 124
<211> 1147
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-7

<400> 124

```
accaaatcaa ccataggtcc aagaacaatt gtctctggac ggcagctatg cgactcaccg 60
tgctgtgtgc tgtgtgcctg ctgcctggca gcctggccct gccgctgcct caggaggcgg 120
gaggcatgag tgagctacag tgggaacagg ctcaggacta tctcaagaga ttttatctct 180
atgactcaga aacaaaaaat gccaacagtt tagaagccaa actcaaggag atgcaaaaat 240
tctttggcct acctataact ggaatgttaa actcccgcgt catagaaata atgcagaagc 300
ccagatgtgg agtgccagat gttgcagaat actcactatt tccaaatagc ccaaaatgga 360
cttccaaagt ggtcacctac aggatcgtat catatactcg agacttaccg catattacag 420
tggatcgatt agtgtcaaag gctttaaaca tgtggggcaa agagatcccc ctgcatttca 480
ggaaagttgt atggggaact gctgacatca tgattggctt tgcgcgagga gctcatgggg 540
actcctaccc atttgatggg ccaggaaaca cgctggctca tgcctttgcg cctgggacag 600
gtctcggagg agatgctcac ttcgatgagg atgaacgctg gacggatggt agcagtctag 660
ggattaactt cctgtatgct gcaactcatg aacttggcca ttctttgggt atgggacatt 720
```

684

cctctgatcc taatgcagtg atgtatccaa cctatggaaa tggagatccc caaaatttta 780
aactttccca ggatgatatt aaaggcattc agaaactata tggaaagaga agtaattcaa 840
gaaagaaata gaaacttcag gcagaacatc cattcattca ttcattggat tgtatatcat 900
tgttgcacaa tcagaattga taagcactgt tcctccactc catttagcaa ttatgtcacc 960
ctttttttatt gcagttggtt tttgaatgtc tttcactcct tttaaggata aactccttta 1020
tggtgtgact gtgtcttatt catctatact tgcagtgggt agatgtcaat aaatgttaca 1080
tacacaaata aataaaatgt ttattccatg gtaaatttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140
aaaaaaa 1147

<210> 125
<211> 267
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-7

<400> 125

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

<210> 126
<211> 173

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-7 maduro

<400> 126
Tyr Ser Leu Phe Pro Asn Ser Pro Lys Trp Thr Ser Lys Val Val Thr
 1   5   10   15
Tyr Arg Ile Val Ser Tyr Thr Arg Asp Leu Pro His Ile Thr Val Asp
            20   25   30
Arg Leu Val Ser Lys Ala Leu Asn Met Trp Gly Lys Glu Ile Pro Leu
        35   40   45
His Phe Arg Lys Val Val Trp Gly Thr Ala Asp Ile Met Ile Gly Phe
    50   55   60

Ala Arg Gly Ala His Gly Asp Ser Tyr Pro Phe Asp Gly Pro Gly Asn
65   70   75   80
Thr Leu Ala His Ala Phe Ala Pro Gly Thr Gly Leu Gly Gly Asp Ala
                85   90   95
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asp Gly Ser Ser Leu Gly Ile
            100   105   110
Asn Phe Leu Tyr Ala Ala Thr His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Met
        115   120   125
Gly His Ser Ser Asp Pro Asn Ala Val Met Tyr Pro Thr Tyr Gly Asn
    130   135   140
Gly Asp Pro Gln Asn Phe Lys Leu Ser Gln Asp Asp Ile Lys Gly Ile
145   150   155   160
Gln Lys Leu Tyr Gly Lys Arg Ser Asn Ser Arg Lys Lys
                165   170

<210> 127
<211> 998
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-26

<400> 127
gacaaatgag ggtttggcat gcagctcgtc atcttaagag ttactatctt cttgccctgg 60
tgtttcgccg ttccagtgcc ccctgctgca gaccataaag gatgggactt tgttgagggc 120
tatttccatc aatttttcct gaccaagaag gagtcgccac tccttaccca ggagacacaa 180
acacagctcc tgcaacaatt ccatcggaat gggacagacc tacttgacat gcagatgcat 240
gctctgctac accagcccca ctgtggggtg cctgatgggt ccgacacctc catctcgcca 300
ggaagatgca agtggaataa gcacactcta acttacagga ttatcaatta cccacatgat 360
atgaagccat ccgcagtgaa agacagtata tataatgcag tttccatctg gagcaatgtg 420
acccctttga tattccagca agtgcagaat ggagatgcag acatcaaggt ttctttctgg 480
cagtgggccc atgaagatgg ttggcccttt gatgggccag gtggtatctt aggccatgcc 540
tttttaccaa attctggaaa tcctggagtt gtccattttg acaagaatga acactggtca 600
gcttcagaca ctggatataa tctgttcctg gttgcaactc atgagattgg gcattctttg 660
ggcctgcagc actctgggaa tcagagctcc ataatgtacc ccacttactg gtatcacgac 720
cctagaacct tccagctcag tgccgatgat atccaaagga tccagcattt gtatggagaa 780
aaatgttcat ctgacatacc ttaatgttag cacagaggac ttattcaacc tgtcctttca 840
gggagtttat tggaggatca aagaactgaa agcactagag cagccttggg gactgctagg 900
atgaagccct aaagaatgca acctagtcag gttagctgaa ccgacactca aaacgctact 960

gagtcacaat aaagattgtt ttaaagagta aaaaaaaa 998

<210> 128
<211> 261
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-26

<400> 128
Met Gln Leu Val Ile Leu Arg Val Thr Ile Phe Leu Pro Trp Cys Phe
 1   5   10   15
Ala Val Pro Val Pro Pro Ala Ala Asp His Lys Gly Trp Asp Phe Val
            20   25   30

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

<210> 129
<211> 172
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-26 maduro

<400> 129

687

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

<210> 130
<211> 1825
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-12

<400> 130

```
agaaaggaac acagtaaact gaattgatcc gtttagaagt ttacaatgaa gtttcttcta 60
atactgctcc tgcaggccac tgcttctgga gctcttcccc tgaacagctc tacaagcctg 120
gaaaaaaata atgtgctatt tggtgaaaga tacttagaaa aattttatgg ccttgagata 180
aacaaacttc cagtgacaaa aatgaaatat agtggaaact taatgaagga aaaaatccaa 240
gaaatgcagc acttcttggg tctgaaagtg accgggcaac tggacacatc taccctggag 300
atgatgcacg cacctcgatg tggagtcccc gatgtccatc atttcaggga aatgccaggg 360
gggcccgtat ggaggaaaca ttatatcacc tacagaatca ataattacac acctgacatg 420
aaccgtgagg atgttgacta cgcaatccgg aaagctttcc aagtatggag taatgttacc 480
cccttgaaat tcagcaagat taacacaggc atggctgaca ttttggtggt ttttgcccgt 540
ggagctcatg gagacttcca tgcttttgat ggcaaaggtg gaatcctagc ccatgctttt 600
ggacctggat ctggcattgg aggggatgca catttcgatg aggacgaatt ctggactaca 660
cattcaggag gcaccaactt gttcctcact gctgttcacg agattggcca ttccttaggt 720
cttggccatt ctagtgatcc aaaggccgta atgttcccca cctacaaata tgttgacatc 780
aacacatttc gcctctctgc tgatgacata cgtggcattc agtccctgta tggagaccca 840
aaagagaacc aacgcttgcc aaatcctgac aattcagaac cagctctctg tgaccccaat 900
ttgagttttg atgctgtcac taccgtggga aataagatct ttttcttcaa agacaggttc 960
ttctggctga aggtttctga gagaccaaag accagtgtta atttaatttc ttccttatgg 1020
ccaaccttgc catctggcat tgaagctgct tatgaaattg aagccagaaa tcaagttttt 1080
ctttttaaag atgacaaata ctggttaatt agcaatttaa gaccagagcc aaattatccc 1140
aagagcatac attcttttgg ttttcctaac tttgtgaaaa aaattgatgc agctgttttt 1200
aacccacgtt tttataggac ctacttcttt gtagataacc agtattggag gtatgatgaa 1260
aggagacaga tgatggaccc tggttatccc aaactgatta ccaagaactt ccaaggaatc 1320
gggcctaaaa ttgatgcagt cttctactct aaaaacaaat actactattt cttccaagga 1380
tctaaccaat ttgaatatga cttcctactc caacgtatca ccaaaacact gaaaagcaat 1440
```

agctggtttg gttgttagaa atggtgtaat taatggtttt tgttagttca cttcagctta 1500
ataagtattt attgcatatt tgctatgtcc tcagtgtacc actacttaga gatatgtatc 1560
ataaaaataa aatctgtaaa ccataggtaa tgattatata aaatacataa tatttttcaa 1620
ttttgaaaac tctaattgtc cattcttgct tgactctact attaagtttg aaaatagtta 1680
ccttcaaagg ccaagagaat tctatttgaa gcatgctctg taagttgctt cctaacatcc 1740
ttggactgag aaattatact tacttctggc ataactaaaa ttaagtatat atattttggc 1800
tcaaataaaa ttgaaaaaaa aatca 1825

<210> 131
<211> 470
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-12

<400> 131

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

Ile Ser Ser Leu Trp Pro Thr Leu Pro Ser Gly Ile Glu Ala Ala Tyr
325 330 335
Glu Ile Glu Ala Arg Asn Gln Val Phe Leu Phe Lys Asp Asp Lys Tyr
340 345 350
Trp Leu Ile Ser Asn Leu Arg Pro Glu Pro Asn Tyr Pro Lys Ser Ile
355 360 365
His Ser Phe Gly Phe Pro Asn Phe Val Lys Lys Ile Asp Ala Ala Val
370 375 380
Phe Asn Pro Arg Phe Tyr Arg Thr Tyr Phe Phe Val Asp Asn Gln Tyr
385 390 395 400
Trp Arg Tyr Asp Glu Arg Arg Gln Met Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys
405 410 415
Leu Ile Thr Lys Asn Phe Gln Gly Ile Gly Pro Lys Ile Asp Ala Val
420 425 430
Phe Tyr Ser Lys Asn Lys Tyr Tyr Tyr Phe Phe Gln Gly Ser Asn Gln
435 440 445
Phe Glu Tyr Asp Phe Leu Leu Gln Arg Ile Thr Lys Thr Leu Lys Ser
450 455 460
Asn Ser Trp Phe Gly Cys
465 470

<210> 132
<211> 365
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-12 maduro

<400> 132
Gly Pro Val Trp Arg Lys His Tyr Ile Thr Tyr Arg Ile Asn Asn Tyr
1 5 10 15
Thr Pro Asp Met Asn Arg Glu Asp Val Asp Tyr Ala Ile Arg Lys Ala

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

690

```
Ile Phe Phe Phe Lys Asp Arg Phe Phe Trp Leu Lys Val Ser Glu Arg
        195                 200                 205
Pro Lys Thr Ser Val Asn Leu Ile Ser Ser Leu Trp Pro Thr Leu Pro
    210                 215                 220
Ser Gly Ile Glu Ala Ala Tyr Glu Ile Glu Ala Arg Asn Gln Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Lys Asp Asp Lys Tyr Trp Leu Ile Ser Asn Leu Arg Pro Glu
                245                 250                 255
Pro Asn Tyr Pro Lys Ser Ile His Ser Phe Gly Phe Pro Asn Phe Val
            260                 265                 270
Lys Lys Ile Asp Ala Ala Val Phe Asn Pro Arg Phe Tyr Arg Thr Tyr
        275                 280                 285
Phe Phe Val Asp Asn Gln Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Arg Arg Gln Met
    290                 295                 300
Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Leu Ile Thr Lys Asn Phe Gln Gly Ile
305                 310                 315                 320

Gly Pro Lys Ile Asp Ala Val Phe Tyr Ser Lys Asn Lys Tyr Tyr Tyr
                325                 330                 335
Phe Phe Gln Gly Ser Asn Gln Phe Glu Tyr Asp Phe Leu Leu Gln Arg
            340                 345                 350
Ile Thr Lys Thr Leu Lys Ser Asn Ser Trp Phe Gly Cys
        355                 360                 365
```

<210> 133
<211> 3558
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-14

<400> 133

```
cagaccccag ttcgccgact aagcagaaga aagatcaaaa accggaaaag aggagaagag 60
caaacaggca ctttgaggaa caatcccctt taactccaag ccgacagcgg tctaggaatt 120
caagttcagt gcctaccgaa gacaaaggcg ccccgaggga gtggcggtgc gaccccaggg 180
cgtgggcccg gccgcggagc ccacactgcc cggctgaccc ggtggtctcg gaccatgtct 240
cccgccccaa gacccccccg ttgtctcctg ctccccctgc tcacgctcgg caccgcgctc 300
gcctccctcg gctcggccca aagcagcagc ttcagccccg aagcctggct acagcaatat 360
ggctacctgc ctcccgggga cctacgtacc cacacacagc gctcacccca gtcactctca 420
gcggccatcg ctgccatgca gaagttttac ggcttgcaag taacaggcaa agctgatgca 480
gacaccatga aggccatgag gcgcccccga tgtggtgttc cagacaagtt tggggctgag 540
atcaaggcca atgttcgaag gaagcgctac gccatccagg gtctcaaatg gcaacataat 600
gaaatcactt tctgcatcca gaattacacc cccaaggtgg gcgagtatgc cacatacgag 660
gccattcgca aggcgttccg cgtgtgggag agtgccacac cactgcgctt ccgcgaggtg 720
ccctatgcct acatccgtga gggccatgag aagcaggccg acatcatgat cttctttgcc 780
gagggcttcc atggcgacag cacgcccttc gatggtgagg gcggcttcct ggcccatgcc 840
tacttcccag gccccaacat tggaggagac acccactttg actctgccga gccttggact 900
gtcaggaatg aggatctgaa tggaaatgac atcttcctgg tggctgtgca cgagctgggc 960
catgccctgg ggctcgagca ttccagtgac ccctcggcca tcatggcacc cttttaccag 1020
tggatggaca cggagaattt tgtgctgccc gatgatgacc gccggggcat ccagcaactt 1080
tatgggggtg agtcagggtt ccccaccaag atgccccctc aacccaggac tacctcccgg 1140
ccttctgttc ctgataaacc caaaaacccc acctatgggc ccaacatctg tgacgggaac 1200
tttgacaccg tggccatgct ccgaggggag atgtttgtct tcaaggagcg ctggttctgg 1260
cgggtgagga ataaccaagt gatggatgga tacccaatgc ccattggcca gttctggcgg 1320
ggcctgcctg cgtccatcaa cactgcctac gagaggaagg atggcaaatt cgtcttcttc 1380
```

```
aaaggagaca agcattgggt gtttgatgag gcgtccctgg aacctggcta ccccaagcac 1440
attaaggagc tgggccgagg gctgcctacc gacaagattg atgctgctct cttctggatg 1500
cccaatggaa agacctactt cttccgtgga aacaagtact accgtttcaa cgaagagctc 1560
agggcagtgg atagcgagta ccccaagaac atcaaagtct gggaagggat ccctgagtct 1620
cccagagggt cattcatggg cagcgatgaa gtcttcactt acttctacaa ggggaacaaa 1680
tactggaaat tcaacaacca gaagctgaag gtagaaccgg gctaccccaa gtcagccctg 1740
agggactgga tgggctgccc atcgggaggc cggccggatg aggggactga ggaggagacg 1800
gaggtgatca tcattgaggt ggacgaggag ggcggcgggg cggtgagcgc ggctgccgtg 1860
gtgctgcccg tgctgctgct gctcctggtg ctggcggtgg gccttgcagt cttcttcttc 1920
agacgccatg ggacccccag gcgactgctc tactgccagc gttccctgct ggacaaggtc 1980
tgacgcccac cgccggcccg cccactccta ccacaaggac tttgcctctg aaggccagtg 2040
gcagcaggtg gtggtgggtg ggctgctccc atcgtcccga gccccctccc cgcagcctcc 2100
ttgcttctct ctgtcccctg gctggcctcc ttcaccctga ccgcctccct ccctcctgcc 2160
ccggcattgc atcttcccta gataggtccc ctgagggctg agtgggaggg cggccctttc 2220
cagcctctgc ccctcagggg aaccctgtag ctttgtgtct gtccagcccc atctgaatgt 2280
gttgggggct ctgcacttga aggcaggacc ctcagacctc gctggtaaag gtcaaatggg 2340
gtcatctgct ccttttccat cccctgacat accttaacct ctgaactctg acctcaggag 2400
gctctgggca ctccagccct gaaagcccca ggtgtaccca attggcagcc tctcactact 2460
ctttctggct aaaaggaatc taatcttgtt gagggtagag accctgagac agtgtgaggg 2520
ggtggggact gccaagccac cctaagacct tgggaggaaa actcagagag ggtcttcgtt 2580
gctcagtcag tcaagttcct cggagatctg cctctgcctc acctacccca gggaacttcc 2640
aaggaaggag cctgagccac tggggactaa gtgggcagaa gaaacccttg gcagccctgt 2700
gcctctcgaa tgttagcctt ggatggggct ttcacagtta gaagagctga aaccaggggt 2760
gcagctgtca ggtagggtgg ggccggtggg agaggcccgg gtcagagccc tgggggtgag 2820
cctgaaggcc acagagaaag aaccttgccc aaactcaggc agctggggct gaggcccaaa 2880
ggcagaacag ccagaggggg caggagggga ccaaaaagga aaatgaggac gtgcagcagc 2940
attggaaggc tggggccggg caggccaggc caagccaagc aggggccac agggtgggct 3000
gtggagctct caggaagggc cctgaggaag gcacacttgc tcctgttggt ccctgtcctt 3060
gctgcccagg cagcgtggag gggaagggta gggcagccag agaaaggagc agagaaggca 3120
cacaaacgag gaatgagggg cttcacgaga ggccacaggg cctggctggc cacgctgtcc 3180
cggcctgctc accatctcag tgaggggcag gagctggggc tcgcttaggc tgggtccacg 3240
cttccctggt gccagcaccc ctcaagcctg tctcaccagt ggcctgccct ctcgctcccc 3300
cacccagccc acccattgaa gtctccttgg gccaccaaag gtggtggcca tggtaccggg 3360
gacttgggag agtgagaccc agtggaggga gcaagaggag agggatgtcg gggggtggg 3420
gcacggggta ggggaaatgg ggtgaacggt gctggcagtt cggctagatt tctgtcttgt 3480
ttgttttttt gttttgttta atgtatattt ttattataat tattatatat gaattccaaa 3540
aaaaaaaaaa aaaaaaaa                                              3558
```

<210> 134
<211> 582
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-14

<400> 134

```
Met Ser Pro Ala Pro Arg Pro Pro Arg Cys Leu Leu Leu Pro Leu Leu
 1               5                  10                  15

Thr Leu Gly Thr Ala Leu Ala Ser Leu Gly Ser Ala Gln Ser Ser Ser
            20                  25                  30
Phe Ser Pro Glu Ala Trp Leu Gln Gln Tyr Gly Tyr Leu Pro Pro Gly
        35                  40                  45
Asp Leu Arg Thr His Thr Gln Arg Ser Pro Gln Ser Leu Ser Ala Ala
    50                  55                  60
```

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

693

```
Arg Pro Asp Glu Gly Thr Glu Glu Glu Thr Glu Val Ile Ile Ile Glu
        515                 520                 525
Val Asp Glu Glu Gly Gly Gly Ala Val Ser Ala Ala Ala Val Val Leu
    530                 535                 540
Pro Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Leu Ala Val Gly Leu Ala Val Phe
545                 550                 555                 560
Phe Phe Arg Arg His Gly Thr Pro Arg Arg Leu Leu Tyr Cys Gln Arg
                565                 570                 575
Ser Leu Leu Asp Lys Val
            580
```

<210> 135
<211> 471
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-14 maduro

<400> 135

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

```
Pro Lys His Ile Lys Glu Leu Gly Arg Gly Leu Pro Thr Asp Lys Ile
    290                 295                 300
Asp Ala Ala Leu Phe Trp Met Pro Asn Gly Lys Thr Tyr Phe Phe Arg
305                 310                 315                 320
Gly Asn Lys Tyr Tyr Arg Phe Asn Glu Glu Leu Arg Ala Val Asp Ser
                325                 330                 335
Glu Tyr Pro Lys Asn Ile Lys Val Trp Glu Gly Ile Pro Glu Ser Pro
            340                 345                 350
Arg Gly Ser Phe Met Gly Ser Asp Glu Val Phe Thr Tyr Phe Tyr Lys
        355                 360                 365
Gly Asn Lys Tyr Trp Lys Phe Asn Asn Gln Lys Leu Lys Val Glu Pro
    370                 375                 380
Gly Tyr Pro Lys Ser Ala Leu Arg Asp Trp Met Gly Cys Pro Ser Gly
385                 390                 395                 400
Gly Arg Pro Asp Glu Gly Thr Glu Glu Glu Thr Glu Val Ile Ile Ile
                405                 410                 415
Glu Val Asp Glu Glu Gly Gly Gly Ala Val Ser Ala Ala Ala Val Val
            420                 425                 430

Leu Pro Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Leu Ala Val Gly Leu Ala Val
        435                 440                 445
Phe Phe Phe Arg Arg His Gly Thr Pro Arg Arg Leu Leu Tyr Cys Gln
    450                 455                 460
Arg Ser Leu Leu Asp Lys Val
465                 470
```

<210> 136
<211> 4456
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-15

<400> 136

```
acgactcttt gatccctccc ctaagacctc cttcccgtcc gcctaggcct cggtatcccc 60
caccaggtat gagaaggagg agtcttcatt cttcccaggc ggggagacca cgccttccct 120
gcctcctccc tccgcggggg gtcgcgttgg aggtcacccc cgccccctag gcgctgggtt 180
gggagtgacg cggggtgggc tggagaggtt tcctgccgtc tgggaagcgt aaacggaccg 240
cccacctgtc gggcctcggc cgcccgcacc tgcttgtgag aagcctgcgg ctggggcacc 300
gcccccggtc cccgcccggg tccgcgcatt gggagcacac tggcccttta agagcgcggc 360
ggccgcggcg cgcggggagg agggctggga gcgcccggag ccgcgctgaa ctcgccgggg 420
acgtcgggcg cccgctcctt ggctggctcg cttgctctct cgctcgctct ctcgggtcgg 480
ctccctgcgc ctcctcccgg gactgcttgg ggacccgggc ccggtcgggc gcggcggcga 540
gcagaatccc cgtgcaggag gcgcgcgctc cgggcagcgc ccggccccgg gcatggacag 600
agggagctgg gcgcgcaggg agcgccgcgg gaccgggcgg ccggagcgct gagccagaca 660
aaggctccgg agttgcgctt gctctcggga gccgggcccc aggcgctggg cgccgaggct 720
gcggaacctc gccgggggca gctccggtcg gccccctttc ccgccggctg gttccgagct 780
cccggacctg ccctgcccgc ttctcctcgg gcttgggaat ttgccgaggc gacctaggcg 840
gctccggcgg ggaccgggag cccgaggtcc gcggcgcgcc tgccgggcca ggagccaggg 900
agcgtcgcaa gtttccaagg cgcgtgcgag gatccggcgt gcagtgttcc gagctgggct 960
gggcgccgag agcatgggca gcgacccgag cgcgcccgga cggccgggct ggacgggcag 1020
cctcctcggc gaccgggagg aggcggcgcg gccgcgactg ctgccgctgc tcctggtgct 1080
tctgggctgc ctgggccttg gcgtagcggc cgaagacgcg gaggtccatg ccgagaactg 1140
gctgcggctt tatggctacc tgcctcagcc cagccgccat atgtccacca tgcgttccgc 1200
ccagatcttg gcctcggccc ttgcagagat gcagcgcttc tacgggatcc cagtcaccgg 1260
```

695

tgtgctcgac gaagagacca aggagtggat gaagcggccc cgctgtgggg tgccagacca 1320
gttcggggta cgagtgaaag ccaacctgcg gcggcgtcgg aagcgctacg ccctcaccgg 1380
gaggaagtgg aacaaccacc atctgacctt tagcatccag aactacacgg agaagttggg 1440
ctggtaccac tcgatggagg cggtgcgcag ggccttccgc gtgtgggagc aggccacgcc 1500
cctggtcttc caggaggtgc cctatgagga catccggctg cggcgacaga aggaggccga 1560
catcatggta ctctttgcct ctggcttcca cggcgacagc tcgccgtttg atggcaccgg 1620
tggctttctg gcccacgcct atttccctgg ccccggccta ggcggggaca cccattttga 1680
cgcagatgag ccctggacct tctccagcac tgacctgcat ggaaacaacc tcttcctggt 1740
ggcagtgcat gagctgggcc acgcgctggg gctggagcac tccagcaacc ccaatgccat 1800
catggcgccg ttctaccagt ggaaggacgt tgacaacttc aagctgcccg aggacgatct 1860
ccgtggcatc cagcagctct acggtacccc agacggtcag ccacagccta cccagcctct 1920
ccccactgtg acgccacggc ggccaggccg gcctgaccac cggccgcccc ggcctcccca 1980
gccaccaccc ccaggtggga agccagagcg gcccccaaag ccgggccccc cagtccagcc 2040
ccgagccaca gagcggcccg accagtatgg ccccaacatc tgcgacgggg actttgacac 2100
agtggccatg cttcgcgggg agatgttcgt gttcaagggc cgctggttct ggcgagtccg 2160
gcacaaccgc gtcctggaca actatcccat gcccatcggg cacttctggc gtggtctgcc 2220
cggtgacatc agtgctgcct acgagcgcca agacggtcgt tttgtctttt tcaaaggtga 2280
ccgctactgg ctctttcgag aagcgaacct ggagcccggc tacccacagc cgctgaccag 2340
ctatggcctg ggcatccccc atgaccgcat tgacacggcc atctggtggg agcccacagg 2400
ccacaccttc ttcttccaag aggacaggta ctggcgcttc aacgaggaga cacagcgtgg 2460
agaccctggg taccccaagc ccatcagtgt ctggcagggg atccctgcct cccctaaagg 2520
ggccttcctg agcaatgacg cagcctacac ctacttctac aagggcacca aatactggaa 2580
attcgacaat gagcgcctgc ggatggagcc cggctacccc aagtccatcc tgcgggactt 2640
catgggctgc caggagcacg tggagccagg cccccgatgg cccgacgtgg cccggccgcc 2700
cttcaacccc cacgggggtg cagagcccgg ggcggacagc gcagagggcg acgtgggggа 2760
tggggatggg gactttgggg ccggggtcaa caaggacggg ggcagccgcg tggtggtgca 2820
gatggaggag gtggcacgga cggtgaacgt ggtgatggtg ctggtgccac tgctgctgct 2880
gctctgcgtc ctgggcctca cctacgcgct ggtgcagatg cagcgcaagg gtgcgccacg 2940
tgtcctgctt tactgcaagc gctcgctgca ggagtgggtc tgaccaccca gcgctcctgc 3000
taacggtgct caggggcgc ctgtggttct gagatggctc ccaggggctc cctccgcccc 3060
caggtagggg cccctctcag ccctcacaca ccctgtctgc cccgccctca ttatttatgt 3120
ccaggtgttt gttttgtttt gtttttggca ccttacttga ccatttgttt ctgtttcccc 3180
gactggggca gggtgtttag aattttctaa atgtagttct gctccagaca gggaattagg 3240
cccccatcat cctctggctt ggccacagcc aggggagcag aggggcagag gcccacattg 3300
gaagagcagc acctcctcag cctgaacccc agggctgtaa ctgccaggct ctctttgccc 3360
agttggagac tgtctggccc ccctggtccc ctccttccca agtgagtctc tctgggcctt 3420
aggaagagcc ttccacccag gggcagcccc aggccaaagg ggacctggaa gggaggtggg 3480
ccgtggccct tgagtcccca ttgaggcttg gttccttccc aatccagtgg acttcgcagt 3540
ccacttctga cagcctcagt gaccctggct ccttgtgcca gagaacccag cccacccccg 3600
gcagcagccc ccagctccca cctccccttg ggcccacacc tccttccctc tctggagaaa 3660
gggccctggg cctgcctcac cacggaccaa agggagtctg ccagggcccc tctccccagg 3720
gaagcagcag cctcgccccт ggcagagatg cctccctgag ctagaaccct ctgttccttc 3780
cctgtgcctc ctccctccct ctccgactca caccactagc ctcaggggtc tgagctccag 3840
ctcctttggg cttcagctgc cagtgtcctg agccccaggg agaggggggt ggtgggtgcc 3900
taggcctggg cagtggatgg ccgtgaatgg gtgcccacag tgtcaggcac tgggcatgag 3960
gggttcctcc cctccagctc cctgtgcccc cagggtcctg ggaggagaga cactggtggg 4020
gataggccag ccgcgcatca gactgtgaac cccacgaagg agcccattgt ggcctaagag 4080
gctgccctcc tgtgctcagc cctgaggaca gatgcctcct tcctcttttc cttcccaaag 4140
caagcaagag gccgtggctg ctgtgggaaa tggtactgta cagctggctc tacttcccca 4200
tggccctgag cgagtggagt ctgccaccca ggatccccaa ggcacttgag ggggaaggat 4260
tctgctggcc tctgcgagtg gtttcttgtg cactggcacc aagtgcgggt ccggcagctt 4320
ctgccccctg cagaaccgga gagccagcta aggggtgggg ctgcgggggt tccgtgtcca 4380
cccccataca tttatttctg taaataatgt gcactgaata aattgtacag ccggcaaaaa 4440
aaaaaaaaaa aaaaaa 4456

<210> 137
<211> 669

696

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-15

<400> 137

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

Leu Asp Asn Tyr Pro Met Pro Ile Gly His Phe Trp Arg Gly Leu Pro
405 410 415
Gly Asp Ile Ser Ala Ala Tyr Glu Arg Gln Asp Gly Arg Phe Val Phe
420 425 430
Phe Lys Gly Asp Arg Tyr Trp Leu Phe Arg Glu Ala Asn Leu Glu Pro
435 440 445
Gly Tyr Pro Gln Pro Leu Thr Ser Tyr Gly Leu Gly Ile Pro Tyr Asp
450 455 460
Arg Ile Asp Thr Ala Ile Trp Trp Glu Pro Thr Gly His Thr Phe Phe
465 470 475 480
Phe Gln Glu Asp Arg Tyr Trp Arg Phe Asn Glu Glu Thr Gln Arg Gly
485 490 495
Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Pro Ile Ser Val Trp Gln Gly Ile Pro Ala
500 505 510
Ser Pro Lys Gly Ala Phe Leu Ser Asn Asp Ala Ala Tyr Thr Tyr Phe
515 520 525
Tyr Lys Gly Thr Lys Tyr Trp Lys Phe Asp Asn Glu Arg Leu Arg Met
530 535 540

Glu Pro Gly Tyr Pro Lys Ser Ile Leu Arg Asp Phe Met Gly Cys Gln
545 550 555 560
Glu His Val Glu Pro Gly Pro Arg Trp Pro Asp Val Ala Arg Pro Pro
565 570 575
Phe Asn Pro His Gly Gly Ala Glu Pro Gly Ala Asp Ser Ala Glu Gly
580 585 590
Asp Val Gly Asp Gly Asp Gly Asp Phe Gly Ala Gly Val Asn Lys Asp
595 600 605
Gly Gly Ser Arg Val Val Val Gln Met Glu Glu Val Ala Arg Thr Val
610 615 620
Asn Val Val Met Val Leu Val Pro Leu Leu Leu Leu Leu Cys Val Leu
625 630 635 640
Gly Leu Thr Tyr Ala Leu Val Gln Met Gln Arg Lys Gly Ala Pro Arg
645 650 655
Val Leu Leu Tyr Cys Lys Arg Ser Leu Gln Glu Trp Val
660 665

<210> 138
<211> 529
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-15 maduro

<400> 138
Tyr Ala Leu Thr Gly Arg Lys Trp Asn Asn His His Leu Thr Phe Ser
1 5 10 15
Ile Gln Asn Tyr Thr Glu Lys Leu Gly Trp Tyr His Ser Met Glu Ala
20 25 30
Val Arg Arg Ala Phe Arg Val Trp Glu Gln Ala Thr Pro Leu Val Phe
35 40 45
Gln Glu Val Pro Tyr Glu Asp Ile Arg Leu Arg Arg Gln Lys Glu Ala
50 55 60
Asp Ile Met Val Leu Phe Ala Ser Gly Phe His Gly Asp Ser Ser Pro
65 70 75 80

```
Phe Asp Gly Thr Gly Gly Phe Leu Ala His Ala Tyr Phe Pro Gly Pro
                85                  90                  95
Gly Leu Gly Gly Asp Thr His Phe Asp Ala Asp Glu Pro Trp Thr Phe
            100                 105                 110
Ser Ser Thr Asp Leu His Gly Asn Asn Leu Phe Leu Val Ala Val His
        115                 120                 125
Glu Leu Gly His Ala Leu Gly Leu Glu His Ser Ser Asn Pro Asn Ala
    130                 135                 140
Ile Met Ala Pro Phe Tyr Gln Trp Lys Asp Val Asp Asn Phe Lys Leu
145                 150                 155                 160
Pro Glu Asp Asp Leu Arg Gly Ile Gln Gln Leu Tyr Gly Thr Pro Asp
                165                 170                 175
Gly Gln Pro Gln Pro Thr Gln Pro Leu Pro Thr Val Thr Pro Arg Arg
            180                 185                 190
Pro Gly Arg Pro Asp His Arg Pro Pro Arg Pro Pro Gln Pro Pro Pro
        195                 200                 205
Pro Gly Gly Lys Pro Glu Arg Pro Pro Lys Pro Gly Pro Pro Val Gln
    210                 215                 220

Pro Arg Ala Thr Glu Arg Pro Asp Gln Tyr Gly Pro Asn Ile Cys Asp
225                 230                 235                 240
Gly Asp Phe Asp Thr Val Ala Met Leu Arg Gly Glu Met Phe Val Phe
                245                 250                 255
Lys Gly Arg Trp Phe Trp Arg Val Arg His Asn Arg Val Leu Asp Asn
            260                 265                 270
Tyr Pro Met Pro Ile Gly His Phe Trp Arg Gly Leu Pro Gly Asp Ile
        275                 280                 285
Ser Ala Ala Tyr Glu Arg Gln Asp Gly Arg Phe Val Phe Phe Lys Gly
    290                 295                 300
Asp Arg Tyr Trp Leu Phe Arg Glu Ala Asn Leu Glu Pro Gly Tyr Pro
305                 310                 315                 320
Gln Pro Leu Thr Ser Tyr Gly Leu Gly Ile Pro Tyr Asp Arg Ile Asp
                325                 330                 335
Thr Ala Ile Trp Trp Glu Pro Thr Gly His Thr Phe Phe Phe Gln Glu
            340                 345                 350
Asp Arg Tyr Trp Arg Phe Asn Glu Glu Thr Gln Arg Gly Asp Pro Gly
        355                 360                 365
Tyr Pro Lys Pro Ile Ser Val Trp Gln Gly Ile Pro Ala Ser Pro Lys
    370                 375                 380
Gly Ala Phe Leu Ser Asn Asp Ala Ala Tyr Thr Tyr Phe Tyr Lys Gly
385                 390                 395                 400
Thr Lys Tyr Trp Lys Phe Asp Asn Glu Arg Leu Arg Met Glu Pro Gly
                405                 410                 415
Tyr Pro Lys Ser Ile Leu Arg Asp Phe Met Gly Cys Gln Glu His Val
            420                 425                 430
Glu Pro Gly Pro Arg Trp Pro Asp Val Ala Arg Pro Pro Phe Asn Pro
        435                 440                 445
His Gly Gly Ala Glu Pro Gly Ala Asp Ser Ala Glu Gly Asp Val Gly
    450                 455                 460
Asp Gly Asp Gly Asp Phe Gly Ala Gly Val Asn Lys Asp Gly Gly Ser
465                 470                 475                 480
Arg Val Val Val Gln Met Glu Glu Val Ala Arg Thr Val Asn Val Val
                485                 490                 495
Met Val Leu Val Pro Leu Leu Leu Leu Leu Cys Val Leu Gly Leu Thr
            500                 505                 510
Tyr Ala Leu Val Gln Met Gln Arg Lys Gly Ala Pro Arg Val Leu Leu
        515                 520                 525
```

699

Tyr

<210> 139
<211> 6347
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-16

<400> 139
tctttgagcc ggaaccgccg gtgaacttag gcgccacgtt cccggtgact gaccccggag 60
gatggtgaac aggaactact gctgaccctg tcttcgccgc tgcctctcgg gggctgccga 120
gcgcggggcc cctgtctcct ccccttgccc ggctgtgggt gaacctgcag gctccttacc 180
cacccggagg actttttttt gaaaggaaac gagggaggga gggagaggga gagagggaga 240
aaacgaaggg gagctcgtcc atccattgaa gcacagttca ctatgatctt actcacattc 300
agcactggaa gacggttgga tttcgtgcat cattcggggg tgtttttctt gcaaaccttg 360
ctttggattt tatgtgctac agtctgcgga acggagcagt atttcaatgt ggaggtttgg 420
ttacaaaagt acggctacct tccaccgact gaccccagaa tgtcagtgct gcgctctgca 480
gagaccatgc agtctgccct agctgccatg cagcagttct atggcattaa catgacagga 540
aaagtggaca gaaacacaat tgactggatg aagaagcccc gatgcggtgt acctgaccag 600
acaagaggta gctccaaatt tcatattcgt cgaaagcgat atgcattgac aggacagaaa 660
tggcagcaca agcacatcac ttacagtata aagaacgtaa ctccaaaagt aggagaccct 720
gagactcgta aagctattcg ccgtgccttt gatgtgtggc agaatgtaac tcctctgaca 780
tttgaagaag ttccctacag tgaattagaa aatggcaaac gtgatgtgga tataaccatt 840
atttttgcat ctggtttcca tggggacagc tctccctttg atggagaggg aggatttttg 900
gcacatgcct acttccctgg accaggaatt ggaggagata cccattttga ctcagatgag 960
ccatggacac taggaaatcc taatcatgat ggaaatgact tatttcttgt agcagtccat 1020
gaactgggac atgctctggg attggagcat tccaatgacc ccactgccat catggctcca 1080
ttttaccagt acatggaaac agacaacttc aaactaccta atgatgattt acagggcatc 1140
cagaagatat atggtccacc tgacaagatt cctccaccta caagacctct accgacagtg 1200
cccccacacc gctctattcc tccggctgac ccaaggaaaa atgacaggcc aaaacctcct 1260
cggcctccaa ccggcagacc ctcctatccc ggagccaaac ccaacatctg tgatgggaac 1320
tttaacactc tagctattct tcgtcgtgag atgtttgttt tcaaggacca gtggttttgg 1380
cgagtgagaa acaacagggt gatggatgga tacccaatgc aaattactta cttctggcgg 1440
ggcttgcctc ctagtatcga tgcagtttat gaaaatagcg acgggaattt tgtgttcttt 1500
aaaggtaaca aatattgggt gttcaaggat acaactcttc aacctggtta ccctcatgac 1560
ttgataaccc ttggaagtgg aattcccccc catggtattg attcagccat ttggtgggag 1620
gacgtcggga aaacctattt cttcaaggga gacagatatt ggagatatag tgaagaaatg 1680
aaaacaatgg accctggcta tcccaagcca atcacagtct ggaaagggat ccctgaatct 1740
cctcagggag catttgtaca caaagaaaat ggctttacgt atttctacaa aggaaaggag 1800
tattggaaat tcaacaacca gatactcaag gtagaacctg gatatccaag atccatcctc 1860
aaggatttta tgggctgtga tggaccaaca gacagagtta aagaaggaca cagcccacca 1920
gatgatgtag acattgtcat caaactggac aacacagcca gcactgtgaa agccatagct 1980
attgtcattc cctgcatctt ggccttatgc ctccttgtat tggtttacac tgtgttccag 2040
ttcaagagga aaggaacacc ccgccacata ctgtactgta aacgctctat gcaagagtgg 2100
gtgtgatgta gggtttttc ttctttcttt cttttgcagg agtttgtggt aacttgagat 2160
tcaagacaag agctgttatg ctgtttccta gctaggagca ggcttgtggc agcctgattc 2220
ggggctgacc tttcaaaccc agagggttgc tggtcctgca catgagtgga aatacactca 2280
tggggaagct tccatgatgc acagtatctg ctgttcttca gtcctttgtc tttctttgtc 2340
attcagttct aggcctttcc tctgcacgct caatgcccag taaaatttca ggattaacta 2400
aagaagagga gaaaaagaag aaaagattct tcttaaaagt ttctaatgtt attttccttc 2460
tgaagtctga gcccatttct ggggggagaa aaaaaaagca aatcagaaaa cccacggttt 2520
ttctttttt ctttttttct ttttttcttt ttttgcttta aaacaaaggg aaaaaagagt 2580
ttaaacaaaa aacccacaat tgaacttcca ggaaagtgtg aagacccaaa acagctttgt 2640

ctccaaagaa gatagctctc tgactgcttt ggatagtctc ctacgcacca ttttgtcagg 2700
tgggagattt ggaatacaca tgcaggacgt tagactgttg ggacagccat tttccaacaa 2760
ccaaggggcc aaaatatctg caatatagta acagccttaa taatacatcc atttttcgtt 2820
ttatacagct gttctcagct atgtcctcag tgtttcatcg catttatatt catagctatt 2880
ttcaaacacg acctttttaat tgtttttgaa gtatttctaa acccccttctt tccaccttac 2940
tcctccatca ttgtgataat cttcccaagt tgtattaggc cattgcccca ggccttccat 3000
gggtctgtca ggaatattcg ttacaaagca gagcaagaag cagtatgtct ctgaagtgga 3060
ttacagtggc agttatttta caaggatttg tgacactagt aacatacccg tgtaaccctt 3120
tgagaactat cagaccagct ttcagagtct taggattgtc ggtcttgcga tctgataaat 3180
tatagaactg ggcaatggta aaaacagtca caagttcaag aagttcaggt ttttaaaaca 3240
gatatcctat aatgtcatat aatttttaaa tgatttacaa gactacataa atgtgtttat 3300
aacaaacaga aatgatgtta cttgccaaaa tttttctggc aaataaaaaa ggtattttat 3360
taagattctc ataaatctga aattttattt gaaaaactga taatagccta agtcttcttt 3420
tctttttttt aggcatactg aatttctgtt ttaaaatcca ttgcatgaaa attcaatttg 3480
ccttggtata tgcagttagc attgccattt taaaaatgaa ttaaaacggt gactctgaag 3540
ttgcatgaat atcctccagt gcattaccta ttgcatgtcc accatagttc tcaaagggtt 3600
agtgtggctt ctggcattta gccgtccatt tgatcactga cagagccaag agaccaccaa 3660
agcatttcat tgttgagtgt aatttgtcct aacagcagta ttgtcatttt catgtgacct 3720
gcagagcagg tttgtatcaa tatttttttc ctagagaaaa gtcagcaact gacagacctc 3780
tttattgatt tttaggagct gcttcttgca gtgaaaggct ttacagccac tgggctgtga 3840
acttattaga gatggtcaga atgaatgcac cccatgagtc agacattggc tttgtgtgaa 3900
agccagcttt gaggggatta gcttttgaaa caatgaacag cttgccttga acttgattat 3960
tgatctattg actgtcatta acaacaactt aaacattgtc ttctgtgaaa attttccttg 4020
aagagtcctg ttctatgtct ttgccctttg acctttaact tgcaaactgg cacaaactga 4080
aggaaatctg gtgttgcttc tccattggat tagttgttct ctaaaaccta gtaagcatga 4140
gctgtttcct tagagtggag agagtggtga tggcagatct gcagatggac actttgctct 4200
ttacatgcac actctgaaaa tgccctatag gtagaagtga attttaattt cattttaata 4260
taatttcaag tctaaattca tcattttagt acaaattaca aaaactatag gaaaaaaaaa 4320
acctcaaata cttgaatggc cagtgtggct tttatataaa gcaggaattt tatactagta 4380
aaaatttctt actcatttgc taatacacat ttccagatga tttttaatga gtgtaggtat 4440
acattcttat ttggaaatgg atagtttggc tgccttgaat ttatatttat actcaacgta 4500
gcatgaaaat tagaatgcct tttggttaaa ctacatgttt atgatttggt tggggaaaat 4560
attttataat tgtgggtggc atgctgcaaa gccttgcaga ttgttatttc ttacaacctg 4620
agcgtatata gtatgagcct aagaaaaaag aagagtaaga aaagaagaat ggctttacag 4680
taaaatatca tacaatgcag acaatatttt aagaggatat tggagattat gtacgcaagg 4740
gccaagaaag caagaaatga gaaccagagt cagccctgta gctttacttc agtgcttcca 4800
ttctagatga tgctgatatt ataaagagtt agtcactgct gctaagcatg gaggactata 4860
tacataagct cgtttataca gtgtttgctt gtgggagggt ttaatccttt tagggccttg 4920
atgtcaagaa aaaaataact ggaaactata ttttgctaaa gatagaaatg aggaactgtg 4980
tcattttggg acatgtgcaa atcattgagg aactccatca ccctgcattg aaaattgatt 5040
ttttttcct ctaaaatgag aaagaaactg aataagcaat ctgttgcctc tttactcatt 5100
catcacaata tcctgattcg tcataaggct atcagtatat aagggctaga aaataatcat 5160
agcattaaga aggaaggagt ctatcattat gcttgaattc tggcaaatgt catgaataag 5220
ggttgggtca tatttacttt aatatgagac aagatttatg tgataagcaa aggcatataa 5280
ggctgctctt ttgaacagaa catttcagtt atcaggctgt actattacaa gagataagaa 5340
gacaataagg acaatgtaat cacaaacagt gggattccat ttgtttattg tacaccagct 5400
actttgtggg tatggttcct gactcctctt ctacatgagg tttgggaaaa aagtctcaaa 5460
ccaaatggaa cagtgaaagg gaaagtaatt catctagcac ataagaatag tgattcaaaa 5520
ccaatgcaga ataaatttcc atgggtcaat aacataaggt gtcagttcag tgttactaga 5580
gatatgcaag gcataaaata ttttcatcac cccatcacta ataacatgaa aagctcagac 5640
ataggatttc ccaaattgaa atgaaaacac attcatgcct gcaaaaataa ttctccttct 5700
gcttcatttc tcattacttt atctaatata aacacaaatg taaacaaggt aatggtcttc 5760
atgtaaaatg accatatagt taagaatttt agtaaaatat tgttgttctg tgtattatta 5820
aacaaatgca atgaagtatt aaaatagctg atcagtttga atttcctgta aagcagtaat 5880
tccgcatcag aattgtagat aaggttgtga atttattgac tcatttcaga acagtgtctg 5940
ttgacatggc agtcagagca ggtgaataca gatgctcttt ctgattgcaa aggttataga 6000
gctaaattag acagcattat gtgatactag caaagacaac ttctgttata aatcagaggg 6060

caaggctttt ctgaatcgat gtgataaatt actaagtaat gattaccaaa aataattact 6120
aagtaataaa agatacagac tggtttactg aaataagcaa gtgttacatt taataattac 6180
ctataatctt tttttgttaa cacataagca agtgttacct ttaataatta cctataatct 6240
ttttttgtta acacataatt tggccatttc atatactgtg tacctatttt cattccctct 6300
ctgtgggtca ttaaaaaaca caatgtggtg gataaaaaaa aaaaaaa 6347

<210> 140
<211> 607
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-16

<400> 140

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

```
Asp Arg Pro Lys Pro Pro Arg Pro Pro Thr Gly Arg Pro Ser Tyr Pro
                325                 330                 335
Gly Ala Lys Pro Asn Ile Cys Asp Gly Asn Phe Asn Thr Leu Ala Ile
            340                 345                 350
Leu Arg Arg Glu Met Phe Val Phe Lys Asp Gln Trp Phe Trp Arg Val
        355                 360                 365
Arg Asn Asn Arg Val Met Asp Gly Tyr Pro Met Gln Ile Thr Tyr Phe
    370                 375                 380
Trp Arg Gly Leu Pro Pro Ser Ile Asp Ala Val Tyr Glu Asn Ser Asp
385                 390                 395                 400
Gly Asn Phe Val Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Val Phe Lys Asp
                405                 410                 415
Thr Thr Leu Gln Pro Gly Tyr Pro His Asp Leu Ile Thr Leu Gly Ser
            420                 425                 430
Gly Ile Pro Pro His Gly Ile Asp Ser Ala Ile Trp Trp Glu Asp Val
        435                 440                 445
Gly Lys Thr Tyr Phe Phe Lys Gly Asp Arg Tyr Trp Arg Tyr Ser Glu
    450                 455                 460

Glu Met Lys Thr Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Pro Ile Thr Val Trp
465                 470                 475                 480
Lys Gly Ile Pro Glu Ser Pro Gln Gly Ala Phe Val His Lys Glu Asn
                485                 490                 495
Gly Phe Thr Tyr Phe Tyr Lys Gly Lys Glu Tyr Trp Lys Phe Asn Asn
            500                 505                 510
Gln Ile Leu Lys Val Glu Pro Gly Tyr Pro Arg Ser Ile Leu Lys Asp
        515                 520                 525
Phe Met Gly Cys Asp Gly Pro Thr Asp Arg Val Lys Glu Gly His Ser
    530                 535                 540
Pro Pro Asp Asp Val Asp Ile Val Ile Lys Leu Asp Asn Thr Ala Ser
545                 550                 555                 560
Thr Val Lys Ala Ile Ala Ile Val Ile Pro Cys Ile Leu Ala Leu Cys
                565                 570                 575
Leu Leu Val Leu Val Tyr Thr Val Phe Gln Phe Lys Arg Lys Gly Thr
            580                 585                 590
Pro Arg His Ile Leu Tyr Cys Lys Arg Ser Met Gln Glu Trp Val
        595                 600                 605


<210> 141
<211> 481
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-16 maduro

<400> 141
Tyr Ala Leu Thr Gly Gln Lys Trp Gln His Lys His Ile Thr Tyr Ser
 1               5                  10                  15
Ile Lys Asn Val Thr Pro Lys Val Gly Asp Pro Glu Thr Arg Lys Ala
            20                  25                  30
Ile Arg Arg Ala Phe Asp Val Trp Gln Asn Val Thr Pro Leu Thr Phe
        35                  40                  45
Glu Glu Val Pro Tyr Ser Glu Leu Glu Asn Gly Lys Arg Asp Val Asp
    50                  55                  60
```

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

<210> 142

<211> 2438
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-17

<400> 142
ccggcggggg cgccgcggag agcggagggc gccgggctgc ggaacgcgaa gcggagggcg 60
cgggaccctg cacgccgccc gcgggcccat gtgagcgcca tgcggcgccg cgcagcccgg 120
ggacccggcc cgccgccccc agggcccgga ctctcgcggt tgccgctgct gccgctgccg 180
ctgctgctgc tgctggcgct ggggacccgc gggggctgcg ccgcgcccgc acccgcgccg 240
cgcgccgagg acctcagcct gggagtggag tggctaagca ggttcggtta cctgcccccg 300
gctgacccca caacagggca gctgcagacg caagaggagc tgtctaaggc catcacagcc 360
atgcagcagt ttggtggcct ggaggccacc ggcatcctgg acgaggccac cctggccctg 420
atgaaaaccc cacgctgctc cctgccagac ctccctgtcc tgacccaggc tcgcaggaga 480
cgccaggctc cagcccccac caagtggaac aagaggaacc tgtcgtggag ggtccggacg 540
ttcccacggg actcaccact ggggcacgac acggtgcgtg cactcatgta ctacgccctc 600
aaggtctgga gcgacattgc gcccctgaac ttccacgagg tggcgggcag caccgccgac 660
atccagatcg acttctccaa ggccgaccat aacgacggct acccccttcga cggccccggc 720
ggcaccgtgg cccacgcctt cttccccggc caccaccaca ccgccgggga cacccacttt 780
gacgatgacg aggcctggac cttccgctcc tcggatgccc acgggatgga cctgtttgca 840
gtggctgtcc acgagtttgg ccacgccatt gggttaagcc atgtggccgc tgcacactcc 900
atcatgcggc cgtactacca gggcccggtg ggtgacccgc tgcgctacgg gctcccctac 960
gaggacaagg tgcgcgtctg gcagctgtac ggtgtgcggg agtctgtgtc tcccacggcg 1020
cagcccgagg agcctccccct gctgccggag cccccagaca accggtccag cgccccgccc 1080
aggaaggacg tgccccacag atgcagcact cactttgacg cggtggccca gatccgcggt 1140
gaagctttct tcttcaaagg caagtacttc tggcggctga cgcgggaccg gcacctggtg 1200
tccctgcagc cggcacagat gcaccgcttc tggcggggcc tgccgctgca cctggacagc 1260
gtggacgccg tgtacgagcg caccagcgac cacaagatcg tcttctttaa aggagacagg 1320
tactgggtgt tcaaggacaa taacgtagag gaaggatacc cgcgccccgt ctccgacttc 1380
agcctcccgc ctggcggcat cgacgctgcc ttctcctggg cccacaatga caggacttat 1440
ttctttaagg accagctgta ctggcgctac gatgaccaca cgaggcacat ggaccccggc 1500
taccccgccc agagccccct gtggaggggt gtccccagca cgctggacga cgccatgcgc 1560
tggtccgacg gtgcctccta cttcttccgt ggccaggagt actggaaagt gctggatggc 1620
gagctggagg tggcacccgg gtacccacag tccacggccc gggactggct ggtgtgtgga 1680
gactcacagg ccgatggatc tgtggctgcg ggcgtggacg cggcagaggg gccccgcgcc 1740
cctccaggac aacatgacca gagccgctcg gaggacggtt acgaggtctg ctcatgcacc 1800
tctggggcat cctctccccc gggggcccca ggcccactgg tggctgccac catgctgctg 1860
ctgctgccgc cactgtcacc aggcgccctg tggacagcgg cccaggccct gacgctatga 1920
cacacagcgc gagcccatga gaggacagag gcggtgggac agcctggcca cagagggcaa 1980
ggactgtgcc ggagtccctg ggggaggtgc tggcgcggga tgaggacggg ccaccctggc 2040
accggaaggc cagcagaggg cacggcccgc cagggctggg caggctcagg tggcaaggac 2100
ggagctgtcc cctagtgagg gactgtgttg actgacgagc cgaggggtgg ccgctccaga 2160
agggtgccca gtcaggccgc accgccgcca gcctcctccg gccctggagg gagcatctcg 2220
ggctgggggc ccacccctct ctgtgccggc gccaccaacc ccacccacac tgctgcctgg 2280
tgctcccgcc ggcccacagg gcctccgtcc ccaggtcccc agtggggcag ccctccccac 2340
agacgagccc cccacatggt gccgcggcac gtccccccctg tgacgcgttc cagaccaaca 2400
tgacctctcc ctgctttgta aaaaaaaaaa aaaaaaaa 2438

<210> 143
<211> 606
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-17

<400> 143

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

706

```
Phe Lys Asp Gln Leu Tyr Trp Arg Tyr Asp Asp His Thr Arg His Met
    450                 455                 460
Asp Pro Gly Tyr Pro Ala Gln Ser Pro Leu Trp Arg Gly Val Pro Ser
465                 470                 475                 480
Thr Leu Asp Asp Ala Met Arg Trp Ser Asp Gly Ala Ser Tyr Phe Phe
                485                 490                 495
Arg Gly Gln Glu Tyr Trp Lys Val Leu Asp Gly Glu Leu Glu Val Ala
            500                 505                 510
Pro Gly Tyr Pro Gln Ser Thr Ala Arg Asp Trp Leu Val Cys Gly Asp
        515                 520                 525
Ser Gln Ala Asp Gly Ser Val Ala Ala Gly Val Asp Ala Ala Glu Gly
    530                 535                 540
Pro Arg Ala Pro Pro Gly Gln His Asp Gln Ser Arg Ser Glu Asp Gly
545                 550                 555                 560
Tyr Glu Val Cys Ser Cys Thr Ser Gly Ala Ser Ser Pro Pro Gly Ala
                565                 570                 575
Pro Gly Pro Leu Val Ala Ala Thr Met Leu Leu Leu Leu Pro Pro Leu
            580                 585                 590

Ser Pro Gly Ala Leu Trp Thr Ala Ala Gln Ala Leu Thr Leu
        595                 600                 605


<210> 144
<211> 478
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-17maduro

<400> 144
Gln Ala Pro Ala Pro Thr Lys Trp Asn Lys Arg Asn Leu Ser Trp Arg
 1               5                  10                  15
Val Arg Thr Phe Pro Arg Asp Ser Pro Leu Gly His Asp Thr Val Arg
            20                  25                  30
Ala Leu Met Tyr Tyr Ala Leu Lys Val Trp Ser Asp Ile Ala Pro Leu
        35                  40                  45
Asn Phe His Glu Val Ala Gly Ser Thr Ala Asp Ile Gln Ile Asp Phe
    50                  55                  60
Ser Lys Ala Asp His Asn Asp Gly Tyr Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
65                  70                  75                  80
Thr Val Ala His Ala Phe Phe Pro Gly His His His Thr Ala Gly Asp
                85                  90                  95
Thr His Phe Asp Asp Asp Glu Ala Trp Thr Phe Arg Ser Ser Asp Ala
            100                 105                 110
His Gly Met Asp Leu Phe Ala Val Ala Val His Glu Phe Gly His Ala
        115                 120                 125
Ile Gly Leu Ser His Val Ala Ala Ala His Ser Ile Met Arg Pro Tyr
    130                 135                 140
Tyr Gln Gly Pro Val Gly Asp Pro Leu Arg Tyr Gly Leu Pro Tyr Glu
145                 150                 155                 160
Asp Lys Val Arg Val Trp Gln Leu Tyr Gly Val Arg Glu Ser Val Ser
                165                 170                 175
Pro Thr Ala Gln Pro Glu Glu Pro Pro Leu Leu Pro Glu Pro Pro Asp
            180                 185                 190
```

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

<210> 145
<211> 3262
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-19

<400> 145

```
ggctggagag taaaaagaac tgggggtaag agcccctctg cctagcactg ctcccccaag 60
gctcccagaa atctcaggtc agaggcacgg acagcctctg gagctctcgt ctggtgggac 120
catgaactgc cagcagctgt ggctgggctt cctactcccc atgacagtct caggccgggt 180
cctggggctt gcagaggtgg cgcccgtgga ctacctgtca caatatgggt acctacagaa 240
gcctctagaa ggatctaata acttcaagcc agaagatatc accgaggctc tgagagcttt 300
tcaggaagca tctgaacttc cagtctcagg tcagctggat gatgccacaa gggcccgcat 360
gaggcagcct cgttgtggcc tagaggatcc cttcaaccag aagaccctta aatacctgtt 420
gctgggccgc tggagaaaga agcacctgac tttccgcatc ttgaacctgc cctccaccct 480
tccaccccac acagcccggg cagccctgcg tcaagccttc caggactgga gcaatgtggc 540
tcccttgacc ttccaagagg tgcaggctgg tgcggctgac atccgcctct ccttccatgg 600
```

ccgccaaagc tcgtactgtt ccaatacttt tgatgggcct gggagagtcc tggcccatgc 660
cgacatccca gagctgggca gtgtgcactt cgacgaagac gagttctgga ctgaggggac 720
ctaccgtggg gtgaacctgc gcatcattgc agcccatgaa gtgggccatg ctctggggct 780
tgggcactcc cgatattccc aggccctcat ggccccagtc tacgagggct accggcccca 840
ctttaagctg cacccagatg atgtggcagg gatccaggct ctctatggca agaagagtcc 900
agtgataagg gatgaggaag aagaagagac agagctgccc actgtgcccc cagtgcccac 960
agaacccagt cccatgccag acccttgcag tagtgaactg gatgccatga tgctggggcc 1020
ccgtgggaag acctatgctt tcaaggggga ctatgtgtgg actgtatcag attcaggacc 1080
gggccccttg ttccgagtgt ctgccctttg ggaggggctc cccggaaacc tggatgctgc 1140
tgtctactcg cctcgaacac aatggattca cttctttaag ggagacaagg tgtggcgcta 1200
cattaatttc aagatgtctc ctggcttccc caagaagctg aatagggtag aacctaacct 1260
ggatgcagct ctctattggc ctctcaacca aaaggtgttc ctctttaagg gctccgggta 1320
ctggcagtgg gacgagctag cccgaactga cttcagcagc taccccaaac caatcaaggg 1380
tttgtttacg ggagtgccaa accagccctc ggctgctatg agttggcaag atggccgagt 1440
ctacttcttc aagggcaaag tctactggcg cctcaaccag cagcttcgag tagagaaagg 1500
ctatcccaga aatatttccc acaactggat gcactgtcgt ccccggacta tagacactac 1560
cccatcaggt gggaatacca ctccctcagg tacgggcata accttggata ccactctctc 1620
agccacagaa accacgtttg aatactgact gctcacccac agacacaatc ttggacatta 1680
acccctgagg ctccaccacc cacccttcca tttccccccc agaagcctaa ggcctaatag 1740
ctgaatgaaa tacctgtctg ctcagtagaa ccttgcaggt gctgtagcag gcgcaagacc 1800
gtagatctca ggcctctaac acttccaact ccagccacca ctttcctgtg cattttcact 1860
cctgagaagt gctcccctaa ctcagatccc ctaacttaga tttggccccc aactccattt 1920
cctgtctgtc ttagacagcc cttccaactg tgtcatctct tctctggagg tcaatggtgg 1980
agggagatgc ctgggtcctg ttcttcctac ataaaatgca agaaaacagc atggccagta 2040
aactgagcaa gggccttgga atccttgaga atcacattta tgtgcttatg attacgggca 2100
agctaattaa ccttgttgaa tctcagattc cccatttgca acattaggtt aagaccagta 2160
ctgcaggatt gttgcactaa atgaaatact gtatgtgaag tgcctggcac agtgtctggt 2220
acatttgtgt ttaataaaag ctaactccat gttcataaga gaggactgaa cagctcttcc 2280
tctagctgtc tggctgtata actcttacag tagtctgtat aataagggca tctctattag 2340
atctttaggg gacagaggat ttgtcaagat ggttagctct ttgttttggg gtgcagagaa 2400
agaaaagagc agcaacagca gaggctggac tccctggttc agtatttaat gccattttat 2460
tcacatgctc ccatgttctc cctccctccc attgtagcct tgctgcccag gggagggata 2520
tgtcttcctt tatgcatctg ggaaaccagg aacagaccct gcgcaggaga gtcagagggg 2580
gaagagttag aatgggtcag tggctggaac aaagttctgg ttaaggagga aattagtgcc 2640
acccacggtg agaagcagag aaggcacttg catcctatgc agccctgaag accaggctcc 2700
tttgggcaaa aggcaagact ctggcaggtg ggtcaatgct ctctccttgg agcaagaagc 2760
cagcttttgg ggaaggcagg tcctgaggca ggcactgccc tgtggtcttc cccaggttga 2820
ggagagaagt ggaagcccca tggaagacag tgctcccagc tgaggtagga ggcggaggtg 2880
ggggtggggg tagtttaagc ctatggggcc caggggggaaa ggccaaacag aaacccaact 2940
acccccctaat gaagggcctg gaggttgggg tatcttggag ctcctcagag cccttcttcc 3000
catcaaaaag gtatcaaatg ccttggaagc tccctgatcc tacaaaacaa aaaaatgctt 3060
atttttacca ctgtgaggca agctgaggtg aacatttaaa aggctatttc aagacgaggt 3120
gcggtggcta taatcctagc actttgggag gctgaagcag gaggatcact tgagcccagg 3180
agttcaagac cagcttgggc aacataggga gaccctgtct ctgcaaaaaa ataaaaacga 3240
atacataaaa attaaaaaaa aa 3262

<210> 146
<211> 508
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-19

<400> 146
Met Asn Cys Gln Gln Leu Trp Leu Gly Phe Leu Leu Pro Met Thr Val
1 5 10 15

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

```
Ile Ser His Asn Trp Met His Cys Arg Pro Arg Thr Ile Asp Thr Thr
465                 470                 475                 480
Pro Ser Gly Gly Asn Thr Thr Pro Ser Gly Thr Gly Ile Thr Leu Asp
                485                 490                 495
Thr Thr Leu Ser Ala Thr Glu Thr Thr Phe Glu Tyr
            500                 505
```

<210> 147
<211> 411
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-19 maduro

<400> 147

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

```
Ile Lys Gly Leu Phe Thr Gly Val Pro Asn Gln Pro Ser Ala Ala Met
                325                 330                 335
Ser Trp Gln Asp Gly Arg Val Tyr Phe Phe Lys Gly Lys Val Tyr Trp
            340                 345                 350
Arg Leu Asn Gln Gln Leu Arg Val Glu Lys Gly Tyr Pro Arg Asn Ile
        355                 360                 365
Ser His Asn Trp Met His Cys Arg Pro Arg Thr Ile Asp Thr Thr Pro
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Asn Thr Thr Pro Ser Gly Thr Gly Ile Thr Leu Asp Thr
385                 390                 395                 400
Thr Leu Ser Ala Thr Glu Thr Thr Phe Glu Tyr
                405                 410
```

<210> 148
<211> 1674
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-20

<400> 148

```
ctactgtgag gggatgaagg tgctccctgc atctggcctt gctgtcttcc tcatcatggc 60
tttgaagttt tccactgcag ccccctccct agttgcagcc tcccccagga cctggaggaa 120
caactaccgc ctcgcacagg cgtatcttga caaatattac acaaataaag aaggacacca 180
gattggtgag atggttgcaa gaggaagcaa ttccatgata aggaagatta aggagctaca 240
agcgttcttt ggcctccaag tcaccgggaa gttagaccag accacaatga acgtgatcaa 300
gaagcctcgc tgtggagttc ctgatgtggc caattatcgc ctcttccctg gtgaacccaa 360
atggaaaaaa aatactttga catacagaat atctaaatac acaccttcca tgagttctgt 420
cgaggtggac aaagcagtgg agatggcctt gcaggcctgg agtagcgccg tccctctgag 480
ctttgtcaga ataaactcag gagaagcgga tattatgata tcttttgaaa atggagatca 540
cggggattcc tatccattcg atgggcctcg ggggactcta gcccatgcat ttgctcctgg 600
agaaggcctg ggaggagata cacatttcga caatcctgag aagtggacta tgggaacgaa 660
tggttttaat ttgtttaccg ttgctgctca tgaatttggc catgccctgg gcctggccca 720
ttccacagac ccatcagcac tgatgtaccc aacttataag tacaagaatc cctatggatt 780
ccacctcccc aaagatgatg tgaaagggat ccaggcatta tacggacctc ggaaagtatt 840
cctggggaag cccactctgc cccatgcccc ccatcacaag ccatccatcc ctgacctctg 900
tgactccagc tcatcctttg acgctgtgac aatgctgggg aaggagctcc tgctcttcaa 960
ggaccggatt ttctggagac ggcaggttca cttgcggaca ggaattcggc ccagcactat 1020
taccagctcc ttcccccagc tcatgtccaa tgtggatgca gcttacgaag tggctgagag 1080
gggcactgct tacttcttca aaggtcccca ctactggata acaagaggat tccaaatgca 1140
aggtcctcct cggactattt atgactttgg atttccaagg cacgtgcagc aaatagatgc 1200
tgctgtctac ctcagggagc cacagaagac ccttttcttt gtgggagatg aatactacag 1260
ctacgacgaa aggaaaagga aaatggaaaa agactatcca aagaatactg aagaagaatt 1320
ttcaggagta aatggccaaa tcgatgctgc tgtagaatta aatggctaca tttacttctt 1380
ttcaggacca aaaacataca agtatgacac agagaaggaa gatgtggtta gtgtggtgaa 1440
atctagttcc tggattggtt gctaaataga aaagcctagt cttctcaagc aatgaggatg 1500
actacaagca gcctctaact ggatcttaag gactaaagca gaatgtagga gagggattct 1560
tccaaaggcc ttcaaatcaa attagaattc actgagaata ataatacttc caatttttt 1620
catagttgta taatcagaat ttcaatccac attagaaaag tttttatatg ggca       1674
```

<210> 149
<211> 483
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor MMP-20

<400> 149

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

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

```
Tyr Asp Glu Arg Lys Arg Lys Met Glu Lys Asp Tyr Pro Lys Asn Thr
            420                 425                 430
Glu Glu Glu Phe Ser Gly Val Asn Gly Gln Ile Asp Ala Ala Val Glu
        435                 440                 445
Leu Asn Gly Tyr Ile Tyr Phe Phe Ser Gly Pro Lys Thr Tyr Lys Tyr
    450                 455                 460
Asp Thr Glu Lys Glu Asp Val Val Ser Val Val Lys Ser Ser Ser Trp
465                 470                 475                 480
Ile Gly Cys
```

<210> 150
<211> 373
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-20 maduro

```
<400> 150
Tyr Arg Leu Phe Pro Gly Glu Pro Lys Trp Lys Lys Asn Thr Leu Thr
 1               5                  10                  15
Tyr Arg Ile Ser Lys Tyr Thr Pro Ser Met Ser Ser Val Glu Val Asp
            20                  25                  30
Lys Ala Val Glu Met Ala Leu Gln Ala Trp Ser Ser Ala Val Pro Leu
        35                  40                  45
Ser Phe Val Arg Ile Asn Ser Gly Glu Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    50                  55                  60
Glu Asn Gly Asp His Gly Asp Ser Tyr Pro Phe Asp Gly Pro Arg Gly
65                  70                  75                  80
Thr Leu Ala His Ala Phe Ala Pro Gly Glu Gly Leu Gly Gly Asp Thr
                85                  90                  95
His Phe Asp Asn Ala Glu Lys Trp Thr Met Gly Thr Asn Gly Phe Asn
            100                 105                 110
Leu Phe Thr Val Ala Ala His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Ala
        115                 120                 125
His Ser Thr Asp Pro Ser Ala Leu Met Tyr Pro Thr Tyr Lys Tyr Lys
    130                 135                 140
Asn Pro Tyr Gly Phe His Leu Pro Lys Asp Asp Val Lys Gly Ile Gln
145                 150                 155                 160
Ala Leu Tyr Gly Pro Arg Lys Val Phe Leu Gly Lys Pro Thr Leu Pro
                165                 170                 175
His Ala Pro His His Lys Pro Ser Ile Pro Asp Leu Cys Asp Ser Ser
            180                 185                 190
Ser Ser Phe Asp Ala Val Thr Met Leu Gly Lys Glu Leu Leu Leu Phe
        195                 200                 205
Lys Asp Arg Ile Phe Trp Arg Arg Gln Val His Leu Arg Thr Gly Ile
    210                 215                 220
Arg Pro Ser Thr Ile Thr Ser Ser Phe Pro Gln Leu Met Ser Asn Val
225                 230                 235                 240
Asp Ala Ala Tyr Glu Val Ala Glu Arg Gly Thr Ala Tyr Phe Phe Lys
                245                 250                 255
Gly Pro His Tyr Trp Ile Thr Arg Gly Phe Gln Met Gln Gly Pro Pro
            260                 265                 270
Arg Thr Ile Tyr Asp Phe Gly Phe Pro Arg His Val Gln Gln Ile Asp
        275                 280                 285
```

```
Ala Ala Val Tyr Leu Arg Glu Pro Gln Lys Thr Leu Phe Phe Val Gly
    290                 295                 300
Asp Glu Tyr Tyr Ser Tyr Asp Glu Arg Lys Arg Lys Met Glu Lys Asp
305                 310                 315                 320
Tyr Pro Lys Asn Thr Glu Glu Glu Phe Ser Gly Val Asn Gly Gln Ile
                325                 330                 335
Asp Ala Ala Val Glu Leu Asn Gly Tyr Ile Tyr Phe Phe Ser Gly Pro
            340                 345                 350
Lys Thr Tyr Lys Tyr Asp Thr Glu Lys Glu Asp Val Val Ser Val Val
        355                 360                 365
Lys Ser Ser Ser Trp
    370
```

<210> 151
<211> 3127
<212> ADN
<213> Xenopus laevis

<220>
<223> XMMP

<400> 151

```
tcgtggagca ctacagaata tgccgcacag agtcagcaga acggcagcag atgcatcagc 60
atcatatgag gccaccatgc cttctatcaa gcttctggtt tggtgctgct tgtgtgtgat 120
atcccccagg ctgtgccatt ctgagaagct cttccacagt cgggatcggt cagaccttca 180
gccctcagca attgaacagg cagaactggt caaggatatg ctctctgccc agcaattcct 240
ggcaaaatat gggtggacac aaccagttat ttgggatcca tcaagtacca atgaaaacga 300
acctctaaaa gatttcagtc tgatgcaaga gggagtttgt aacccaaggc aagaagtggc 360
tgagccaaca aaaagccccc aattcattga cgcgctcaaa aagtttcaga agctaaacaa 420
cttgccagtg acaggaaccc ttgatgatgc caccatcaac gccatgaaca agccacggtg 480
cggcgtgcca gacaaccaaa tggcaaagaa agagacggag aaaccgacag cagcacagtc 540
acttgaaaac aagactaagg attctgagaa tgttactcaa caaaacccag acccccccaa 600
gattcggagg aagaggttct tagatatgtt aatgtactca aacaagtaca gggaagaaca 660
ggaggcgctt cagaaatcca caggcaaagt cttcaccaaa aagctgctga aatggagaat 720
gattggagaa ggctacagca atcagctttc catcaacgag caaagatatg tcttcaggct 780
ggctttccgc atgtggagtg aagtcatgcc actggacttt gaagaagata acacctcccc 840
tctatcccaa attgatatca aacttggatt cggacgaggt cgccatttag gctgtagccg 900
ggcattcgat ggctctgggc aggagttcgc ccacgcttgg tttctggggg acattcactt 960
tgacgacgat gaacatttta ctgctcccag tagtgagcat gggattagtc tgctgaaggt 1020
ggcagcccat gaaattggcc atgttcttgg attatctcac atccacaggg tgggatcaat 1080
aatgcagccc aattacattc cgcaggactc tggctttgag ctggacttgt ctgacaggag 1140
agccatacag aacctatacg gctcatgtga aggccccttt gacacagcgt ttgactggat 1200
ctataaagag aagaaccaat acggggagct tgttgttcga tacaacacct actttttcg 1260
caacagctgg tactggatgt atgagaatcg gagcaacagg acccgatacg gggatccact 1320
tgcaattgcc aacggctggc acggaattcc cgtacagaat attgatgctt ttgttcatgt 1380
ctggacctgg acaagagacg cctcctactt ttttaaaggt actcagtact ggcgctacga 1440
tagtgaaaat gacaaagcct atgctgaaga tgcacaggga aagagctacc ctcgcctaat 1500
ctcagaaggg tttcctggaa tcccaagccc catcaatgct gcctattttg acaggagaag 1560
acagtacatt tacttcttca gggactccca ggtttttgcc tttgatatca acagaaacag 1620
agttgcgcca gacttcccca aaagaatctt ggacttttc ccagccgtcg cagcaaacaa 1680
tcaccccaag ggcaacatag acgtggccta ttattcctac acatacagct ccttatttct 1740
cttcaaagga aaagagtttt ggaaagtcgt cagcgacaag gacaggaggc aaaacccgtc 1800
tcttccatac aatggattgt tccccagaag agcaatatct cagcagtggt ttgatatctg 1860
caacgtacac ccttcattgc tgaaaatttg atttgcccaa aatagcccag cctgaataat 1920
agtcatgcac tgaggttttc taaagtcttc ttctgccctt gtcccacctg tgcactcacc 1980
tgtagcatgg acagcccaaa atagcccagc ctgaataata gtcatccact gaggttttct 2040
```

aaagtcttct tctgcccttg tcccacctgt gcactcacct gtagcatgga catactccca 2100
gatgattgac ctttctacaa ctctacttcc agagtgtcca tgtctaagaa tttcttagta 2160
aaagagttga ctagactatt gtattgtttc ctaaacgcag ccataaagga gctccaacag 2220
cacaagattc caggaagcca ttccctcaat tcataaagga caggagtgtg cgctccaata 2280
atggctaata tatgtacatt attaaacaca agaatgggag aaatccattc gagaaaaaag 2340
tatttattag ttgagatgaa tcccaatttg ggaagattga gagttgaaca aggatcctta 2400
ttatgtatct gcttaaatgt tttatttatc catttttgct tgagtttctg cttcgattag 2460
gaagtattgg agcatgattc ataatgattg aactgatgtg aacttctcca gaatgcactt 2520
ctaaacacaa acataatact gatggaggag gaataattgt atggggatag aggctccata 2580
gaaggcaaac tttaaggctg caataatatc gtggtcaaat atgtgctttc tcattggtgg 2640
taaaggttta ttgaaggccc tttgcttctt ctgctcaaca gtggaccatg tgctcaaagt 2700
aagctcccta cacaatggtt gatggaaatg tgactggtct gcatgaagcc ctcaacccaa 2760
ctgaacaact gtgggatgaa ttggaccatg gattaaggga gccaggccgg atcattgaag 2820
ccggacctca ctcatgcttt tgtggttgaa gagcaaatcc caccactaat cttccaagac 2880
ctagaggaaa gcctttccag aagagcagag gctgttgcag caaaggaatg tctaactcta 2940
tatcaaaacc ttcaggcttc agaattgcat gttctcatta ataaatgtgt agcatcggga 3000
ctctatagct cttaaaggcc gtgcatgttt gatttagaaa gatacacttg atgttattac 3060
tgagctttat acagcactgt tattctgcac aaataaaact tttactttac aaaaaaaaaa 3120
aaaaaaa 3127

<210> 152
<211> 604
<212> PRT
<213> Xenopus laevis

<220>
<223> precursor XMMP

<400> 152

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

```
Ser Ile Asn Glu Gln Arg Tyr Val Phe Arg Leu Ala Phe Arg Met Trp
225                 230                 235                 240
Ser Glu Val Met Pro Leu Asp Phe Glu Glu Asp Asn Thr Ser Pro Leu
                245                 250                 255
Ser Gln Ile Asp Ile Lys Leu Gly Phe Gly Arg Gly Arg His Leu Gly
            260                 265                 270
Cys Ser Arg Ala Phe Asp Gly Ser Gly Gln Glu Phe Ala His Ala Trp
        275                 280                 285
Phe Leu Gly Asp Ile His Phe Asp Asp Asp Glu His Phe Thr Ala Pro
    290                 295                 300
Ser Ser Glu His Gly Ile Ser Leu Leu Lys Val Ala Ala His Glu Ile
305                 310                 315                 320
Gly His Val Leu Gly Leu Ser His Ile His Arg Val Gly Ser Ile Met
                325                 330                 335
Gln Pro Asn Tyr Ile Pro Gln Asp Ser Gly Phe Glu Leu Asp Leu Ser
            340                 345                 350
Asp Arg Arg Ala Ile Gln Asn Leu Tyr Gly Ser Cys Glu Gly Pro Phe
        355                 360                 365
Asp Thr Ala Phe Asp Trp Ile Tyr Lys Glu Lys Asn Gln Tyr Gly Glu
    370                 375                 380

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

<210> 153
<211> 420
<212> PRT
<213> Xenopus laevis

<220>

<223> XMMP maduro

<400> 153

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

<210> 154
<211> 1694
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> heparanasa

<400> 154
gggcaccagc caagatgctg ctgcgctcga agcctgcgct gccgccgccg ctgatgctgc 60
tgctcctggg gccgctgggt cccctctccc ctggcgccct gccccgacct gcgcaagcac 120
aggacgtcgt ggacctggac ttcttcaccc aggagccgct gcacctggtg agcccctcgt 180
tcctgtccgt caccattgac gccaacctgg ccacggaccc gcggttcctc atcctcctgg 240
gttctccaaa gcttcgtacc ttggccagag gcttgtctcc tgcgtacctg aggtttggtg 300
gcaccaagac agacttccta attttcgatc ccaagaagga atcaaccttt gaagagagaa 360
gttactggca atctcaagtc aaccaggata tttgcaaata tggatccatc cctcctgatg 420
tggaggagaa gttacggttg gaatggccct accaggagca attgctactc cgagaacact 480
accagaaaaa gttcaagaac agcacctact caagaagctc tgtagatgtg ctatacactt 540
ttgcaaactg ctcaggactg gacttgatct ttggcctaaa tgcgttatta agaacagcag 600
atttgcagtg gaacagttct aatgctcagt tgctcctgga ctactgctct tccaaggggt 660
ataacatttc ttgggaacta ggcaatgaac ctaacagttt ccttaagaag gctgatattt 720
tcatcaatgg gtcgcagtta ggagaagatt ttattcaatt gcataaactt ctaagaaagt 780
ccaccttcaa aaatgcaaaa ctctatggtc ctgatgttgg tcagcctcga agaaagacgg 840
ctaagatgct gaagagcttc ctgaaggctg gtggagaagt gattgattca gttacatggc 900
atcactacta tttgaatgga cggactgcta ccagggaaga ttttctaaac cctgatgtat 960
tggacatttt tatttcatct gtgcaaaaag ttttccaggt ggttgagagc accaggcctg 1020
gcaagaaggt ctggttagga gaaacaagct ctgcatatgg aggcggagcg cccttgctat 1080
ccgacacctt tgcagctggc tttatgtggc tggataaatt gggcctgtca gcccgaatgg 1140
gaatagaagt ggtgatgagg caagtattct ttggagcagg aaactaccat ttagtggatg 1200
aaaacttcga tcctttacct gattattggc tatctcttct gttcaagaaa ttggtgggca 1260
ccaaggtgtt aatggcaagc gtgcaaggtt caaagagaag gaagcttcga gtataccttc 1320
attgcacaaa cactgacaat ccaaggtata aagaaggaga tttaactctg tatgccataa 1380
acctccataa tgtcaccaag tacttgcggt taccctatcc tttttctaac aagcaagtgg 1440
ataaatacct tctaagacct ttgggacctc atggattact ttccaaatct gtccaactca 1500
atggtctaac tctaaagatg gtggatgatc aaaccttgcc acctttaatg gaaaaacctc 1560
tccggccagg aagttcactg ggcttgccag ctttctcata tagtttttt gtgataagaa 1620
atgccaaagt tgctgcttgc atctgaaaat aaaatatact agtcctgaca ctgaaaaaaa 1680
aaaaaaaaaa aaaa 1694

<210> 155
<211> 543
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de heparanasa

<400> 155
Met Leu Leu Arg Ser Lys Pro Ala Leu Pro Pro Pro Leu Met Leu Leu
 1   5   10   15
Leu Leu Gly Pro Leu Gly Pro Leu Ser Pro Gly Ala Leu Pro Arg Pro
            20   25   30
Ala Gln Ala Gln Asp Val Val Asp Leu Asp Phe Phe Thr Gln Glu Pro
        35   40   45
Leu His Leu Val Ser Pro Ser Phe Leu Ser Val Thr Ile Asp Ala Asn
    50   55   60

719

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

720

Glu Lys Pro Leu Arg Pro Gly Ser Ser Leu Gly Leu Pro Ala Phe Ser
515 520 525
Tyr Ser Phe Phe Val Ile Arg Asn Ala Lys Val Ala Ala Cys Ile
530 535 540

<210> 156
<211> 460
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> heparanasa madura

<220>
<223> subunidad de heparanasa 8 kDa

<220>
<223> subunidad de heparanasa 50 kDa

<400> 156
Gln Asp Val Val Asp Leu Asp Phe Phe Thr Gln Glu Pro Leu His Leu
1 5 10 15
Val Ser Pro Ser Phe Leu Ser Val Thr Ile Asp Ala Asn Leu Ala Thr
20 25 30
Asp Pro Arg Phe Leu Ile Leu Leu Gly Ser Pro Lys Leu Arg Thr Leu
35 40 45
Ala Arg Gly Leu Ser Pro Ala Tyr Leu Arg Phe Gly Gly Thr Lys Thr
50 55 60
Asp Phe Leu Ile Phe Asp Pro Lys Lys Glu Lys Lys Phe Lys Asn Ser
65 70 75 80
Thr Tyr Ser Arg Ser Ser Val Asp Val Leu Tyr Thr Phe Ala Asn Cys
85 90 95
Ser Gly Leu Asp Leu Ile Phe Gly Leu Asn Ala Leu Leu Arg Thr Ala
100 105 110
Asp Leu Gln Trp Asn Ser Ser Asn Ala Gln Leu Leu Leu Asp Tyr Cys
115 120 125
Ser Ser Lys Gly Tyr Asn Ile Ser Trp Glu Leu Gly Asn Glu Pro Asn
130 135 140
Ser Phe Leu Lys Lys Ala Asp Ile Phe Ile Asn Gly Ser Gln Leu Gly
145 150 155 160
Glu Asp Phe Ile Gln Leu His Lys Leu Leu Arg Lys Ser Thr Phe Lys
165 170 175
Asn Ala Lys Leu Tyr Gly Pro Asp Val Gly Gln Pro Arg Arg Lys Thr
180 185 190
Ala Lys Met Leu Lys Ser Phe Leu Lys Ala Gly Gly Glu Val Ile Asp
195 200 205
Ser Val Thr Trp His His Tyr Tyr Leu Asn Gly Arg Thr Ala Thr Arg
210 215 220
Glu Asp Phe Leu Asn Pro Asp Val Leu Asp Ile Phe Ile Ser Ser Val
225 230 235 240
Gln Lys Val Phe Gln Val Val Glu Ser Thr Arg Pro Gly Lys Lys Val
245 250 255
Trp Leu Gly Glu Thr Ser Ser Ala Tyr Gly Gly Gly Ala Pro Leu Leu
260 265 270
Ser Asp Thr Phe Ala Ala Gly Phe Met Trp Leu Asp Lys Leu Gly Leu
275 280 285

```
Ser Ala Arg Met Gly Ile Glu Val Val Met Arg Gln Val Phe Phe Gly
    290                 295                 300
Ala Gly Asn Tyr His Leu Val Asp Glu Asn Phe Asp Pro Leu Pro Asp
305                 310                 315                 320
Tyr Trp Leu Ser Leu Leu Phe Lys Lys Leu Val Gly Thr Lys Val Leu
                325                 330                 335
Met Ala Ser Val Gln Gly Ser Lys Arg Arg Lys Leu Arg Val Tyr Leu
            340                 345                 350
His Cys Thr Asn Thr Asp Asn Pro Arg Tyr Lys Glu Gly Asp Leu Thr
        355                 360                 365
Leu Tyr Ala Ile Asn Leu His Asn Val Thr Lys Tyr Leu Arg Leu Pro
    370                 375                 380
Tyr Pro Phe Ser Asn Lys Gln Val Asp Lys Tyr Leu Leu Arg Pro Leu
385                 390                 395                 400
Gly Pro His Gly Leu Leu Ser Lys Ser Val Gln Leu Asn Gly Leu Thr
                405                 410                 415
Leu Lys Met Val Asp Asp Gln Thr Leu Pro Pro Leu Met Glu Lys Pro
            420                 425                 430
Leu Arg Pro Gly Ser Ser Leu Gly Leu Pro Ala Phe Ser Tyr Ser Phe
        435                 440                 445

Phe Val Ile Arg Asn Ala Lys Val Ala Ala Cys Ile
    450                 455                 460
```

<210> 157
<211> 4670
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-1

<400> 157

```
gcactcgctg gaaagcggct ccgagccagg ggctattgca aagccagggt gcgctaccgg 60
acggagaggg gagagccctg agcagagtga gcaacatcgc agccaaggcg gaggccgaag 120
aggggcgcca ggcaccaatc tccgcgttgc ctcagccccg gaggcgcccc agagcgcttc 180
ttgtcccagc agagccactc tgcctgcgcc tgcctctcag tgtctccaac tttgcgctgg 240
aagaaaaact tcccgcgcgc cggcagaact gcagcgcctc cttttagtga ctccgggagc 300
ttcggctgta gccggctctg cgcgcccttc caacgaataa tagaaattgt taattttaac 360
aatccagagc aggccaacga ggctttgctc tcccgacccg aactaaaggt ccctcgctcc 420
gtgcgctgct acgagcggtg tctcctgggg ctccaatgca gcgagctgtg cccgaggggt 480
tcggaaggcg caagctgggc agcgacatgg ggaacgcgga gcgggctccg gggtctcgga 540
gctttgggcc cgtacccacg ctgctgctgc tcgccgcggc gctactggcc gtgtcggacg 600
cactcgggcg cccctccgag gaggacgagg agctagtggt gccggagctg gagcgcgccc 660
cgggacacgg gaccacgcgc ctccgcctgc acgcctttga ccagcagctg gatctggagc 720
tgcggcccga cagcagcttt ttggcgcccg gcttcacgct ccagaacgtg gggcgcaaat 780
ccgggtccga gacgccgctt ccggaaaccg acctggcgca ctgcttctac tccggcaccg 840
tgaatggcga tcccagctcg gctgccgccc tcagcctctg cgagggcgtg cgcggcgcct 900
tctacctgct gggggaggcg tatttcatcc agccgctgcc cgccgccagc gagcgcctcg 960
ccaccgccgc cccaggggag aagccgccgg caccactaca gttccacctc ctgcggcgga 1020
atcggcaggg cgacgtcggc ggcacgtgcg gggtcgtgga cgacgagccc cggccgactg 1080
ggaaagcgga gaccgaagac gaggacgaag ggactgaggg cgaggacgaa ggggctcagt 1140
ggtcgccgca ggacccggca ctgcaaggcg taggacagcc cacaggaact ggaagcataa 1200
gaaagaagcg atttgtgtcc agtcaccgct atgtggaaac catgcttgtg gcagaccagt 1260
cgatggcaga attccacggc agtggtctaa agcattacct tctcacgttg ttttcggtgg 1320
cagccagatt gtacaaacac cccagcattc gtaattcagt tagcctggtg gtggtgaaga 1380
```

tcttggtcat ccacgatgaa cagaaggggc cggaagtgac ctccaatgct gccctcactc 1440
tgcggaactt ttgcaactgg cagaagcagc acaacccacc cagtgaccgg gatgcagagc 1500
actatgacac agcaattctt ttcaccagac aggacttgtg tgggtcccag acatgtgata 1560
ctcttgggat ggctgatgtt ggaactgtgt gtgatccgag cagaagctgc tccgtcatag 1620
aagatgatgg tttacaagct gccttcacca cagcccatga attaggccac gtgtttaaca 1680
tgccacatga tgatgcaaag cagtgtgcca gccttaatgg tgtgaaccag gattcccaca 1740
tgatggcgtc aatgctttcc aacctggacc acagccagcc ttggtctcct tgcagtgcct 1800
acatgattac atcatttctg gataatggtc atggggaatg tttgatggac aagcctcaga 1860
atcccataca gctcccaggc gatctccctg gcacctcgta cgatgccaac cggcagtgcc 1920
agtttacatt tggggaggac tccaaacact gccccgatgc agccagcaca tgtagcacct 1980
tgtggtgtac cggcacctct ggtggggtgc tggtgtgtca aaccaaacac ttcccgtggg 2040
cggatggcac cagctgtgga gaagggaaat ggtgtatcaa cggcaagtgt gtgaacaaaa 2100
ccgacagaaa gcattttgat acgccttttc atggaagctg gggaatgtgg gggccttggg 2160
gagactgttc gagaacgtgc ggtggaggag tccagtacac gatgagggaa tgtgacaacc 2220
cagtcccaaa gaatggaggg aagtactgtg aaggcaaacg agtgcgctac agatcctgta 2280
accttgagga ctgtccagac aataatggaa aaacctttag agaggaacaa tgtgaagcac 2340
acaacgagtt ttcaaaagct tcctttggga gtgggcctgc ggtggaatgg attcccaagt 2400
acgctggcgt ctcaccaaag gacaggtgca agctcatctg ccaagccaaa ggcattggct 2460
acttcttcgt tttgcagccc aaggttgtag atggtactcc atgtagccca gattccacct 2520
ctgtctgtgt gcaaggacag tgtgtaaaag ctggttgtga tcgcatcata gactccaaaa 2580
agaagtttga taaatgtggt gtttgcgggg gaaatggatc tacttgtaaa aaaatatcag 2640
gatcagttac tagtgcaaaa cctggatatc atgatatcat cacaattcca actggagcca 2700
ccaacatcga agtgaaacag cggaaccaga ggggatccag gaacaatggc agctttcttg 2760
ccatcaaagc tgctgatggc acatatattc ttaatggtga ctacactttg tccaccttag 2820
agcaagacat tatgtacaaa ggtgttgtct tgaggtacag cggctcctct gcggcattgg 2880
aaagaattcg cagctttagc cctctcaaag agcccttgac catccaggtt cttactgtgg 2940
gcaatgccct tcgacctaaa attaaataca cctacttcgt aaagaagaag aaggaatctt 3000
tcaatgctat ccccactttt tcagcatggg tcattgaaga gtggggcgaa tgttctaagt 3060
catgtgaatt gggttggcag agaagactgg tagaatgccg agacattaat ggacagcctg 3120
cttccgagtg tgcaaaggaa gtgaagccag ccagcaccag accttgtgca gaccatccct 3180
gcccccagtg gcagctgggg gagtggtcat catgttctaa gacctgtggg aagggttaca 3240
aaaaaagaag cttgaagtgt ctgtcccatg atggaggggt gttatctcat gagagctgtg 3300
atcctttaaa gaaacctaaa catttcatag acttttgcac aatggcagaa tgcagttaag 3360
tggtttaagt ggtgttagct ttgagggcaa ggcaaagtga ggaagggctg gtgcagggaa 3420
agcaagaagg ctggagggat ccagcgtatc ttgccagtaa ccagtgaggt gtatcagtaa 3480
ggtgggatta tgggggtaga tagaaaagga gttgaatcat cagagtaaac tgccagttgc 3540
aaatttgata ggatagttag tgaggattat taacctctga gcagtgatat agcataataa 3600
agccccgggc attattatta ttatttcttt tgttacatct attacaagtt tagaaaaaac 3660
aaagcaattg tcaaaaaaag ttagaactat tacaacccct gtttcctggt acttatcaaa 3720
tacttagtat catgggggtt gggaaatgaa aagtaggaga aaagtgagat tttactaaga 3780
cctgttttac tttacctcac taacaatggg gggagaaagg agtacaaata ggatctttga 3840
ccagcactgt ttatggctgc tatggtttca gagaatgttt atacattatt tctaccgaga 3900
attaaaactt cagattgttc aacatgagag aaaggctcag caacgtgaaa taacgcaaat 3960
ggcttcctct ttccttttt ggaccatctc agtctttatt tgtgtaattc attttgagga 4020
aaaaacaact ccatgtattt attcaagtgc attaaagtct acaatggaaa aaaagcagtg 4080
aagcattaga tgctggtaaa agctagagga gacacaatga gcttagtacc tccaacttcc 4140
tttctttcct accatgtaac cctgctttgg gaatatggat gtaaagaagt aacttgtgtc 4200
tcatgaaaat cagtacaatc acacaaggag gatgaaacgc cggaacaaaa atgaggtgtg 4260
tagaacaggg tcccacaggt ttggggacat tgagatcact tgtcttgtgg tggggaggct 4320
gctgaggggt agcaggtcca tctccagcag ctggtccaac agtcgtatcc tggtgaatgt 4380
ctgttcagct cttctgtgag aatatgattt tttccatatg tatatagtaa aatatgttac 4440
tataaattac atgtacttta taagtattgg tttgggtgtt ccttccaaga aggactatag 4500
ttagtaataa atgcctataa taacatattt atttttatac atttatttct aatgaaaaaa 4560
acttttaaat tatatcgctt ttgtggaagt gcatataaaa tagagtattt atacaatata 4620
tgttactaga aataaaagaa cacttttgga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4670

<210> 158

723

<211> 967
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS

<400> 158

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

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

```
Cys Ser Val Ile Glu Asp Asp Gly Leu Gln Ala Ala Phe Thr Thr Ala
385                 390                 395                 400
His Glu Leu Gly His Val Phe Asn Met Pro His Asp Asp Ala Lys Gln
                405                 410                 415
Cys Ala Ser Leu Asn Gly Val Asn Gln Asp Ser His Met Met Ala Ser
            420                 425                 430
Met Leu Ser Asn Leu Asp His Ser Gln Pro Trp Ser Pro Cys Ser Ala
        435                 440                 445
Tyr Met Ile Thr Ser Phe Leu Asp Asn Gly His Gly Glu Cys Leu Met
    450                 455                 460
Asp Lys Pro Gln Asn Pro Ile Gln Leu Pro Gly Asp Leu Pro Gly Thr
465                 470                 475                 480
Ser Tyr Asp Ala Asn Arg Gln Cys Gln Phe Thr Phe Gly Glu Asp Ser
                485                 490                 495
Lys His Cys Pro Asp Ala Ala Ser Thr Cys Ser Thr Leu Trp Cys Thr
            500                 505                 510
Gly Thr Ser Gly Gly Val Leu Val Cys Gln Thr Lys His Phe Pro Trp
        515                 520                 525
Ala Asp Gly Thr Ser Cys Gly Glu Gly Lys Trp Cys Ile Asn Gly Lys
    530                 535                 540

Cys Val Asn Lys Thr Asp Arg Lys His Phe Asp Thr Pro Phe His Gly
545                 550                 555                 560
Ser Trp Gly Met Trp Gly Pro Trp Gly Asp Cys Ser Arg Thr Cys Gly
                565                 570                 575
Gly Gly Val Gln Tyr Thr Met Arg Glu Cys Asp Asn Pro Val Pro Lys
            580                 585                 590
Asn Gly Gly Lys Tyr Cys Glu Gly Lys Arg Val Arg Tyr Arg Ser Cys
        595                 600                 605
Asn Leu Glu Asp Cys Pro Asp Asn Asn Gly Lys Thr Phe Arg Glu Glu
    610                 615                 620
Gln Cys Glu Ala His Asn Glu Phe Ser Lys Ala Ser Phe Gly Ser Gly
625                 630                 635                 640
Pro Ala Val Glu Trp Ile Pro Lys Tyr Ala Gly Val Ser Pro Lys Asp
                645                 650                 655
Arg Cys Lys Leu Ile Cys Gln Ala Lys Gly Ile Gly Tyr Phe Phe Val
            660                 665                 670
Leu Gln Pro Lys Val Val Asp Gly Thr Pro Cys Ser Pro Asp Ser Thr
        675                 680                 685
Ser Val Cys Val Gln Gly Gln Cys Val Lys Ala Gly Cys Asp Arg Ile
    690                 695                 700
Ile Asp Ser Lys Lys Lys Phe Asp Lys Cys Gly Val Cys Gly Gly Asn
705                 710                 715                 720
Gly Ser Thr Cys Lys Lys Ile Ser Gly Ser Val Thr Ser Ala Lys Pro
                725                 730                 735
Gly Tyr His Asp Ile Ile Thr Ile Pro Thr Gly Ala Thr Asn Ile Glu
            740                 745                 750
Val Lys Gln Arg Asn Gln Arg Gly Ser Arg Asn Asn Gly Ser Phe Leu
        755                 760                 765
Ala Ile Lys Ala Ala Asp Gly Thr Tyr Ile Leu Asn Gly Asp Tyr Thr
    770                 775                 780
Leu Ser Thr Leu Glu Gln Asp Ile Met Tyr Lys Gly Val Val Leu Arg
785                 790                 795                 800
Tyr Ser Gly Ser Ser Ala Ala Leu Glu Arg Ile Arg Ser Phe Ser Pro
                805                 810                 815
Leu Lys Glu Pro Leu Thr Ile Gln Val Leu Thr Val Gly Asn Ala Leu
            820                 825                 830
```

```
Arg Pro Lys Ile Lys Tyr Thr Tyr Phe Val Lys Lys Lys Lys Glu Ser
        835                 840                 845
Phe Asn Ala Ile Pro Thr Phe Ser Ala Trp Val Ile Glu Glu Trp Gly
    850                 855                 860
Glu Cys Ser Lys Ser Cys Glu Leu Gly Trp Gln Arg Arg Leu Val Glu
865                 870                 875                 880
Cys Arg Asp Ile Asn Gly Gln Pro Ala Ser Glu Cys Ala Lys Glu Val
                885                 890                 895
Lys Pro Ala Ser Thr Arg Pro Cys Ala Asp His Pro Cys Pro Gln Trp
            900                 905                 910
Gln Leu Gly Glu Trp Ser Ser Cys Ser Lys Thr Cys Gly Lys Gly Tyr
        915                 920                 925
Lys Lys Arg Ser Leu Lys Cys Leu Ser His Asp Gly Gly Val Leu Ser
    930                 935                 940
His Glu Ser Cys Asp Pro Leu Lys Lys Pro Lys His Phe Ile Asp Phe
945                 950                 955                 960
Cys Thr Met Ala Glu Cys Ser
                965
```

<210> 159
<211> 715
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-1 maduro

<400> 159

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

```
Leu Pro Gly Thr Ser Tyr Asp Ala Asn Arg Gln Cys Gln Phe Thr Phe
225                 230                 235                 240
Gly Glu Asp Ser Lys His Cys Pro Asp Ala Ala Ser Thr Cys Ser Thr
                245                 250                 255
Leu Trp Cys Thr Gly Thr Ser Gly Gly Val Leu Val Cys Gln Thr Lys
            260                 265                 270
His Phe Pro Trp Ala Asp Gly Thr Ser Cys Gly Glu Gly Lys Trp Cys
        275                 280                 285
Ile Asn Gly Lys Cys Val Asn Lys Thr Asp Arg Lys His Phe Asp Thr
    290                 295                 300
Pro Phe His Gly Ser Trp Gly Met Trp Gly Pro Trp Gly Asp Cys Ser
305                 310                 315                 320
Arg Thr Cys Gly Gly Gly Val Gln Tyr Thr Met Arg Glu Cys Asp Asn
                325                 330                 335
Pro Val Pro Lys Asn Gly Gly Lys Tyr Cys Glu Gly Lys Arg Val Arg
            340                 345                 350
Tyr Arg Ser Cys Asn Leu Glu Asp Cys Pro Asp Asn Asn Gly Lys Thr
        355                 360                 365
Phe Arg Glu Glu Gln Cys Glu Ala His Asn Glu Phe Ser Lys Ala Ser
    370                 375                 380

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

```
Gly Lys Gly Tyr Lys Lys Arg Ser Leu Lys Cys Leu Ser His Asp Gly
        675                 680                 685
Gly Val Leu Ser His Glu Ser Cys Asp Pro Leu Lys Lys Pro Lys His
    690                 695                 700
Phe Ile Asp Phe Cys Thr Met Ala Glu Cys Ser
705                 710                 715
```

<210> 160
<211> 3636
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-2

<400> 160

```
atggatccgc cggcgggagc cgctcgccgc ctgctctgcc ccgcgctgct gctgctgctg 60
ctgctgctgc cgccgccgct cctgccgccg ccgccgccgc ccgcgaacgc caggctcgcc 120
gccgccgccg acccccccagg cgggcccctg gggcacggag cggagcgcat cctggcggtg 180
cccgtgcgca ctgacgccca gggccgcttg gtgtcccacg tggtgtcggc agctacgtcc 240
agagcagggg tacgagcccg cagggccgcc ccggtccgga ccccgagctt ccccggaggc 300
aacgaggagg agcctggcag tcacctcttc tacaatgtca cggtctttgg ccgagacctg 360
cacctgcggc tgcggcccaa cgcccgcctc gtggcgcccg gggccactat ggagtggcag 420
ggcgagaagg gcaccacccg cgtggagccc ctgctcggga gctgtctcta cgtcggagac 480
gtggccggcc tagccgaagc ctcctctgtg gcgctcagca actgcgatgg gctggctggt 540
ctgatccgga tggaggagga ggagttcttc atcgaaccct tggagaaggg gctggcggcg 600
caggaggctg agcaaggccg tgtgcatgtg gtgtatcgcc ggccacccac gtcccctcct 660
ctcgggggggc cacaggccct ggacacaggg gcctccctgg acagcctgga cagcctcagc 720
cgcgccctgg gcgtcctaga ggagcacgcc aacagctcga ggcggagggc acgcaggcat 780
gctgcagacg atgactacaa catcgaggtc ctgctgggcg tggatgactc tgtggtgcag 840
ttccacggga aggagcacgt acagaagtac ctgctgacac tcatgaacat tgtcaatgaa 900
atctaccatg acgagtcctt gggtgcccac atcaacgtgg tcctggtgcg gatcatcctc 960
ctgagctatg gaaagtccat gagcctcatc gagatcggga acccctctca gagcctggag 1020
aatgtctgcc gctgggccta cctccagcag aagccagaca cgggccacga tgaataccac 1080
gatcacgcca tcttcctcac acggcaggac tttgggcctt ccggcatgca aggctatgct 1140
cctgtcaccg gcatgtgcca tccggtccgc agctgcaccc tgaaccatga ggacggcttc 1200
tcctcagcgt ttgtggtggc ccatgagact ggccacgtgc tgggcatgga gcacgacggg 1260
cagggcaacc gctgtggcga cgaggtgcgg ctgggcagca tcatggcgcc cctggtgcag 1320
gccgccttcc accgcttcca ctggtcccgc tgcagccagc aggagctgag ccgctacctg 1380
cactcctatg actgcctgct ggatgacccc ttcgcccacg actggccggc gctgccccag 1440
ctcccgggac tgcactactc catgaacgag caatgccgct ttgacttcgg cctgggctac 1500
atgatgtgca cggcgttccg gacctttgac ccctgcaagc agctgtggtg cagccatcct 1560
gacaacccct acttttgcaa gaccaagaag gggcccccct tggacgggac tatgtgtgca 1620
cctggcaagc attgttttaa aggacactgc atctggctga cacctgacat cctcaaacgg 1680
gacggcagct ggggcgcttg gagtccgttt ggctcctgct cacgtacctg tggcacgggc 1740
gtgaagttca ggacccgcca gtgtgacaac ccacacccgg ccaacggggg ccgcacctgc 1800
tcgggccttg cctacgactt ccagctctgc agccgccagg actgccccga ctccctggct 1860
gacttccgcg aggagcagtg ccgccagtgg gacctgtact tcgagcacgg cgacgcccag 1920
caccactggc tgccccacga gcaccgggat gccaaggaga gatgccacct gtactgcgag 1980
tccagggaga ccggggaggt ggtgtccatg aagcgcatgg tgcatgatgg gacgcgctgc 2040
tcctacaagg acgccttcag cctctgtgtg cgcggggact gcaggaaggt gggctgtgac 2100
ggtgtgatcg gctccagcaa gcaggaagac aagtgtggcg tgtgcggagg ggacaacagc 2160
cactgcaaag tggtcaaggg cacgttcaca cggtcaccca agaagcatgg ttacatcaag 2220
atgtttgaga tccctgcagg agccagacac ctgctcattc aggaggtaga cgccaccagc 2280
caccatctgg ccgtcaagaa cctggagaca ggcaagttca tcttaaatga agagaatgac 2340
gtggatgcca gttccaaaac cttcattgcc atgggcgtgg agtgggagta cagagacgag 2400
```

```
gacggccggg agacgctgca gaccatgggc cccctccacg gcaccatcac cgttctggtc 2460
atcccggtgg gagacacccg ggtctcactg acgtacaaat acatgatcca tgaggactca 2520
ctgaatgtcg atgacaacaa cgtcctggaa gaggactctg tggtctacga gtgggccctg 2580
aagaagtggt ctccgtgctc caagccctgt ggcggagggt cccagttcac caagtatggc 2640
tgccgccgga ggctggacca caagatggta caccgtggct tctgtgccgc cctctcgaag 2700
cccaaagcca tccgcagagc gtgcaaccca caggaatgct cccagccagt gtgggtcaca 2760
ggcgaatggg agccatgtag ccagacctgt gggcggacag gcatgcaggt gcgctccgtg 2820
cgctgcattc agccgctaca cgacaacacc acccgctccg tgcacgccaa gcactgcaat 2880
gacgcccggc ccgagagccg ccgggcctgc agccgcgagc tctgccctgg tcgttggcga 2940
gccgggccct ggtcccagtg ctcagtaacc tgtggcaacg gcacccagga gcggccagtg 3000
ccctgccgca ccgcggacga cagcttcggc atctgccagg aggagcgtcc tgagacagcg 3060
aggacctgca ggcttggccc ctgtccccga aacatctcag atccctccaa gaagagctac 3120
gtagttcagt ggctgtcccg cccggacccc gactcgccca tccggaagat ctcgtcaaag 3180
ggccactgcc aaggcgacaa gtcaatattc tgtaggatgg aagtcttgtc ccgctattgc 3240
tccatcccag gctacaacaa gctgtcctgc aagtcctgta acctgtacaa caacctcacc 3300
aacgtggagg gcaggataga gccaccgcct gggaagcaca acgacattga cgtgttcatg 3360
cctaccctcc cagtgcccac tgtagccatg gaggtgcggc catcaccaag caccccccctg 3420
gaggtccctc tcaatgcctc cagcaccaat gccacagagg atcacccaga aaccaatgcc 3480
gtagatgaac cctacaaaat ccatggcctg gaagatgaag tccagccacc caacctaatc 3540
cctcgacgac cgagccccta tgaaaagacc agaaaccaaa gaatccaaga gctcattgat 3600
gagatgcgga agaaagagat gctcggaaag ttctaa                          3636
```

<210> 161
<211> 1211
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS-2

<400> 161

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

```
His Val Val Tyr Arg Arg Pro Pro Thr Ser Pro Pro Leu Gly Gly Pro
    210                 215                 220
Gln Ala Leu Asp Thr Gly Ala Ser Leu Asp Ser Leu Asp Ser Leu Ser
225                 230                 235                 240
Arg Ala Leu Gly Val Leu Glu Glu His Ala Asn Ser Ser Arg Arg Arg
                245                 250                 255
Ala Arg Arg His Ala Ala Asp Asp Asp Tyr Asn Ile Glu Val Leu Leu
            260                 265                 270
Gly Val Asp Asp Ser Val Val Gln Phe His Gly Lys Glu His Val Gln
        275                 280                 285
Lys Tyr Leu Leu Thr Leu Met Asn Ile Val Asn Glu Ile Tyr His Asp
    290                 295                 300
Glu Ser Leu Gly Ala His Ile Asn Val Val Leu Val Arg Ile Ile Leu
305                 310                 315                 320
Leu Ser Tyr Gly Lys Ser Met Ser Leu Ile Glu Ile Gly Asn Pro Ser
                325                 330                 335
Gln Ser Leu Glu Asn Val Cys Arg Trp Ala Tyr Leu Gln Gln Lys Pro
            340                 345                 350
Asp Thr Gly His Asp Glu Tyr His Asp His Ala Ile Phe Leu Thr Arg
        355                 360                 365

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

730

Leu Tyr Cys Glu Ser Arg Glu Thr Gly Glu Val Val Ser Met Lys Arg
660 665 670
Met Val His Asp Gly Thr Arg Cys Ser Tyr Lys Asp Ala Phe Ser Leu
675 680 685
Cys Val Arg Gly Asp Cys Arg Lys Val Gly Cys Asp Gly Val Ile Gly
690 695 700
Ser Ser Lys Gln Glu Asp Lys Cys Gly Val Cys Gly Gly Asp Asn Ser
705 710 715 720
His Cys Lys Val Val Lys Gly Thr Phe Thr Arg Ser Pro Lys Lys His
725 730 735
Gly Tyr Ile Lys Met Phe Glu Ile Pro Ala Gly Ala Arg His Leu Leu
740 745 750
Ile Gln Glu Val Asp Ala Thr Ser His His Leu Ala Val Lys Asn Leu
755 760 765
Glu Thr Gly Lys Phe Ile Leu Asn Glu Glu Asn Asp Val Asp Ala Ser
770 775 780
Ser Lys Thr Phe Ile Ala Met Gly Val Glu Trp Glu Tyr Arg Asp Glu
785 790 795 800
Asp Gly Arg Glu Thr Leu Gln Thr Met Gly Pro Leu His Gly Thr Ile
805 810 815

Thr Val Leu Val Ile Pro Val Gly Asp Thr Arg Val Ser Leu Thr Tyr
820 825 830
Lys Tyr Met Ile His Glu Asp Ser Leu Asn Val Asp Asp Asn Asn Val
835 840 845
Leu Glu Glu Asp Ser Val Val Tyr Glu Trp Ala Leu Lys Lys Trp Ser
850 855 860
Pro Cys Ser Lys Pro Cys Gly Gly Gly Ser Gln Phe Thr Lys Tyr Gly
865 870 875 880
Cys Arg Arg Arg Leu Asp His Lys Met Val His Arg Gly Phe Cys Ala
885 890 895
Ala Leu Ser Lys Pro Lys Ala Ile Arg Arg Ala Cys Asn Pro Gln Glu
900 905 910
Cys Ser Gln Pro Val Trp Val Thr Gly Glu Trp Glu Pro Cys Ser Gln
915 920 925
Thr Cys Gly Arg Thr Gly Met Gln Val Arg Ser Val Arg Cys Ile Gln
930 935 940
Pro Leu His Asp Asn Thr Thr Arg Ser Val His Ala Lys His Cys Asn
945 950 955 960
Asp Ala Arg Pro Glu Ser Arg Arg Ala Cys Ser Arg Glu Leu Cys Pro
965 970 975
Gly Arg Trp Arg Ala Gly Pro Trp Ser Gln Cys Ser Val Thr Cys Gly
980 985 990
Asn Gly Thr Gln Glu Arg Pro Val Pro Cys Arg Thr Ala Asp Asp Ser
995 1000 1005
Phe Gly Ile Cys Gln Glu Glu Arg Pro Glu Thr Ala Arg Thr Cys Arg
1010 1015 1020
Leu Gly Pro Cys Pro Arg Asn Ile Ser Asp Pro Ser Lys Lys Ser Tyr
1025 1030 1035 1040
Val Val Gln Trp Leu Ser Arg Pro Asp Pro Asp Ser Pro Ile Arg Lys
1045 1050 1055
Ile Ser Ser Lys Gly His Cys Gln Gly Asp Lys Ser Ile Phe Cys Arg
1060 1065 1070
Met Glu Val Leu Ser Arg Tyr Cys Ser Ile Pro Gly Tyr Asn Lys Leu
1075 1080 1085
Ser Cys Lys Ser Cys Asn Leu Tyr Asn Asn Leu Thr Asn Val Glu Gly
1090 1095 1100

```
Arg Ile Glu Pro Pro Pro Gly Lys His Asn Asp Ile Asp Val Phe Met
1105                1110                1115                1120
Pro Thr Leu Pro Val Pro Thr Val Ala Met Glu Val Arg Pro Ser Pro
                1125                1130                1135
Ser Thr Pro Leu Glu Val Pro Leu Asn Ala Ser Ser Thr Asn Ala Thr
            1140                1145                1150
Glu Asp His Pro Glu Thr Asn Ala Val Asp Glu Pro Tyr Lys Ile His
        1155                1160                1165
Gly Leu Glu Asp Glu Val Gln Pro Pro Asn Leu Ile Pro Arg Arg Pro
    1170                1175                1180
Ser Pro Tyr Glu Lys Thr Arg Asn Gln Arg Ile Gln Glu Leu Ile Asp
1185                1190                1195                1200
Glu Met Arg Lys Lys Glu Met Leu Gly Lys Phe
                1205                1210
```

<210> 162
<211> 958
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-2 maduro

<400> 162

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

```
Asp Pro Cys Lys Gln Leu Trp Cys Ser His Pro Asp Asn Pro Tyr Phe
            260                 265                 270
Cys Lys Thr Lys Lys Gly Pro Pro Leu Asp Gly Thr Met Cys Ala Pro
        275                 280                 285
Gly Lys His Cys Phe Lys Gly His Cys Ile Trp Leu Thr Pro Asp Ile
    290                 295                 300
Leu Lys Arg Asp Gly Ser Trp Gly Ala Trp Ser Pro Phe Gly Ser Cys
305                 310                 315                 320
Ser Arg Thr Cys Gly Thr Gly Val Lys Phe Arg Thr Arg Gln Cys Asp
                325                 330                 335
Asn Pro His Pro Ala Asn Gly Gly Arg Thr Cys Ser Gly Leu Ala Tyr
            340                 345                 350
Asp Phe Gln Leu Cys Ser Arg Gln Asp Cys Pro Asp Ser Leu Ala Asp
        355                 360                 365
Phe Arg Glu Glu Gln Cys Arg Gln Trp Asp Leu Tyr Phe Glu His Gly
    370                 375                 380
Asp Ala Gln His His Trp Leu Pro His Glu His Arg Asp Ala Lys Glu
385                 390                 395                 400
Arg Cys His Leu Tyr Cys Glu Ser Arg Glu Thr Gly Glu Val Val Ser
                405                 410                 415

Met Lys Arg Met Val His Asp Gly Thr Arg Cys Ser Tyr Lys Asp Ala
            420                 425                 430
Phe Ser Leu Cys Val Arg Gly Asp Cys Arg Lys Val Gly Cys Asp Gly
        435                 440                 445
Val Ile Gly Ser Ser Lys Gln Glu Asp Lys Cys Gly Val Cys Gly Gly
    450                 455                 460
Asp Asn Ser His Cys Lys Val Val Lys Gly Thr Phe Thr Arg Ser Pro
465                 470                 475                 480
Lys Lys His Gly Tyr Ile Lys Met Phe Glu Ile Pro Ala Gly Ala Arg
                485                 490                 495
His Leu Leu Ile Gln Glu Val Asp Ala Thr Ser His His Leu Ala Val
            500                 505                 510
Lys Asn Leu Glu Thr Gly Lys Phe Ile Leu Asn Glu Glu Asn Asp Val
        515                 520                 525
Asp Ala Ser Ser Lys Thr Phe Ile Ala Met Gly Val Glu Trp Glu Tyr
    530                 535                 540
Arg Asp Glu Asp Gly Arg Glu Thr Leu Gln Thr Met Gly Pro Leu His
545                 550                 555                 560
Gly Thr Ile Thr Val Leu Val Ile Pro Val Gly Asp Thr Arg Val Ser
                565                 570                 575
Leu Thr Tyr Lys Tyr Met Ile His Glu Asp Ser Leu Asn Val Asp Asp
            580                 585                 590
Asn Asn Val Leu Glu Glu Asp Ser Val Val Tyr Glu Trp Ala Leu Lys
        595                 600                 605
Lys Trp Ser Pro Cys Ser Lys Pro Cys Gly Gly Gly Ser Gln Phe Thr
    610                 615                 620
Lys Tyr Gly Cys Arg Arg Arg Leu Asp His Lys Met Val His Arg Gly
625                 630                 635                 640
Phe Cys Ala Ala Leu Ser Lys Pro Lys Ala Ile Arg Arg Ala Cys Asn
                645                 650                 655
Pro Gln Glu Cys Ser Gln Pro Val Trp Val Thr Gly Glu Trp Glu Pro
            660                 665                 670
Cys Ser Gln Thr Cys Gly Arg Thr Gly Met Gln Val Arg Ser Val Arg
        675                 680                 685
Cys Ile Gln Pro Leu His Asp Asn Thr Thr Arg Ser Val His Ala Lys
    690                 695                 700
```

```
His Cys Asn Asp Ala Arg Pro Glu Ser Arg Arg Ala Cys Ser Arg Glu
705                 710                 715                 720
Leu Cys Pro Gly Arg Trp Arg Ala Gly Pro Trp Ser Gln Cys Ser Val
                725                 730                 735
Thr Cys Gly Asn Gly Thr Gln Glu Arg Pro Val Pro Cys Arg Thr Ala
            740                 745                 750
Asp Asp Ser Phe Gly Ile Cys Gln Glu Glu Arg Pro Glu Thr Ala Arg
        755                 760                 765
Thr Cys Arg Leu Gly Pro Cys Pro Arg Asn Ile Ser Asp Pro Ser Lys
    770                 775                 780
Lys Ser Tyr Val Val Gln Trp Leu Ser Arg Pro Asp Pro Asp Ser Pro
785                 790                 795                 800
Ile Arg Lys Ile Ser Ser Lys Gly His Cys Gln Gly Asp Lys Ser Ile
                805                 810                 815
Phe Cys Arg Met Glu Val Leu Ser Arg Tyr Cys Ser Ile Pro Gly Tyr
            820                 825                 830
Asn Lys Leu Ser Cys Lys Ser Cys Asn Leu Tyr Asn Asn Leu Thr Asn
        835                 840                 845
Val Glu Gly Arg Ile Glu Pro Pro Pro Gly Lys His Asn Asp Ile Asp
    850                 855                 860

Val Phe Met Pro Thr Leu Pro Val Pro Thr Val Ala Met Glu Val Arg
865                 870                 875                 880
Pro Ser Pro Ser Thr Pro Leu Glu Val Pro Leu Asn Ala Ser Ser Thr
                885                 890                 895
Asn Ala Thr Glu Asp His Pro Glu Thr Asn Ala Val Asp Glu Pro Tyr
            900                 905                 910
Lys Ile His Gly Leu Glu Asp Glu Val Gln Pro Pro Asn Leu Ile Pro
        915                 920                 925
Arg Arg Pro Ser Pro Tyr Glu Lys Thr Arg Asn Gln Arg Ile Gln Glu
    930                 935                 940
Leu Ile Asp Glu Met Arg Lys Lys Glu Met Leu Gly Lys Phe
945                 950                 955
```

<210> 163
<211> 5821
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-3

<400> 163

```
gctttgccca gtagttggaa agtgaactcg actcgtgatg gttctcctgt cactttggtt 60
gatagcagcc gctctggtag aggttaggac ttcagctgat ggacaagctg gtaatgaaga 120
aatggtgcaa atagatttac caataaagag atatagagag tatgagctgg tgactccagt 180
cagcacaaat ctagaaggac gctatctctc ccatactctt tctgcgagtc acaaaaagag 240
gtcagcgagg gacgtgtctt ccaaccctga gcagttgttc tttaacatca cggcatttgg 300
aaaagatttt catctgcgac taaagcccaa cactcaacta gtagctcctg gggctgttgt 360
ggagtggcat gagacatctc tggtgcctgg gaatataacc gatcccatta acaaccatca 420
accaggaagt gctacgtata gaatccggaa aacagagcct ttgcagacta actgtgctta 480
tgttggtgac atcgtggaca ttccaggaac ctctgttgcc atcagcaact gtgatggtct 540
ggctggaatg ataaaaagtg ataatgaaga gtatttcatt gaacccttgg aaagaggtaa 600
acagatggag gaagaaaaag gaaggattca tgttgtctac aagagatcag ctgtagaaca 660
ggctcccata gacatgtcca aagacttcca ctacagagag tcggacctgg aaggccttga 720
tgatctaggt actgtttatg gcaacatcca ccagcagctg aatgaaacaa tgagacgccg 780
```

734

cagacacgcg ggagaaaacg attacaatat cgaggtactg ctgggagtgg atgactctgt 840
ggtccgtttc catggcaaag agcacgtcca aaactacctc ctgaccctaa tgaacattgt 900
gaatgaaatt taccatgatg agtccctcgg agtgcatata aatgtggtcc tggtgcgcat 960
gataatgctg ggatatgcaa agtccatcag cctcatagaa aggggaaacc catccagaag 1020
cttggagaat gtgtgtcgct gggcgtccca acagcaaaga tctgatctca accactctga 1080
acaccatgac catgcaattt ttttaaccag gcaagacttt ggacctgctg gaatgcaagg 1140
atatgctcca gtcaccggca tgtgtcatcc agtgagaagt tgtaccctga atcatgagga 1200
tggtttttca tctgcttttg tagtagccca tgaaacgggc catgtgttgg gaatggagca 1260
tgatggacaa ggcaacaggt gtggtgatga gactgctatg ggaagtgtca tggctccctt 1320
ggtacaagca gcattccatc gttaccactg gtcccgatgc agtggtcaag aactgaaaag 1380
atatatccat tcctatgact gtctccttga tgacccttt gatcatgatt ggcctaaact 1440
cccagaactt cctggaatca attattctat ggatgagcaa tgtcgttttg attttggtgt 1500
tggctataaa atgtgcaccg cgttccgaac ctttgaccca tgtaaacagc tgtggtgtag 1560
ccatcctgat aatccctact tttgtaagac taaaaaggga cctccacttg atgggactga 1620
atgtgctgct ggaaaatggt gctataaggg tcattgcatg tggaagaatg ctaatcagca 1680
aaaacaagat ggcaattggg ggtcatggac taaatttggc tcctgttctc ggacatgtgg 1740
aactggtgtt cgtttcagaa cacgccagtg caataatccc atgcccatca atggtggtca 1800
ggattgtcct ggtgttaatt ttgagtacca gctttgtaac acagaagaat gccaaaaaca 1860
ctttgaggac ttcagagcac agcagtgtca gcagcgaaac tcccactttg aataccagaa 1920
taccaaacac cactggttgc catatgaaca tcctgacccc aagaaaagat gccaccttta 1980
ctgtcagtcc aaggagactg gagatgttgc ttacatgaaa caactggtgc atgatggaac 2040
gcactgttct tacaaagatc catatagcat atgtgtgcga ggagagtgtg tgaaagtggg 2100
ctgtgataaa gaaattggtt ctaataaggt tgaggataag tgtggtgtct gtggaggaga 2160
taattcccac tgccgaaccg tgaaggggac atttaccaga actcccagga agcttgggta 2220
ccttaagatg tttgatatac cccctggggc tagacatgtg ttaatccaag aagacgaggc 2280
ttctcctcat attcttgcta ttaagaacca ggctacaggc cattatattt taaatggcaa 2340
aggggaggaa gccaagtcgc ggaccttcat agatcttggt gtggagtggg attataacat 2400
tgaagatgac attgaaagtc ttcacaccga tggaccttta catgatcctg ttattgtttt 2460
gattatacct caagaaaatg atacccgctc tagcctgaca tataagtaca tcatccatga 2520
agactctgta cctacaatca acagcaacaa tgtcatccag gaagaattag atacttttga 2580
gtgggctttg aagagctggt ctcagtgttc caaaccctgt ggtggaggtt tccagtacac 2640
taaatatgga tgccgtagga aaagtgataa taaaatggtc catcgcagct tctgtgaggc 2700
caacaaaaag ccgaaaccta ttagacgaat gtgcaatatt caagagtgta cacatccact 2760
ctgggtagca gaagaatggg aacactgcac caaaacctgt ggaagttctg gctatcagct 2820
tcgcactgta cgctgccttc agccactcct tgatggcacc aaccgctctg tgcacagcaa 2880
atactgcatg ggtgaccgtc ccgagagccg ccggccctgt aacagagtgc cctgccctgc 2940
acagtggaaa acaggaccct ggagtgagtg ttcagtgacc tgcggtgaag gaacggaggt 3000
gaggcaggtc ctctgcaggg ctggggacca ctgtgatggt gaaaagcctg agtcggtcag 3060
agcctgtcaa ctgcctcctt gtaatgatga accatgtttg ggagacaagt ccatattctg 3120
tcaaatggaa gtgttggcac gatactgctc cataccaggt tataacaagt tatgttgtga 3180
gtcctgcagc aagcgcagta gcaccctgcc accaccatac cttctagaag ctgctgaaac 3240
tcatgatgat gtcatctcta accctagtga cctccctaga tctctagtga tgcctacatc 3300
tttggttcct tatcattcag agacccctgc aaagaagatg tctttgagta gcatctcttc 3360
agtgggaggt ccaaatgcat atgctgcttt caggccaaac agtaaacctg atggtgctaa 3420
tttacgccag aggagtgctc agcaagcagg aagtaagact gtgagactgg tcaccgtacc 3480
atcctcccca cccaccaaga gggtccacct cagttcagct tcacaaatgg ctgctgcttc 3540
cttctttgca gccagtgatt caataggtgc ttcttctcag gcaagaacct caaagaaaga 3600
tggaaagatc attgacaaca gacgtccgac aagatcatcc accttagaaa gatgagaaag 3660
tgaaccaaaa aggctagaaa ccagaggaaa acctggacaa cctctctctt cccatggtgc 3720
atatgcttgt ttaaagtgga aatctctata gatcgtcagc tcattttatc tgtaattgga 3780
agaacagaaa gtgctggctc actttctagt tgctttcatc ctccttttgt tctgcattga 3840
ctcatttacc agaattcatt ggaagaaatc accaaagatt attacaaaag aaaaatatgt 3900
tgctaagatt gtgttggtcg ctctctgaag cagaaaaggg actggaacca attgtgcata 3960
tcagctgact ttttgtttgt tttagaaaag ttacagtaaa aattaaaaag agataccaat 4020
ggtttacact ttaacaagaa attttggata tggaacaaag aattcttaga cttgtattcc 4080
tatttatcta tattagaaat attgtatgag caaatttgca gctgttgtgt aaatactgta 4140
tattgcaaaa atcagtatta ttttaagaga tgtgttctca aatgattgtt tactatatta 4200

```
catttctgga tgttctaggt gcctgtcgtt gagtattgcc ttgtttgaca ttctataggt 4260
taattttcaa agcagagtat tacaaaagag aagttagaat tacagctact gacaatataa 4320
agggttttgt tgaatcaaca atgtgatacg taaattatag aaaaagaaaa gaaacacaaa 4380
agctatagat atacagatat cagcttacct attgccttct atacttataa tttaaaggat 4440
tggtgtctta gtacacttgt ggtcacaggg atcaacgaat agtaaataat gaactcgtgc 4500
aagacaaaac tgaaaccctc tttccaggac ctcagtaggc accgttgagg tgtcctttgt 4560
ttttgtgtgt gtgtgttctt ttttaatttt cgcattgttg acagatacaa acagttatac 4620
tcaatgtact gtaataatcg caaaggaaaa agttttggga taacttattt gtatgttggt 4680
agctgagaaa aatatcatca gtctagaatt gatatttgag tatagtagag ctttggggct 4740
ttgaaggcag gttcaagaaa gcatatgtcg atggttgaga tatttatttt ccatatggtt 4800
catgttcaaa tgttcacaac cacaatgcat ctgactgcaa taatgtgcta ataatttatg 4860
tcagtagtca ccttgctcac agcaaagcca gaaatgctct ctccagggag tagatgtaaa 4920
gtacttgtac atagaattca gaactgaaga tatttattaa aagttgattt tttttcttga 4980
tagtattttt atgtactaaa tatttacact aatatcaatt acatattttg gtaaactaga 5040
gagacataat tagagatgca tgctttgttc tgtgcataga gacctttaag caaactacta 5100
cagccaactc aaaagctaaa actgaacaaa tttgatgtta tgcaaacatc ttgcattttt 5160
agtagttgat attaagttga tgacttgttt cccttcaagg aaacattaaa ttgtatggac 5220
tcagctagct gttcaatgaa attgtgaatt agaaacattt ttaaaagttt ttgaaagaga 5280
taagtgcatc atgaattaca tgtacatgag aggagatagt gatatcagca taatgatttt 5340
gaggtcagta cctgagctgt ctaaaaatat attatacaaa ctaaaatgta gatgaattaa 5400
cctctcaaag cacagaatgt gcaagaactt ttgcatttta atcgttgtaa actaacagct 5460
taaactattg actctatacc tctaaagaat tgctgctact ttgtgcaaga actttgaagg 5520
tcaaattagg caaattccag atagtaaaac aatccctaag ccttaagtct ttttttttc 5580
ctaaaaattc ccatagaata aaattctctc tagtttactt gtgtgtgcat acatctcatc 5640
cacaggggaa gataaagatg gtcacacaaa cagtttccat aaagatgtac atattcatta 5700
tacttctgac ctttgggctt tcttttctac taagctaaaa attccttttt atcaaagtgt 5760
acactactga tgctgtttgt tgtactgaga gcacgtacca ataaaaatgt taacaaaata 5820
t                                                                  5821
```

<210> 164
<211> 1205
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS-3

<400> 164

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

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

232

```
Gln Cys Asn Asn Pro Met Pro Ile Asn Gly Gly Gln Asp Cys Pro Gly
            580                 585                 590
Val Asn Phe Glu Tyr Gln Leu Cys Asn Thr Glu Glu Cys Gln Lys His
        595                 600                 605
Phe Glu Asp Phe Arg Ala Gln Gln Cys Gln Gln Arg Asn Ser His Phe
    610                 615                 620
Glu Tyr Gln Asn Thr Lys His His Trp Leu Pro Tyr Glu His Pro Asp
625                 630                 635                 640
Pro Lys Lys Arg Cys His Leu Tyr Cys Gln Ser Lys Glu Thr Gly Asp
                645                 650                 655
Val Ala Tyr Met Lys Gln Leu Val His Asp Gly Thr His Cys Ser Tyr
            660                 665                 670
Lys Asp Pro Tyr Ser Ile Cys Val Arg Gly Glu Cys Val Lys Val Gly
        675                 680                 685
Cys Asp Lys Glu Ile Gly Ser Asn Lys Val Glu Asp Lys Cys Gly Val
    690                 695                 700
Cys Gly Gly Asp Asn Ser His Cys Arg Thr Val Lys Gly Thr Phe Thr
705                 710                 715                 720
Arg Thr Pro Arg Lys Leu Gly Tyr Leu Lys Met Phe Asp Ile Pro Pro
                725                 730                 735
Gly Ala Arg His Val Leu Ile Gln Glu Asp Glu Ala Ser Pro His Ile
            740                 745                 750

Leu Ala Ile Lys Asn Gln Ala Thr Gly His Tyr Ile Leu Asn Gly Lys
        755                 760                 765
Gly Glu Glu Ala Lys Ser Arg Thr Phe Ile Asp Leu Gly Val Glu Trp
    770                 775                 780
Asp Tyr Asn Ile Glu Asp Asp Ile Glu Ser Leu His Thr Asp Gly Pro
785                 790                 795                 800
Leu His Asp Pro Val Ile Val Leu Ile Ile Pro Gln Glu Asn Asp Thr
                805                 810                 815
Arg Ser Ser Leu Thr Tyr Lys Tyr Ile Ile His Glu Asp Ser Val Pro
            820                 825                 830
Thr Ile Asn Ser Asn Asn Val Ile Gln Glu Glu Leu Asp Thr Phe Glu
        835                 840                 845
Trp Ala Leu Lys Ser Trp Ser Gln Val Ser Lys Pro Cys Gly Gly Gly
    850                 855                 860
Phe Gln Tyr Thr Lys Tyr Gly Cys Arg Arg Lys Ser Asp Asn Lys Met
865                 870                 875                 880
Val His Arg Ser Phe Cys Glu Ala Asn Lys Lys Pro Lys Pro Ile Arg
                885                 890                 895
Arg Met Cys Asn Ile Gln Glu Cys Thr His Pro Leu Trp Val Ala Glu
            900                 905                 910
Glu Trp Glu His Cys Thr Lys Thr Cys Gly Ser Ser Gly Tyr Gln Leu
        915                 920                 925
Arg Thr Val Arg Cys Leu Gln Pro Leu Leu Asp Gly Thr Asn Arg Ser
    930                 935                 940
Val His Ser Lys Tyr Cys Met Gly Asp Arg Pro Glu Ser Arg Arg Pro
945                 950                 955                 960
Cys Asn Arg Val Pro Cys Pro Ala Gln Trp Lys Thr Gly Pro Trp Ser
                965                 970                 975
Glu Cys Ser Val Thr Cys Gly Glu Gly Thr Glu Val Arg Gln Val Leu
            980                 985                 990
Cys Arg Ala Gly Asp His Cys Asp Gly Glu Lys Pro Glu Ser Val Arg
        995                 1000                1005
Ala Cys Gln Leu Pro Pro Cys Asn Asp Glu Pro Cys Leu Gly Asp Lys
    1010                1015                1020
```

738

```
Ser Ile Phe Cys Gln Met Glu Val Leu Ala Arg Tyr Cys Ser Ile Pro
1025                1030                1035                1040
Gly Tyr Asn Lys Leu Cys Cys Glu Ser Cys Ser Lys Arg Ser Ser Thr
                1045                1050                1055
Leu Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Glu Ala Ala Glu Thr His Asp Asp Val
            1060                1065                1070
Ile Ser Asn Pro Ser Asp Leu Pro Arg Ser Leu Val Met Pro Thr Ser
        1075                1080                1085
Leu Val Pro Tyr His Ser Glu Thr Pro Ala Lys Lys Met Ser Leu Ser
    1090                1095                1100
Ser Ile Ser Ser Val Gly Gly Pro Asn Ala Tyr Ala Ala Phe Arg Pro
1105                1110                1115                1120
Asn Ser Lys Pro Asp Gly Ala Asn Leu Arg Gln Arg Ser Ala Gln Gln
                1125                1130                1135
Ala Gly Ser Lys Thr Val Arg Leu Val Thr Val Pro Ser Ser Pro Pro
            1140                1145                1150
Thr Lys Arg Val His Leu Ser Ser Ala Ser Gln Met Ala Ala Ala Ser
        1155                1160                1165
Phe Phe Ala Ala Ser Asp Ser Ile Gly Ala Ser Ser Gln Ala Arg Thr
    1170                1175                1180
Ser Lys Lys Asp Gly Lys Ile Ile Asp Asn Arg Arg Pro Thr Arg Ser
1185                1190                1195                1200

Ser Thr Leu Glu Arg
                1205
```

<210> 165
<211> 4342
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-4

<400> 165

```
gggagaaccc acagggagac ccacagacac atatgcacga gagagacaga ggaggaaaga 60
gacagagaca aaggcacagc ggaagaaggc agagacaggg caggcacaga agcggcccag 120
acagagtcct acagagggag aggccagaga agctgcagaa gacacaggca gggagagaca 180
aagatccagg aaaggagggc tcaggaggag agtttggaga agccagaccc ctgggcacct 240
ctcccaagcc caaggactaa gttttctcca tttcctttaa cggtcctcag cccttctgaa 300
aactttgcct ctgaccttgg caggagtcca agcccccagg ctacagagag gagctttcca 360
aagctagggt gtggaggact tggtgcccta gacggcctca gtccctccca gctgcagtac 420
cagtgccatg tcccagacag gctcgcatcc cgggaggggc ttggcagggc gctggctgtg 480
gggagcccaa ccctgcctcc tgctccccat tgtgccgctc tcctggctgg tgtggctgct 540
tctgctactg ctggcctctc tcctgccctc agcccggctg gccagccccc tcccccggga 600
ggaggagatc gtgtttccag agaagctcaa cggcagcgtc ctgcctggct cgggcgcccc 660
tgccaggctg ttgtgccgct tgcaggcctt tggggagacg ctgctactag agctggagca 720
ggactccggt gtgcaggtcg aggggctgac agtgcagtac ctgggccagg cgcctgagct 780
gctgggtgga gcagagcctg gcacctacct gactggcacc atcaatggag atccggagtc 840
ggtggcatct ctgcactggg atgggggagc cctgttaggc gtgttacaat atcgggggggc 900
tgaactccac ctccagcccc tggagggagg cacccctaac tctgctgggg gacctggggc 960
tcacatccta cgccggaaga gtcctgccag cggtcaaggt cccatgtgca acgtcaaggc 1020
tcctcttgga agccccagcc ccagaccccg aagagccaag cgctttgctt cactgagtag 1080
atttgtggag acactggtgg tggcagatga caagatggcc gcattccacg gtgcggggct 1140
aaagcgctac ctgctaacag tgatggcagc agcagccaag gccttcaagc acccaagcat 1200
ccgcaatcct gtcagcttgg tggtgactcg gctagtgatc ctggggtcag gcgaggaggg 1260
gccccaagtg gggcccagtg ctgcccagac cctgcgcagc ttctgtgcct ggcagcgggg 1320
```

739

cctcaacacc cctgaggact cggaccctga ccactttgac acagccattc tgtttacccg 1380
tcaggacctg tgtggagtct ccacttgcga cacgctgggt atggctgatg tgggcaccgt 1440
ctgtgacccg gctcggagct gtgccattgt ggaggatgat gggctccagt cagccttcac 1500
tgctgctcat gaactgggtc atgtcttcaa catgctccat gacaactcca agccatgcat 1560
cagtttgaat gggcctttga gcacctctcg ccatgtcatg gcccctgtga tggctcatgt 1620
ggatcctgag gagccctggt ccccctgcag tgcccgcttc atcactgact tcctggacaa 1680
tggctatggg cactgtctct tagacaaacc agaggctcca ttgcatctgc ctgtgacttt 1740
ccctggcaag gactatgatg ctgaccgcca gtgccagctg accttcgggc ccgactcacg 1800
ccattgtcca cagctgccgc cgccctgtgc tgccctctgg tgctctggcc acctcaatgg 1860
ccatgccatg tgccagacca aacactcgcc ctgggccgat ggcacaccct gcgggcccgc 1920
acaggcctgc atgggtggtc gctgcctcca catggaccag ctccaggact tcaatattcc 1980
acaggctggt ggctggggtc cttggggacc atggggtgac tgctctcgga cctgtggggg 2040
tggtgtccag ttctcctccc gagactgcac gaggcctgtc ccccggaatg gtggcaagta 2100
ctgtgagggc cgccgtaccc gcttccgctc ctgcaacact gaggactgcc caactggctc 2160
agccctgacc ttccgcgagg agcagtgtgc tgcctacaac caccgcaccg acctcttcaa 2220
gagcttccca gggcccatgg actgggttcc tcgctacaca ggcgtggccc cccaggacca 2280
gtgcaaactc acctgccagg cccgggcact gggctactac tatgtgctgg agccacgggt 2340
ggtagatggg acccccctgtt ccccggacag ctcctcggtc tgtgtccagg gccgatgcat 2400
ccatgctggc tgtgatcgca tcattggctc caagaagaag tttgacaagt gcatggtgtg 2460
cggaggggac ggttctggtt gcagcaagca gtcaggctcc ttcaggaaat tcaggtacgg 2520
atacaacaat gtggtcacta tccccgcggg ggccacccac attcttgtcc ggcagcaggg 2580
aaaccctggc caccggagca tctacttggc cctgaagctg ccagatggct cctatgccct 2640
caatggtgaa tacacgctga tgccctcccc cacagatgtg gtactgcctg gggcagtcag 2700
cttgcgctac agcggggcca ctgcagcctc agagacactg tcaggccatg ggccactggc 2760
ccagcctttg acactgcaag tcctagtggc tggcaacccc caggacacac gcctccgata 2820
cagcttcttc gtgccccggc cgacccctc aacgccacgc cccactcccc aggactggct 2880
gcaccgaaga gcacagattc tggagatcct tcggcggcgc ccctgggcgg gcaggaaata 2940
acctcactat cccggctgcc ctttctgggc accggggcct cggacttagc tgggagaaag 3000
agagagcttc tgttgctgcc tcatgctaag actcagtggg gaggggctgt gggcgtgaga 3060
cctgcccctc ctctctgccc taatgcgcag gctggccctg ccctggtttc ctgccctggg 3120
aggcagtgat gggttagtgg atggaagggg ctgacagaca gccctccatc taaactgccc 3180
cctctgccct gcgggtcaca ggagggaggg ggaaggcagg gagggcctgg gccccagttg 3240
tatttattta gtatttattc acttttattt agcaccaggg aaggggacaa ggactagggt 3300
cctggggaac ctgacccctg acccctcata gccctcaccc tggggctagg aaatccaggg 3360
tggtggtgat aggtataagt ggtgtgtgta tgcgtgtgtg tgtgtgtgaa aatgtgtgtg 3420
tgcttatgta tgaggtacaa cctgttctgc tttcctcttc ctgaatttta ttttttggga 3480
aaagaaaagt caagggtagg gtgggccttc agggagtgag ggattatctt ttttttttt 3540
tctttctttc tttctttttt ttttttgaga cagaatctcg ctctgtcgcc caggctggag 3600
tgcaatggca caatctcggc tcactgcatc ctccgcctcc cgggttcaag tgattctcat 3660
gcctcagcct cctgagtagc tgggattaca ggctcctgcc accacgcccg gctaattttt 3720
gttttgtttt gtttggagac agagtctcgc tattgtcacc agggctggaa tgatttcagc 3780
tcactgcaac cttcgccacc tgggttccag caattctcct gcctcagcct cccgagtagc 3840
tgagattata ggcacctacc accacgcccg gctaattttt gtatttttag tagagacggg 3900
gtttcaccat gttggccagg ctggtctcga actcctgacc ttaggtgatc cactcgcctt 3960
catctcccaa agtgctggga ttacaggcgt gagccaccgt gcctggccac gcccaactaa 4020
tttttgtatt tttagtagag acagggtttc accatgttgg ccaggctgct cttgaactcc 4080
tgacctcagg taatcgacct gcctcggcct cccaaagtgc tgggattaca ggtgtgagcc 4140
accacgcccg gtacatattt tttaaattga attctactat ttatgtgatc cttttggagt 4200
cagacagatg tggttgcatc ctaactccat gtctctgagc attagatttc tcatttgcca 4260
ataataatac ctcccttaga agtttgttgt gaggattaaa taatgtaaat aaagaactag 4320
cataacactc aaaaaaaaaa aa 4342

<210> 166
<211> 4342
<212> ADN
<213> Homo sapiens

740

<220>
<223> ADAMTS-4

<400> 166
gggagaaccc acagggagac ccacagacac atatgcacga gagagacaga ggaggaaaga 60
gacagagaca aaggcacagc ggaagaaggc agagacaggg caggcacaga agcggcccag 120
acagagtcct acagagggag aggccagaga agctgcagaa gacacaggca gggagagaca 180
aagatccagg aaaggagggc tcaggaggag agtttggaga agccagaccc ctgggcacct 240
ctcccaagcc caaggactaa gttttctcca tttcctttaa cggtcctcag cccttctgaa 300
aactttgcct ctgaccttgg caggagtcca agcccccagg ctacagagag gagctttcca 360
aagctagggt gtggaggact tggtgcccta gacggcctca gtccctccca gctgcagtac 420
cagtgccatg tcccagacag gctcgcatcc cgggaggggc ttggcagggc gctggctgtg 480
gggagcccaa ccctgcctcc tgctccccat tgtgccgctc tcctggctgg tgtggctgct 540
tctgctactg ctggcctctc tcctgccctc agcccggctg gccagccccc tcccccggga 600
ggaggagatc gtgtttccag agaagctcaa cggcagcgtc ctgcctggct cgggcgcccc 660
tgccaggctg ttgtgccgct tgcaggcctt tggggagacg ctgctactag agctggagca 720
ggactccggt gtgcaggtcg aggggctgac agtgcagtac ctgggccagg cgcctgagct 780
gctgggtgga gcagagcctg gcacctacct gactggcacc atcaatggag atccggagtc 840
ggtggcatct ctgcactggg atgggggagc cctgttaggc gtgttacaat atcggggggc 900
tgaactccac ctccagcccc tggagggagg cacccctaac tctgctgggg gacctggggc 960
tcacatccta cgccggaaga gtcctgccag cggtcaaggt cccatgtgca acgtcaaggc 1020
tcctcttgga agccccagcc ccagaccccg aagagccaag cgctttgctt cactgagtag 1080
atttgtggag acactggtgg tggcagatga caagatggcc gcattccacg gtgcggggct 1140
aaagcgctac ctgctaacag tgatggcagc agcagccaag gccttcaagc acccaagcat 1200
ccgcaatcct gtcagcttgg tggtgactcg gctagtgatc ctggggtcag gcgaggaggg 1260
gccccaagtg gggcccagtg ctgcccagac cctgcgcagc ttctgtgcct ggcagcgggg 1320
cctcaacacc cctgaggact cggaccctga ccactttgac acagccattc tgtttacccg 1380
tcaggacctg tgtggagtct ccacttgcga cacgctgggt atggctgatg tgggcaccgt 1440
ctgtgacccg gctcggagct gtgccattgt ggaggatgat gggctccagt cagccttcac 1500
tgctgctcat gaactgggtc atgtcttcaa catgctccat gacaactcca agccatgcat 1560
cagtttgaat gggcctttga gcacctctcg ccatgtcatg gcccctgtga tggctcatgt 1620
ggatcctgag gagccctggt ccccctgcag tgcccgcttc atcactgact tcctggacaa 1680
tggctatggg cactgtctct tagacaaacc agaggctcca ttgcatctgc ctgtgacttt 1740
ccctggcaag gactatgatg ctgaccgcca gtgccagctg accttcgggc ccgactcacg 1800
ccattgtcca cagctgccgc cgccctgtgc tgccctctgg tgctctggcc acctcaatgg 1860
ccatgccatg tgccagacca aacactcgcc ctgggccgat ggcacaccct gcgggcccgc 1920
acaggcctgc atgggtggtc gctgcctcca catggaccag ctccaggact tcaatattcc 1980
acaggctggt ggctggggtc cttggggacc atggggtgac tgctctcgga cctgtggggg 2040
tggtgtccag ttctcctccc gagactgcac gaggcctgtc ccccggaatg gtggcaagta 2100
ctgtgagggc cgccgtaccc gcttccgctc ctgcaacact gaggactgcc caactggctc 2160
agccctgacc ttccgcgagg agcagtgtgc tgcctacaac caccgcaccg acctcttcaa 2220
gagcttccca gggcccatgg actgggttcc tcgctacaca ggcgtggccc cccaggacca 2280
gtgcaaactc acctgccagg cccgggcact gggctactac tatgtgctgg agccacgggt 2340
ggtagatggg acccccctgtt ccccggacag ctcctcggtc tgtgtccagg gccgatgcat 2400
ccatgctggc tgtgatcgca tcattggctc caagaagaag tttgacaagt gcatggtgtg 2460
cggaggggac ggttctggtt gcagcaagca gtcaggctcc ttcaggaaat tcaggtacgg 2520
atacaacaat gtggtcacta tccccgcggg ggccacccac attcttgtcc ggcagcaggg 2580
aaaccctggc caccggagca tctacttggc cctgaagctg ccagatggct cctatgccct 2640
caatggtgaa tacacgctga tgccctcccc cacagatgtg gtactgcctg gggcagtcag 2700
cttgcgctac agcggggcca ctgcagcctc agagacactg tcaggccatg ggccactggc 2760
ccagcctttg acactgcaag tcctagtggc tggcaacccc caggacacac gcctccgata 2820
cagcttcttc gtgccccggc cgacccccttc aacgccacgc cccactcccc aggactggct 2880
gcaccgaaga gcacagattc tggagatcct tcggcggcgc ccctgggcgg gcaggaaata 2940
acctcactat cccggctgcc ctttctgggc accggggcct cggacttagc tgggagaaag 3000
agagagcttc tgttgctgcc tcatgctaag actcagtggg gaggggctgt gggcgtgaga 3060
cctgcccctc ctctctgccc taatgcgcag gctggccctg ccctggtttc ctgccctggg 3120
aggcagtgat gggttagtgg atggaagggg ctgacagaca gccctccatc taaactgccc 3180

741

cctctgccct gcgggtcaca ggagggaggg ggaaggcagg gagggcctgg gccccagttg 3240
tatttattta gtatttattc acttttattt agcaccaggg aaggggacaa ggactagggt 3300
cctggggaac ctgacccctg acccctcata gccctcaccc tggggctagg aaatccaggg 3360
tggtggtgat aggtataagt ggtgtgtgta tgcgtgtgtg tgtgtgtgaa aatgtgtgtg 3420
tgcttatgta tgaggtacaa cctgttctgc tttcctcttc ctgaatttta ttttttggga 3480
aaagaaaagt caagggtagg gtgggccttc agggagtgag ggattatctt ttttttttt 3540
tctttctttc tttctttttt ttttttgaga cagaatctcg ctctgtcgcc caggctggag 3600
tgcaatggca caatctcggc tcactgcatc ctccgcctcc cgggttcaag tgattctcat 3660
gcctcagcct cctgagtagc tgggattaca ggctcctgcc accacgcccg gctaattttt 3720
gttttgtttt gtttggagac agagtctcgc tattgtcacc agggctggaa tgatttcagc 3780
tcactgcaac cttcgccacc tgggttccag caattctcct gcctcagcct cccgagtagc 3840
tgagattata ggcacctacc accacgcccg gctaattttt gtatttttag tagagacggg 3900
gtttcaccat gttggccagg ctggtctcga actcctgacc ttaggtgatc cactcgcctt 3960
catctcccaa agtgctggga ttacaggcgt gagccaccgt gcctggccac gcccaactaa 4020
tttttgtatt tttagtagag acagggtttc accatgttgg ccaggctgct cttgaactcc 4080
tgacctcagg taatcgacct gcctcggcct cccaaagtgc tgggattaca ggtgtgagcc 4140
accacgcccg gtacatattt tttaaattga attctactat ttatgtgatc cttttggagt 4200
cagacagatg tggttgcatc ctaactccat gtctctgagc attagatttc tcatttgcca 4260
ataataatac ctcccttaga agtttgttgt gaggattaaa taatgtaaat aaagaactag 4320
cataacactc aaaaaaaaaa aa 4342

<210> 167
<211> 837
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS-4

<400> 167

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

```
Arg Ala Lys Arg Phe Ala Ser Leu Ser Arg Phe Val Glu Thr Leu Val
    210                 215                 220
Val Ala Asp Asp Lys Met Ala Ala Phe His Gly Ala Gly Leu Lys Arg
225                 230                 235                 240
Tyr Leu Leu Thr Val Met Ala Ala Ala Ala Lys Ala Phe Lys His Pro
                245                 250                 255
Ser Ile Arg Asn Pro Val Ser Leu Val Val Thr Arg Leu Val Ile Leu
            260                 265                 270
Gly Ser Gly Glu Glu Gly Pro Gln Val Gly Pro Ser Ala Ala Gln Thr
        275                 280                 285
Leu Arg Ser Phe Cys Ala Trp Gln Arg Gly Leu Asn Thr Pro Glu Asp
    290                 295                 300
Ser Asp Pro Asp His Phe Asp Thr Ala Ile Leu Phe Thr Arg Gln Asp
305                 310                 315                 320
Leu Cys Gly Val Ser Thr Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val Gly
                325                 330                 335
Thr Val Cys Asp Pro Ala Arg Ser Cys Ala Ile Val Glu Asp Asp Gly
            340                 345                 350
Leu Gln Ser Ala Phe Thr Ala Ala His Glu Leu Gly His Val Phe Asn
        355                 360                 365
Met Leu His Asp Asn Ser Lys Pro Cys Ile Ser Leu Asn Gly Pro Leu
    370                 375                 380

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

```
Cys Ile His Ala Gly Cys Asp Arg Ile Ile Gly Ser Lys Lys Lys Phe
            660                 665                 670
Asp Lys Cys Met Val Cys Gly Gly Asp Gly Ser Gly Cys Ser Lys Gln
        675                 680                 685
Ser Gly Ser Phe Arg Lys Phe Arg Tyr Gly Tyr Asn Asn Val Val Thr
    690                 695                 700
Ile Pro Ala Gly Ala Thr His Ile Leu Val Arg Gln Gln Gly Asn Pro
705                 710                 715                 720
Gly His Arg Ser Ile Tyr Leu Ala Leu Lys Leu Pro Asp Gly Ser Tyr
                725                 730                 735
Ala Leu Asn Gly Glu Tyr Thr Leu Met Pro Ser Pro Thr Asp Val Val
            740                 745                 750
Leu Pro Gly Ala Val Ser Leu Arg Tyr Ser Gly Ala Thr Ala Ala Ser
        755                 760                 765
Glu Thr Leu Ser Gly His Gly Pro Leu Ala Gln Pro Leu Thr Leu Gln
    770                 775                 780
Val Leu Val Ala Gly Asn Pro Gln Asp Thr Arg Leu Arg Tyr Ser Phe
785                 790                 795                 800
Phe Val Pro Arg Pro Thr Pro Ser Thr Pro Arg Pro Thr Pro Gln Asp
                805                 810                 815
Trp Leu His Arg Arg Ala Gln Ile Leu Glu Ile Leu Arg Arg Arg Pro
            820                 825                 830

Trp Ala Gly Arg Lys
        835
```

<210> 168
<211> 625
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-4 maduro

<400> 168

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

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

Arg Ala Gln Ile Leu Glu Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Ala Gly Arg
610 615 620
Lys
625

<210> 169
<211> 9046
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-5

<400> 169
cttgactcaa tcctgcaagc aagtgtgtgt gtgtccccat cccccgcccc gttaacttca 60
tagcaaataa caaataccca taaagtccca gtcgcgcagc ccctccccgc gggcagcgca 120
ctatgctgct cgggtgggcg tccctgctgc tgtgcgcgtt ccgcctgccc ctggccgcgg 180
tcggccccgc cgcgacacct gcccaggata aagccgggca gcctccgact gctgcagcag 240
ccgcccagcc ccgccggcgg caggggggagg aggtgcagga gcgagccgag cctcccggcc 300
acccgcaccc cctggcgcag cggcgcagga gcaaggggct ggtgcagaac atcgaccaac 360
tctactccgg cggcggcaag gtgggctacc tcgtctacgc gggcggccgg aggttcctct 420
tggacctgga gcgagatggt tcggtgggca ttgctggctt cgtgcccgca ggaggcggga 480
cgagtgcgcc ctggcgccac cggagccact gcttctatcg gggcacagtg gacgctagtc 540
cccgctctct ggctgtcttt gacctctgtg ggggtctcga cggcttcttc gcggtcaagc 600
acgcgcgcta caccctaaag ccactgctgc gcggaccctg ggcggaggaa gaaaaggggc 660
gcgtgtacgg ggatgggtcc gcacggatcc tgcacgtcta cacccgcgag ggcttcagct 720
tcgaggccct gccgccgcgc gccagctgcg aaaccccccgc gtccacaccg gaggcccacg 780
agcatgctcc ggcgcacagc aacccgagcg gacgcgcagc actggcctcg cagctcttgg 840
accagtccgc tctctcgccc gctgggggct caggaccgca gacgtggtgg cggcggcggc 900
gccgctccat ctcccgggcc cgccaggtgg agctgcttct ggtggctgac gcgtccatgg 960
cgcggttgta tggccggggc ctgcagcatt acctgctgac cctggcctcc atcgccaata 1020
ggctgtacag ccatgctagc atcgagaacc acatccgcct ggccgtggtg aaggtggtgg 1080
tgctaggcga caaggacaag agcctggaag tgagcaagaa cgctgccacc acactcaaga 1140
acttttgcaa gtggcagcac caacacaacc agctgggaga tgaccatgag gagcactacg 1200
atgcagctat cctgtttact cgggaggatt tatgtgggca tcattcatgt gacaccctgg 1260
gaatggcaga cgttgggacc atatgttctc cagagcgcag ctgtgctgtg attgaagacg 1320
atggcctcca cgcagccttc actgtggctc acgaaatcgg acatttactt ggcctctccc 1380
atgacgattc caaattctgt gaagagacct ttggttccac agaagataag cgcttaatgt 1440
cttccatcct taccagcatt gatgcatcta agccctggtc caaatgcact tcagccacca 1500
tcacagaatt cctggatgat ggccatggta actgtttgct ggacctacca cgaaagcaga 1560
tcctgggccc cgaagaactc ccaggacaga cctacgatgc cacccagcag tgcaacctga 1620
cattcgggcc tgagtactcc gtgtgtcccg gcatggatgt ctgtgctcgc ctgtggtgtg 1680
ctgtggtacg ccagggccag atggtctgtc tgaccaagaa gctgcctgcg gtggaaggga 1740
cgccttgtgg aaaggggaga atctgcctgc agggcaaatg tgtggacaaa accaagaaaa 1800
aatattattc aacgtcaagc catggcaact ggggatcttg gggatcctgg ggccagtgtt 1860
ctcgctcatg tggaggagga gtgcagtttg cctatcgtca ctgtaataac cctgctccca 1920
gaaacaacgg acgctactgc acagggaaga gggccatcta ccgctcctgc agtctcatgc 1980
cctgcccacc caatggtaaa tcatttcgtc atgaacagtg tgaggccaaa aatggctatc 2040
agtctgatgc aaaaggagtc aaaactttg tggaatgggt tcccaaatat gcaggtgtcc 2100
tgccagcgga tgtgtgcaag ctgacctgca gagccaaggg cactggctac tatgtggtat 2160
tttctccaaa ggtgaccgat ggcactgaat gtaggccgta cagtaattcc gtctgcgtcc 2220
gggggaagtg tgtgagaact ggctgtgacg gcatcattgg ctcaaagctg cagtatgaca 2280
agtgcggagt atgtggagga gacaactcca gctgtacaaa gattgttgga acctttaata 2340
agaaaagtaa gggttacact gacgtggtga ggattcctga aggggcaacc cacataaaag 2400
ttcgacagtt caaagccaaa gaccagacta gattcactgc ctatttagcc ctgaaaaaga 2460
aaaacggtga gtaccttatc aatggaaagt acatgatctc cacttcagag actatcattg 2520

766

acatcaatgg aacagtcatg aactatagcg gttggagcca cagggatgac ttcctgcatg 2580
gcatgggcta ctctgccacg aaggaaattc taatagtgca gattcttgca acagacccca 2640
ctaaaccatt agatgtccgt tatagctttt ttgttcccaa gaagtccact ccaaaagtaa 2700
actctgtcac tagtcatggc agcaataaag tgggatcaca cacttcgcag ccgcagtggg 2760
tcacgggccc atggctcgcc tgctctagga cctgtgacac aggttggcac accagaacgg 2820
tgcagtgcca ggatggaaac cggaagttag caaaaggatg tcctctctcc caaaggcctt 2880
ctgcgtttaa gcaatgcttg ttgaagaaat gttagcctgt ggttatgatc ttatgcacaa 2940
agataactgg aggattcagc actgatgcag tcgtggtgaa caggaggtct acctaacgca 3000
cagaaagtca tgcttcagtg acattgtcaa caggagtcca attatgggca gaatctgctc 3060
tctgtgacca aaagaggatg tgcactgctt cacgtgacag tggtgacctt gcaatataga 3120
aaaacttggg agttattgaa catcccctgg gcttacaaga aacactgatg aatgtaaaat 3180
caggggacat ttgaagatgg cagaactgtc tccccccttgt cacctacctc tgatagaatg 3240
tctttaatgg tatcataatc attttcaccc ataatacaca gtagcttctt cttactgttt 3300
gtaaatacat tctcccttgg tatgtcactt tatatcccct ggttctatta aaatatccat 3360
atatatttct ataaaaaaag tgtttgacca aagtaggtct gcagctattt caacttcctt 3420
ccgtttccag aaagagctgt ggatatttta ctggaaatta agaacttgct gctgttttaa 3480
taagatgtag tatattttct gactacagga gataaaattt cagtcaaaaa accattttga 3540
cagcaagtat cttctgagaa attttgaaaa gtaaatagat ctcagtgtat ctagtcactt 3600
aaatacatac acgggttcat ttacttaaac ctttgactgc ctgtattttt ttcaggtagc 3660
tagccaaatt aatgcataat ttcagatgta gaagtagggt ttgcgtgtgt gtgtgtgatc 3720
atactcaaga gtctaaaaac tagtttcctt gtgttggaaa tttaaaagga aaaaaatcgt 3780
atttcactgt gttttcaatt tatattttca caactacttt ctctctccag agctttcatc 3840
tgatatctca caatgtatga tatacgtaca aaacacacag caagttttct atcatgtcca 3900
acacattcaa cactggtata cctcctacca gcaagccttt aaaatgcatt tgtgtttgct 3960
tatttgtttt gttcaagggt tcagtaagac ctacaatgtt ttgtatttct tgacttattt 4020
tattagaaac attaaagatc acttggtagt tagccacatt gagaagtggt tatcattgtt 4080
aatgtggtta atgccaaaaa gtggttaata ttaataagac tgtttccaca ccataggcaa 4140
taatttctta atttaaaaaa tctaagtata ttcctattgt actaaatatt tttcccaact 4200
ggaaagcact tgattgtacc cgtaagtgtt tgagtgatga catgtgatga ttttcagaaa 4260
gttgttgttt ttgtttccat agcctgttta agtaggttgt aagtttgaat agttagacat 4320
ggaaattatt ttataagcac acacctaaag atatcttttt agatgataaa atgtacaccc 4380
ccccatcacc aacctcacaa cttagaaaat ctaagttgtt tgatttcttt gggatttctt 4440
ttgttgtgaa acactgcaaa gccaattttt ctttataaaa attcatagta atcctgccaa 4500
atgtgcctat tgttaaagat ttgcatgtga agatcttagg gaaccactgt ttgagttcta 4560
caagctcatg agagtttatt tttattataa gatgttttta atataaaaga attatgtaac 4620
tgatcactat attacatcat ttcagtgggc caggaaaata gatgtcttgc tgttttcagt 4680
attttcttaa gaaattgctt ttaaaacaaa taattgtttt acaaaaccaa taattatcct 4740
ttgaattttc atagactgac tttgcttttg acgtagaaat tttttttctc aataaattat 4800
cactttgaga aatgaggcct gtacaaggct gataacctat atgtgatgga gatcacccaa 4860
tgccaagggc agaaagcaaa cctagttaaa taggtgagaa aaaaaataat aatcccagtg 4920
ccatttgtct gtgcaaagag aattaggaga gaggttaatg ttacttttt ccattttgga 4980
aataatttta atcaagtaac tcaaatgtga caaaatttat ttttatttt tgtggttata 5040
ttcccaacaa cattaaaaaa tactcgaggc ataaatgtag ttgtctccta ctctgcttct 5100
cttactatac tcatacattt ttaatatggt ttatcaatga ttcatgtttc cctcaaatag 5160
tgatggttta cacctgtcat ggaaacaatc ctagagagct cagagcaatt aaaccactat 5220
tccatgcttt taagtagttt tctccacctt tttcttatga gtctcactag attgactgag 5280
gaatgtatgt ctaaattcct ggagaagatg atatggattg gaaactgaaa ttcagagaaa 5340
tggagtgttc aatagatacc acgaattgtg aacaaaggga aaattctata caactcaatc 5400
taagtcagtc cactttgact tcgtactgtc tttcaccttt ccattgttgc atcttgaatt 5460
ttttaaaatg tctagaattc aggatgctag gggctacttc tttaaaaaaa aaaaaaaaaa 5520
agaattcgtc tgaaaatgct caggtttgta agaatctaat ctcacttaca taactaagca 5580
ctccataata agttttatta agtacaaagg gagccagaaa aaatgacatt tatttcttct 5640
agatcagaaa aatttaaatt aagccctgcc ttgctgttta gaaatatgtg ggcattgtta 5700
taatttattc aataaattta tgttcctttg ccttcctgtg gaaacagttt tatcccacta 5760
aactaggaat taggggataa atcacaaaca aaaaaaaagt tgcagcactg aaaaaaagta 5820
atttattgtt tttgcaactg gtatgtgaat ttgtgtgata aaattattta ttcttattta 5880
acaaaaatat gttcaaattt ttctatattt aaaatgtttt gctgttgtcc tacttttttaa 5940

742

tttatgcttc atgtttgtgt ataaagtaca cttttacact ttgtgagttt acataatata 6000
cagcactggt tgcttttgta ttttttttaca gaaagctttc tgtgtgaagc aggtgtatat 6060
gtatatattc ctcatgtatt cttattctga tactatcatt tttctttcca aggaaatttt 6120
aatctgtcat gaccaatagt gttcattact tgtgcctatg ataataggtt ttttacatca 6180
cattaacact atttttttcca agtcacaaat aagaaaaaca cttattcaat gaaacaaggt 6240
gcaagtttta aatttgggta cacaaatagc ctagaagctt cctacagacg ctaagacaca 6300
gccaataatc agatcctttc acttcatcga gaaacttgga caagtcgata ttgatgtatt 6360
agatgaaagt tgtctacaca caacttctga gggatacaaa cgataataaa accaaatgtt 6420
gtctgtttct cctttagaaa cacctcctaa aattaatatc atttagtctc tagtgtctgt 6480
aggattctac agatgagcac aaatagattg ggtttgtata acaaatgcta atagtcataa 6540
ctgtttctac aaatatgggg tgtccattaa gagaatgtga tgttttccta ctgctgttga 6600
atcccatggg gtgattatag gacttgaaat aggcagagtc acctctgatg acatcagctt 6660
gcctctgtga tttcacagtc tgatcctggc aacaagacaa agcacccttg gacacacagc 6720
caatctctgg ttgtgatatt tccccattga ttccttcctt gttaacaagg tcattttaat 6780
ggttcaggtg aggacagcag ccagattcaa agtccagaat ttgtgctgtt acatagagtt 6840
cacactgtca aataacattg aatttaataa tgatcaaatt tttctagtag tctttggcag 6900
agtgtataat ctcattggca tgattggtga atattactaa tctctttata atgaaagatg 6960
ctttacaaat accttatatt tgctaacatt tcaaaactac taaataaatg aaatagccat 7020
gtgtacagaa atggtcattt aaagctttaa tagaaccaaa ttcaagacaa tgtatcattt 7080
agacacacag aaaaggaact tgtatgtttt ccctattatt tttctcattt gccaacaatc 7140
tatagtttta ggttatcaaa cagatagatc aacttaactg gctagtacat tgaaaaatct 7200
tcctaagaat cctttgttag cataatctat agagataatt tctcaaatta tatcatcatg 7260
atgcatataa actctataat gtataattgt gtttcattta tttaatgtat gagaacatat 7320
tgaaatacaa aaccatgcat tagccaaaaa attggaatac aggtagtgtt cagatcagca 7380
aaacattcag tctggtaaat gcctgcctgg ggctatgata tcattctcaa tgcaggtttt 7440
atggaaaaac taaaagaata tgttgttaga tgatgttggt tttgaaaaaa aaaagacatt 7500
aacatacaca ttagttagcc cagttaattg cattctacta atatagttgc acattagcaa 7560
taattttgct gtctctggtc tttatttttgt ggcttcaact aactggacca tgtggactgt 7620
aaaggtcaaa tggaaaaaac gagcagtggc ccctcatcct gtaaggtact gctacatcag 7680
agtgacctaa aagtctaaca ctgtgaggaa aactgtgatt tgtaggaaaa aaaaaaaaaa 7740
caaataaaaa acagggcatg ctttttaatt tttttccact ttcctttggc acacccaatg 7800
aacaattcta atttttattg aggtgctaac atctttcgtg accgactgtc aaatgtggta 7860
tttttgagtt actatttttc tacatgattt tacagtttgc aagaaagacc tctaagcttt 7920
gtgtcacggt agggcacaac ttgatactca aaatttgaaa aataagcaca tccaatgatt 7980
gttttgacca acagtggtca gtgacgtaaa ctgcatgtgc atctgaggac atttaagggg 8040
tcattaaaat ttgaggagca tcaggccgga gtagcagact tttagatgag tcatatttca 8100
gcattcacta agtcctcagc attccattca aactgtcgtg tatatttggc ctgatttttt 8160
ttcaagcttt gcaataattt atgttattgg taaacacttg gtgactatat ctcagccttt 8220
tctttaacaa ctcacaatat attagaaaca cgtctaccta tactgagagt atatttacaa 8280
tagaagaaca tactgtatgt gactttgtaa agctagactt ttgattaaga aatatataat 8340
ctctggatgc tatttttgca ttatacactc aggcacaacg taaaccttga tggctcatct 8400
tgctacaatt acgagttgaa aaacactact tacgtatttg tatgacctat tagtcagagg 8460
aaatcataca tatgctttgt aaatagactt tgcagataac taaatagact gaagaaatat 8520
gttgcatttg atagaagcaa ttgcataaat atttggtttc tatattagag tctgtgagta 8580
aagtcaagta ataaacctaa gtaggtataa cagattttta aaccttgaaa cttgctttga 8640
tggtagagaa aatcattgaa gatttacata ctgtatataa gatgtaaaat gtacgctgct 8700
tattaccctc aattttccag aagcaatggt atataatgca gttgaaaaac caaaaatctt 8760
ggaaaactaa gacgggtctt gtttaaaatg tctctcagct ttggcaacct tcaaatctta 8820
atcaactatt taaagcatta ctgtgtcttg tagcctgcat tccacaacag ctctgttatt 8880
caggtaaaag acttgaactg agccgtttgg gacctatact gtaatatttt cattgaggaa 8940
caatatccta ttttgtaaag catttcccta tgtgtgactt taaactgtaa aattaaacac 9000
tgcttttgtg ggttcagtgg gcataataaa tataaattgt aaacta 9046

<210> 170
<211> 930

748

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS-5

<400> 170

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

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

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

750

```
Phe Phe Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val Asn Ser Val Thr Ser
    850                 855                 860
His Gly Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr Ser Gln Pro Gln Trp Val
865                 870                 875                 880
Thr Gly Pro Trp Leu Ala Cys Ser Arg Thr Cys Asp Thr Gly Trp His
                885                 890                 895
Thr Arg Thr Val Gln Cys Gln Asp Gly Asn Arg Lys Leu Ala Lys Gly
            900                 905                 910
Cys Pro Leu Ser Gln Arg Pro Ser Ala Phe Lys Gln Cys Leu Leu Lys
        915                 920                 925
Lys Cys
    930
```

<210> 171
<211> 669
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS-5 maduro

<400> 171

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

751

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

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

<210> 172
<211> 5269
<212> ADN
<213> Homo sapiens

752

<220>
<221> inseguro
<222> (0)...(0)
<223> variante 1 del transcripto ADAMTS14

<400> 172
atggctccac tccgcgcgct gctgtcctac ctgctgcctt tgcactgtgc gctctgcgcc 60
gccgcgggca gccggacccc agagctgcac ctctctggaa agctcagtga ctatggtgtg 120
acagtgccct gcagcacaga ctttcgggga cgcttcctct cccacgtggt gtctggccca 180
gcagcagcct ctgcagggag catggtagtg gacacgccac ccacactacc acgacactcc 240
agtcacctcc gggtggctcg cagccctctg cacccaggag ggaccctgtg gcctggcagg 300
gtggggcgcc actccctcta cttcaatgtc actgttttcg ggaaggaact gcacttgcgc 360
ctgcggccca atcggaggtt ggtagtgcca ggatcctcag tggagtggca ggaggatttt 420
cgggagctgt tccggcagcc cttacggcag gagtgtgtgt acactggagg tgtcactgga 480
atgcctgggg cagctgttgc catcagcaac tgtgacggat tggcgggcct catccgcaca 540
gacagcaccg acttcttcat tgagcctctg gagcggggcc agcaggagaa ggaggccagc 600
gggaggacac atgtggtgta ccgccgggag gccgtccagc aggagtgggc agaacctgac 660
ggggacctgc acaatgaagc ctttggcctg ggagaccttc ccaacctgct gggcctggtg 720
ggggaccagc tgggcgacac agagcggaag cggcggcatg ccaagccagg cagctacagc 780
atcgaggtgc tgctggtggt ggacgactcg gtggttcgct tccatggcaa ggagcatgtg 840
cagaactatg tcctcaccct catgaatatc gtagatgaga tttaccacga tgagtccctg 900
ggggttcata taaatattgc cctcgtccgc ttgatcatgg ttggctaccg acagtccctg 960
agcctgatcg agcgcgggaa cccctcacgc agcctggagc aggtgtgtcg ctgggcacac 1020
tcccagcagc gccaggaccc cagccacgct gagcaccatg accacgttgt gttcctcacc 1080
cggcaggact ttgggccctc aggtatgcaa gggtatgcac ccgtcactgg catgtgtcac 1140
cccctgagga gctgtgccct caaccatgag gatggcttct cctcagcctt cgtgatagct 1200
catgagaccg gccacgtgct cggcatggag catgacggtc aggggaatgg ctgtgcagat 1260
gagaccagcc tgggcagcgt catggcgccc ctggtgcagg ctgccttcca ccgcttccat 1320
tggtcccgct gcagcaagct ggagctcagc cgctacctcc cctcctacga ctgcctcctc 1380
gatgacccct ttgatcctgc ctggccccag cccccagagc tgcctgggat caactactca 1440
atggatgagc agtgccgctt tgactttggc agtggctacc agacctgctt ggcattcagg 1500
acctttgagc cctgcaagca gctgtggtgc agccatcctg acaacccgta cttctgcaag 1560
accaagaagg ggcccccgct ggatgggact gagtgtgcac ccggcaagtg gtgcttcaaa 1620
ggtcactgca tctggaagtc gccggagcag acatatggcc aggatggagg ctggagctcc 1680
tggaccaagt ttgggtcatg ttcgcggtca tgtgggggcg gggtgcgatc ccgcagccgg 1740
agctgcaaca acccctcccc agcctatgga ggccgcctgt gcttagggcc catgttcgag 1800
taccaggtct gcaacagcga ggagtgccct gggacctacg aggacttccg ggcccagcag 1860
tgtgccaagc gcaactccta ctatgtgcac cagaatgcca agcacagctg ggtgccctac 1920
gagcctgacg atgacgccca gaagtgtgag ctgatctgcc agtcggcgga cacgggggac 1980
gtggtgttca tgaaccaggt ggttcacgat gggacacgct gcagctaccg ggacccatac 2040
agcgtctgtg cgcgtggcga gtgtgtgcct gtcggctgtg acaaggaggt ggggtccatg 2100
aaggcggatg acaagtgtgg agtctgcggg ggtgacaact cccactgcag gactgtgaag 2160
gggacgctgg gcaaggcctc caagcaggca ggagctctca agctggtgca gatcccagca 2220
ggtgccaggc acatccagat tgaggcactg gagaagtccc cccaccgcat tgtggtgaag 2280
aaccaggtca ccggcagctt catcctcaac cccaagggca aggaagccac aagccggacc 2340
ttcaccgcca tgggcctgga gtgggaggat gcggtggagg atgccaagga aagcctcaag 2400
accagcgggc ccctgcctga agccattgcc atcctggctc tccccccaac tgagggtggc 2460
ccccgcagca gcctggccta caagtacgtc atccatgagg acctgctgcc ccttatcggg 2520
agcaacaatg tgctcctgga ggagatggac acctatgagt gggcgctcaa gagctgggcc 2580
ccctgcagca aggcctgtgg aggagggatc cagttcacca aatacggctg ccggcgcaga 2640
cgagaccacc acatggtgca gcgacacctg tgtgaccaca agaagaggcc caagcccatc 2700
cgccggcgct gcaaccagca cccgtgctct cagcctgtgt gggtgacgga ggagtggggt 2760
gcctgcagcc ggagctgtgg gaagctgggg gtgcagacac gggggataca gtgcctgctg 2820
cccctctcca atggaaccca caaggtcatg ccggccaaag cctgcgccgg ggaccggcct 2880
gaggcccgac ggccctgtct ccgagtgccc tgcccagccc agtggaggct gggagcctgg 2940
tcccagtgct ctgccacctg tggagagggc atccagcagc ggcaggtggt gtgcaggacc 3000
aacgccaaca gcctcgggca ttgcgagggg gataggccag acactgtcca ggtctgcagc 3060

```
ctgcccgcct gtggaggaaa tcaccagaac tccacggtga gggccgatgt ctgggaactt 3120
gggacgccag aggggcagtg ggtgccacaa tctgaacccc tacatcccat taacaagata 3180
tcatcaacgg agccctgcac gggagacagg tctgtcttct gccagatgga agtgctcgat 3240
cgctactgct ccattcccgg ctaccaccgg ctctgctgtg tgtcctgcat caagaaggcc 3300
tcgggcccca accctggccc agaccctggc ccaacctcac tgcccccctt ctccactcct 3360
ggaagcccct taccaggacc ccaggaccct gcagatgctg cagagcctcc tggaaagcca 3420
acgggatcag aggaccatca gcatggccga gccacacagc tcccaggagc tctggataca 3480
agctccccag ggacccagca tccctttgcc cctgagacac caatccctgg agcatcctgg 3540
agcatctccc ctaccacccc cgggggggctg ccttggggct ggactcagac acctacgcca 3600
gtccctgagg acaaagggca acctggagaa gacctgagac atcccggcac cagcctccct 3660
gctgcctccc cggtgacatg agctgtgccc tgccatccca ctggcacgtt tacactctgt 3720
gtactgcccc gtgactccca gctcagagga cacacatagc agggcaggcg caagcacaga 3780
cttcatttta aatcattcgc cttcttctcg tttggggctg tgatgctctt taccccacaa 3840
agcggggtgg gaggaagaca aagatcaggg aaagccctaa tcggagatac ctcagcaagc 3900
tgcccccggc gggactgacc ctctcagggc ccctgttggt ctcccctgcc aagaccaggg 3960
tcaactattg ctccctcctc acagaccctg ggcctgggca ggtctgaatc ccggctggtc 4020
tgtagctaga agctgtcagg gctgcctgcc ttcccggaac tgtgaggacc cctgtggagg 4080
ccctgcatat ttggcccctc tccccagaaa ggcaaagcag ggccagggta ggtgggggac 4140
tgttcacagc caggccgaga ggaggggggc ctgggaatgt ggcatgaggc ttcccagctg 4200
cagggctgga gggggtggaa cacaaggtga tcgcaggccc agctcctgga agccaagagc 4260
tccatgcagt tccaccagct gaggccaggc agcagaggcc agtttgtctt tgctggccag 4320
aagatggtgc tcatggccat actctggcct tgcagatgtc actagtgtta cttctagtga 4380
ctccagatta cagactggcc ccccaatctc accccagccc accagagaag ggggctcagg 4440
acaccctgga ccccaagtcc tcagcatcca gggatttcca aactggcgct cactccctga 4500
ctccaccagg atggcaactt caattatcac tctcagcctg gaaggggact ctgtgggaca 4560
cagagggaac acgatttctc aggctgtccc ttcaatcatt gcccttctcc gaagatcgct 4620
cctgctggag tcggacatct tcatcttcta cctggctcaa gctgggccag agtgtgtggt 4680
tctcccaggg gtggttggac cccaggactg aggaccagag tccactcata gcctggccct 4740
ggagatgaca agggccaccc aggccaagtg ccccagggca gggtgccagc ccctggcctg 4800
gtgctggagt ggggaagaca cactcaccca cggtgctgta agggcctgag ctgtgctcag 4860
ctgccggcca tgctacctcc aagggacagg taacagtctt agatcctctg gctctcagga 4920
agtggcaggg ggtcccagga cacctccggg gtcttggagg atgtctccta aactcctgcc 4980
aggtgataga ggtgcttctc acttcttcct tccccaaggc aaaggggctg ttctgagcca 5040
gcctggagga acatgagtag tgggcccctg gcctgcaacc cctttggaga gtggaggtcc 5100
tgggggggctc cccgccctcc ccctgttgcc ctcccctccc tgggatgctg gggcacacgc 5160
ggagtcattc ctgtgagaac cagcctggcc tgtgttaaac tcttgtgcct tggaaatcca 5220
gatctttaaa attttatgta tttattaaca tcgccattgg accccaaaa              5269
```

<210> 173
<211> 1226
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS14 isoforma 1

<400> 173

```
Met Ala Pro Leu Arg Ala Leu Leu Ser Tyr Leu Leu Pro Leu His Cys
 1               5                  10                  15
Ala Leu Cys Ala Ala Ala Gly Ser Arg Thr Pro Glu Leu His Leu Ser
            20                  25                  30
Gly Lys Leu Ser Asp Tyr Gly Val Thr Val Pro Cys Ser Thr Asp Phe
        35                  40                  45
Arg Gly Arg Phe Leu Ser His Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Ala Ser
    50                  55                  60
```

754

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

755

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

Lys Cys Gly Val Cys Gly Gly Asp Asn Ser His Cys Arg Thr Val Lys
705                 710                 715                 720
Gly Thr Leu Gly Lys Ala Ser Lys Gln Ala Gly Ala Leu Lys Leu Val
                725                 730                 735
Gln Ile Pro Ala Gly Ala Arg His Ile Gln Ile Glu Ala Leu Glu Lys
            740                 745                 750
Ser Pro His Arg Ile Val Val Lys Asn Gln Val Thr Gly Ser Phe Ile
        755                 760                 765
Leu Asn Pro Lys Gly Lys Glu Ala Thr Ser Arg Thr Phe Thr Ala Met
    770                 775                 780
Gly Leu Glu Trp Glu Asp Ala Val Glu Asp Ala Lys Glu Ser Leu Lys
785                 790                 795                 800
Thr Ser Gly Pro Leu Pro Glu Ala Ile Ala Ile Leu Ala Leu Pro Pro
                805                 810                 815
Thr Glu Gly Gly Pro Arg Ser Ser Leu Ala Tyr Lys Tyr Val Ile His
            820                 825                 830
Glu Asp Leu Leu Pro Leu Ile Gly Ser Asn Asn Val Leu Leu Glu Glu
        835                 840                 845
Met Asp Thr Tyr Glu Trp Ala Leu Lys Ser Trp Ala Pro Cys Ser Lys
    850                 855                 860
Ala Cys Gly Gly Gly Ile Gln Phe Thr Lys Tyr Gly Cys Arg Arg Arg
865                 870                 875                 880
Arg Asp His His Met Val Gln Arg His Leu Cys Asp His Lys Lys Arg
                885                 890                 895
Pro Lys Pro Ile Arg Arg Arg Cys Asn Gln His Pro Cys Ser Gln Pro
            900                 905                 910
Val Trp Val Thr Glu Glu Trp Gly Ala Cys Ser Arg Ser Cys Gly Lys
        915                 920                 925
Leu Gly Val Gln Thr Arg Gly Ile Gln Cys Leu Leu Pro Leu Ser Asn
    930                 935                 940
Gly Thr His Lys Val Met Pro Ala Lys Ala Cys Ala Gly Asp Arg Pro
945                 950                 955                 960
```

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

Gln Leu Pro Gly Ala Leu Asp Thr Ser Ser Pro Gly Thr Gln His Pro
1155 1160 1165
Phe Ala Pro Glu Thr Pro Ile Pro Gly Ala Ser Trp Ser Ile Ser Pro
1170 1175 1180
Thr Thr Pro Gly Gly Leu Pro Trp Gly Trp Thr Gln Thr Pro Thr Pro
1185 1190 1195 1200
Val Pro Glu Asp Lys Gly Gln Pro Gly Glu Asp Leu Arg His Pro Gly
1205 1210 1215
Thr Ser Leu Pro Ala Ala Ser Pro Val Thr
1220 1225

<210> 174
<211> 974
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS14 isoforma 1 maduro

<400> 174
His Ala Lys Pro Gly Ser Tyr Ser Ile Glu Val Leu Leu Val Val Asp
1 5 10 15
Asp Ser Val Val Arg Phe His Gly Lys Glu His Val Gln Asn Tyr Val
20 25 30
Leu Thr Leu Met Asn Ile Val Asp Glu Ile Tyr His Asp Glu Ser Leu
35 40 45
Gly Val His Ile Asn Ile Ala Leu Val Arg Leu Ile Met Val Gly Tyr
50 55 60
Arg Gln Ser Leu Ser Leu Ile Glu Arg Gly Asn Pro Ser Arg Ser Leu
65 70 75 80

752

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

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

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

<210> 175
<211> 5260
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> variante 2 del transcripto ADAMTS14

<400> 175
atggctccac tccgcgcgct gctgtcctac ctgctgcctt tgcactgtgc gctctgcgcc 60
gccgcgggca gccggacccc agagctgcac ctctctggaa agctcagtga ctatggtgtg 120
acagtgccct gcagcacaga ctttcgggga cgcttcctct cccacgtggt gtctggccca 180
gcagcagcct ctgcagggag catggtagtg gacacgccac ccacactacc acgacactcc 240
agtcacctcc gggtggctcg cagccctctg cacccaggag ggaccctgtg gcctggcagg 300
gtggggcgcc actccctcta cttcaatgtc actgttttcg ggaaggaact gcacttgcgc 360
ctgcggccca atcggaggtt ggtagtgcca ggatcctcag tggagtggca ggaggatttt 420
cgggagctgt tccggcagcc cttacggcag gagtgtgtgt acactggagg tgtcactgga 480
atgcctgggg cagctgttgc catcagcaac tgtgacggat tggcgggcct catccgcaca 540
gacagcaccg acttcttcat tgagcctctg gagcggggcc agcaggagaa ggaggccagc 600
gggaggacac atgtggtgta ccgccgggag gccgtccagc aggagtgggc agaacctgac 660
ggggacctgc acaatgaagc ctttggcctg ggagaccttc ccaacctgct gggcctggtg 720
ggggaccagc tgggcgacac agagcggaag cggcggcatg ccaagccagg cagctacagc 780
atcgaggtgc tgctggtggt ggacgactcg gtggttcgct tccatggcaa ggagcatgtg 840
cagaactatg tcctcaccct catgaatatc gtagatgaga tttaccacga tgagtccctg 900
ggggttcata taaatattgc cctcgtccgc ttgatcatgg ttggctaccg acagtccctg 960
agcctgatcg agcgcgggaa cccctcacgc agcctggagc aggtgtgtcg ctgggcacac 1020
tcccagcagc gccaggaccc cagccacgct gagcaccatg accacgttgt gttcctcacc 1080
cggcaggact ttgggccctc agggtatgca cccgtcactg gcatgtgtca ccccctgagg 1140
agctgtgccc tcaaccatga ggatggcttc tcctcagcct tcgtgatagc tcatgagacc 1200
ggccacgtgc tcggcatgga gcatgacggt caggggaatg gctgtgcaga tgagaccagc 1260
ctgggcagcg tcatggcgcc cctggtgcag gctgccttcc accgcttcca ttggtcccgc 1320
tgcagcaagc tggagctcag ccgctacctc ccctcctacg actgcctcct cgatgacccc 1380
tttgatcctg cctggcccca gcccccagag ctgcctggga tcaactactc aatggatgag 1440
cagtgccgct ttgactttgg cagtggctac cagacctgct tggcattcag gacctttgag 1500
ccctgcaagc agctgtggtg cagccatcct gacaacccgt acttctgcaa gaccaagaag 1560
gggcccccgc tggatgggac tgagtgtgca cccggcaagt ggtgcttcaa aggtcactgc 1620
atctggaagt cgccggagca gacatatggc caggatggag gctggagctc ctggaccaag 1680
tttgggtcat gttcgcggtc atgtgggggc ggggtgcgat cccgcagccg gagctgcaac 1740
aacccctccc cagcctatgg aggccgcctg tgcttagggc ccatgttcga gtaccaggtc 1800
tgcaacagcg aggagtgccc tgggacctac gaggacttcc gggcccagca gtgtgccaag 1860
cgcaactcct actatgtgca ccagaatgcc aagcacagct gggtgcccta cgagcctgac 1920
gatgacgccc agaagtgtga gctgatctgc cagtcggcgg acacggggga cgtggtgttc 1980
atgaaccagg tggttcacga tgggacacgc tgcagctacc gggacccata cagcgtctgt 2040
gcgcgtggcg agtgtgtgcc tgtcggctgt gacaaggagg tggggtccat gaaggcggat 2100
gacaagtgtg gagtctgcgg gggtgacaac tcccactgca ggactgtgaa ggggacgctg 2160
ggcaaggcct ccaagcaggc aggagctctc aagctggtgc agatcccagc aggtgccagg 2220
cacatccaga ttgaggcact ggagaagtcc ccccaccgca ttgtggtgaa gaaccaggtc 2280
accggcagct tcatcctcaa ccccaagggc aaggaagcca caagccggac cttcaccgcc 2340
atgggcctgg agtgggagga tgcggtggag gatgccaagg aaagcctcaa gaccagcggg 2400
cccctgcctg aagccattgc catcctggct ctccccccaa ctgagggtgg cccccgcagc 2460
agcctggcct acaagtacgt catccatgag gacctgctgc cccttatcgg gagcaacaat 2520
gtgctcctgg aggagatgga cacctatgag tgggcgctca agagctgggc cccctgcagc 2580
aaggcctgtg gaggagggat ccagttcacc aaatacggct gccggcgcag acgagaccac 2640
cacatggtgc agcgacacct gtgtgaccac aagaagaggc ccaagcccat ccgccggcgc 2700
tgcaaccagc acccgtgctc tcagcctgtg tgggtgacgg aggagtgggg tgcctgcagc 2760
cggagctgtg ggaagctggg ggtgcagaca cgggggatac agtgcctgct gcccctctcc 2820
aatggaaccc acaaggtcat gccggccaaa gcctgcgccg gggaccggcc tgaggcccga 2880

760

cggccctgtc tccgagtgcc ctgcccagcc cagtggaggc tgggagcctg gtcccagtgc 2940
tctgccacct gtggagaggg catccagcag cggcaggtgg tgtgcaggac caacgccaac 3000
agcctcgggc attgcgaggg ggataggcca gacactgtcc aggtctgcag cctgcccgcc 3060
tgtggaggaa atcaccagaa ctccacggtg agggccgatg tctgggaact tgggacgcca 3120
gaggggcagt gggtgccaca atctgaaccc ctacatccca ttaacaagat atcatcaacg 3180
gagccctgca cgggagacag gtctgtcttc tgccagatgg aagtgctcga tcgctactgc 3240
tccattcccg gctaccaccg gctctgctgt gtgtcctgca tcaagaaggc ctcgggcccc 3300
aaccctggcc cagaccctgg cccaacctca ctgcccccct tctccactcc tggaagcccc 3360
ttaccaggac cccaggaccc tgcagatgct gcagagcctc ctggaaagcc aacgggatca 3420
gaggaccatc agcatggccg agccacacag ctcccaggag ctctggatac aagctcccca 3480
gggacccagc atccctttgc ccctgagaca ccaatccctg gagcatcctg gagcatctcc 3540
cctaccaccc ccgggggggct gccttggggc tggactcaga cacctacgcc agtccctgag 3600
gacaaagggc aacctggaga agacctgaga catcccggca ccagcctccc tgctgcctcc 3660
ccggtgacat gagctgtgcc ctgccatccc actggcacgt ttacactctg tgtactgccc 3720
cgtgactccc agctcagagg acacacatag cagggcaggc gcaagcacag acttcatttt 3780
aaatcattcg ccttcttctc gtttggggct gtgatgctct ttaccccaca aagcggggtg 3840
ggaggaagac aaagatcagg gaaagcccta atcggagata cctcagcaag ctgcccccgg 3900
cgggactgac cctctcaggg cccctgttgg tctcccctgc caagaccagg gtcaactatt 3960
gctccctcct cacagaccct gggcctgggc aggtctgaat cccggctggt ctgtagctag 4020
aagctgtcag ggctgcctgc cttcccggaa ctgtgaggac ccctgtggag gccctgcata 4080
tttggccccc ctccccagaa aggcaaagca gggccagggt aggtggggga ctgttcacag 4140
ccaggccgag aggaggggggg cctgggaatg tggcatgagg cttcccagct gcagggctgg 4200
agggggtgga acacaaggtg atcgcaggcc cagctcctgg aagccaagag ctccatgcag 4260
ttccaccagc tgaggccagg cagcagaggc cagtttgtct ttgctggcca gaagatggtg 4320
ctcatggcca tactctggcc ttgcagatgt cactagtgtt acttctagtg actccagatt 4380
acagactggc cccccaatct caccccagcc caccagagaa gggggctcag gacaccctgg 4440
accccaagtc ctcagcatcc agggatttcc aaactggcgc tcactccctg actccaccag 4500
gatggcaact tcaattatca ctctcagcct ggaaggggac tctgtgggac acagagggaa 4560
cacgatttct caggctgtcc cttcaatcat tgcccttctc cgaagatcgc tcctgctgga 4620
gtcggacatc ttcatcttct acctggctca agctgggcca gagtgtgtgg ttctcccagg 4680
ggtggttgga ccccaggact gaggaccaga gtccactcat agcctggccc tggagatgac 4740
aagggccacc caggccaagt gccccagggc agggtgccag cccctggcct ggtgctggag 4800
tggggaagac acactcaccc acggtgctgt aagggcctga gctgtgctca gctgccggcc 4860
atgctacctc caagggacag gtaacagtct tagatcctct ggctctcagg aagtggcagg 4920
gggtcccagg acacctccgg ggtcttggag gatgtctcct aaactcctgc caggtgatag 4980
aggtgcttct cacttcttcc ttccccaagg caaaggggct gttctgagcc agcctggagg 5040
aacatgagta gtgggccccct ggcctgcaac ccctttggag agtggaggtc ctgggggggct 5100
ccccgccctc cccctgttgc cctcccctcc ctgggatgct ggggcacacg cggagtcatt 5160
cctgtgagaa ccagcctggc ctgtgttaaa ctcttgtgcc ttggaaatcc agatctttaa 5220
aattttatgt atttattaac atcgccattg gaccccaaaa 5260

<210> 176
<211> 1223
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor ADAMTS14 isoforma b

<400> 176
Met Ala Pro Leu Arg Ala Leu Leu Ser Tyr Leu Leu Pro Leu His Cys
 1   5   10   15
Ala Leu Cys Ala Ala Ala Gly Ser Arg Thr Pro Glu Leu His Leu Ser
            20   25   30

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

762

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

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

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

Pro Thr Gly Ser Glu Asp His Gln His Gly Arg Ala Thr Gln Leu Pro
            1140                1145                1150
Gly Ala Leu Asp Thr Ser Ser Pro Gly Thr Gln His Pro Phe Ala Pro
        1155                1160                1165
Glu Thr Pro Ile Pro Gly Ala Ser Trp Ser Ile Ser Pro Thr Thr Pro
    1170                1175                1180
Gly Gly Leu Pro Trp Gly Trp Thr Gln Thr Pro Thr Pro Val Pro Glu
1185                1190                1195                1200
Asp Lys Gly Gln Pro Gly Glu Asp Leu Arg His Pro Gly Thr Ser Leu
                1205                1210                1215
Pro Ala Ala Ser Pro Val Thr
            1220


<210> 177
<211> 971
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADAMTS14 isoforma 2 maduro

<400> 177
His Ala Lys Pro Gly Ser Tyr Ser Ile Glu Val Leu Leu Val Val Asp
 1               5                  10                  15
Asp Ser Val Val Arg Phe His Gly Lys Glu His Val Gln Asn Tyr Val
            20                  25                  30
Leu Thr Leu Met Asn Ile Val Asp Glu Ile Tyr His Asp Glu Ser Leu
        35                  40                  45
```

764

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

763

```
Lys Ser Pro His Arg Ile Val Val Lys Asn Gln Val Thr Gly Ser Phe
                500                 505                 510
Ile Leu Asn Pro Lys Gly Lys Glu Ala Thr Ser Arg Thr Phe Thr Ala
            515                 520                 525
Met Gly Leu Glu Trp Glu Asp Ala Val Glu Asp Ala Lys Glu Ser Leu
        530                 535                 540
Lys Thr Ser Gly Pro Leu Pro Glu Ala Ile Ala Ile Leu Ala Leu Pro
545                 550                 555                 560
Pro Thr Glu Gly Gly Pro Arg Ser Ser Leu Ala Tyr Lys Tyr Val Ile
                565                 570                 575
His Glu Asp Leu Leu Pro Leu Ile Gly Ser Asn Asn Val Leu Leu Glu
            580                 585                 590
Glu Met Asp Thr Tyr Glu Trp Ala Leu Lys Ser Trp Ala Pro Cys Ser
        595                 600                 605
Lys Ala Cys Gly Gly Gly Ile Gln Phe Thr Lys Tyr Gly Cys Arg Arg
    610                 615                 620
Arg Arg Asp His His Met Val Gln Arg His Leu Cys Asp His Lys Lys
625                 630                 635                 640
Arg Pro Lys Pro Ile Arg Arg Arg Cys Asn Gln His Pro Cys Ser Gln
                645                 650                 655
Pro Val Trp Val Thr Glu Glu Trp Gly Ala Cys Ser Arg Ser Cys Gly
            660                 665                 670
Lys Leu Gly Val Gln Thr Arg Gly Ile Gln Cys Leu Leu Pro Leu Ser
        675                 680                 685
Asn Gly Thr His Lys Val Met Pro Ala Lys Ala Cys Ala Gly Asp Arg
    690                 695                 700
Pro Glu Ala Arg Arg Pro Cys Leu Arg Val Pro Cys Pro Ala Gln Trp
705                 710                 715                 720

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

```
Pro Val Pro Glu Asp Lys Gly Gln Pro Gly Glu Asp Leu Arg His Pro
945                 950                 955                 960
Gly Thr Ser Leu Pro Ala Ala Ser Pro Val Thr
                965                 970
```

<210> 178
<211> 1904
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina C

<400> 178

```
agctatttca aggcgcgcgc ctcgtggtgg actcaccgct agcccgcagc gctcggcttc 60
ctggtaattc ttcacctctt ttctcagctc cctgcagcat gggtgctggg ccctccttgc 120
tgctcgccgc cctcctgctg cttctctccg gcgacggcgc cgtgcgctgc gacacacctg 180
ccaactgcac ctatcttgac ctgctgggca cctgggtctt ccaggtgggc tccagcggtt 240
cccagcgcga tgtcaactgc tcggttatgg gaccacaaga aaaaaaagta gtggtgtacc 300
ttcagaagct ggatacagca tatgatgacc ttggcaattc tggccatttc accatcattt 360
acaaccaagg ctttgagatt gtgttgaatg actacaagtg gtttgccttt tttaagtata 420
aagaagaggg cagcaaggtg accacttact gcaacgagac aatgactggg tgggtgcatg 480
atgtgttggg ccggaactgg gcttgtttca ccggaaagaa ggtgggaact gcctctgaga 540
atgtgtatgt caacacagca caccttaaga attctcagga aaagtattct aataggctct 600
acaagtatga tcacaacttt gtgaaagcta tcaatgccat tcagaagtct tggactgcaa 660
ctacatacat ggaatatgag actcttaccc tgggagatat gattaggaga agtggtggcc 720
acagtcgaaa aatcccaagg cccaaacctg caccactgac tgctgaaata cagcaaaaga 780
ttttgcattt gccaacatct tgggactgga gaaatgttca tggtatcaat tttgtcagtc 840
ctgttcgaaa ccaagcatcc tgtggcagct gctactcatt tgcttctatg ggtatgctag 900
aagcgagaat ccgtatacta accaacaatt ctcagacccc aatcctaagc cctcaggagg 960
ttgtgtcttg tagccagtat gctcaaggct gtgaaggcgg cttcccatac cttattgcag 1020
gaaagtacgc ccaagatttt gggctggtgg aagaagcttg cttcccctac acaggcactg 1080
attctccatg caaaatgaag gaagactgct ttcgttatta ctcctctgag taccactatg 1140
taggaggttt ctatggaggc tgcaatgaag ccctgatgaa gcttgagttg gtccatcatg 1200
ggcccatggc agttgctttt gaagtatatg atgacttcct ccactacaaa aaggggatct 1260
accaccacac tggtctaaga gacccttca acccctttga gctgactaat catgctgttc 1320
tgcttgtggg ctatggcact gactcagcct ctgggatgga ttactggatt gttaaaaaca 1380
gctggggcac cggctggggt gagaatggct acttccggat ccgcagagga actgatgagt 1440
gtgcaattga gagcatagca gtggcagcca caccaattcc taaattgtag ggtatgcctt 1500
ccagtatttc ataatgatct gcatcagttg taaaggggaa ttggtatatt cacagactgt 1560
agactttcag cagcaatctc agaagcttac aaatagattt ccatgaagat atttgtcttc 1620
agaattaaaa ctgcccttaa ttttaatata cctttcaatc ggccactggc catttttttc 1680
taagtattca attaagtggg aattttctgg aagatggtca gctatgaagt aatagagttt 1740
gcttaatcat ttgtaattca aacatgctat atttttaaa atcaatgtga aaacatagac 1800
ttatttttaa attgtaccaa tcacaagaaa ataatggcaa taattatcaa aacttttaaa 1860
atagatgctc atatttttaa aataaagttt taaaaataac tgca                  1904
```

<210> 179
<211> 463
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor Catepsina C

<400> 179

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

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

```
Ala Ile Glu Ser Ile Ala Val Ala Ala Thr Pro Ile Pro Lys Leu
    450                 455                 460


<210> 180
<211> 343
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Catepsina C maduro

<220>
<223> Dipeptidil-peptidasa 1 de cadena de dominio de exclusión 1-110

<220>
<223> Dipeptidil-peptidasa 1 de cadena pesada 111-274

<220>
<223> Dipeptidil-peptidasa 1 de cadena ligera 275-343

<400> 180
Asp Thr Pro Ala Asn Cys Thr Tyr Leu Asp Leu Leu Gly Thr Trp Val
 1               5                  10                  15
Phe Gln Val Gly Ser Ser Gly Ser Gln Arg Asp Val Asn Cys Ser Val
            20                  25                  30
Met Gly Pro Gln Glu Lys Lys Val Val Val Tyr Leu Gln Lys Leu Asp
        35                  40                  45

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

Leu Arg Asp Pro Phe Asn Pro Phe Glu Leu Thr Asn His Ala Val Leu
275 280 285
Leu Val Gly Tyr Gly Thr Asp Ser Ala Ser Gly Met Asp Tyr Trp Ile
290 295 300
Val Lys Asn Ser Trp Gly Thr Gly Trp Gly Glu Asn Gly Tyr Phe Arg
305 310 315 320
Ile Arg Arg Gly Thr Asp Glu Cys Ala Ile Glu Ser Ile Ala Val Ala
325 330 335
Ala Thr Pro Ile Pro Lys Leu
340

<210> 181
<211> 2032
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina F

<400> 181
ggaggactca ggccccgctg gccgcgggct cggtacccgg tgggtcggtg gagcgtctgt 60
tgggtccggg ccgccggctt cgccctcgcc atggcgccct ggctgcagct cctgtcgctg 120
ctggggctgc tcccgggcgc agtggccgcc cccgcccagc cccgagccgc cagctttcag 180
gcctgggggc cgccgtcccc ggagctgctg gcgcccaccc gcttcgcgct ggagatgttc 240
aaccgcggcc gggctgcggg gacgcgggcc gtgctgggcc ttgtgcgcgg ccgcgtccgc 300
cgggcgggtc aggggtcgct gtactccctg gaggccaccc tggaggagcc accctgcaac 360
gaccccatgg tgtgccggct ccccgtgtcc aagaaaaccc tgctctgcag cttccaagtc 420
ctggatgagc tcggaagaca cgtgctgctg cggaaggact gtggcccagt ggacaccaag 480
gttccaggtg ctggggagcc caagtcagcc ttcactcagg gctcagccat gatttcttct 540
ctgtcccaaa accatccaga caacagaaac gagactttca gctcagtcat ttccctgttg 600
aatgaggatc ccctgtccca ggacttgcct gtgaagatgg cttcaatctt caagaacttt 660
gtcattacct ataaccggac atatgagtca aaggaagaag cccggtggcg cctgtccgtc 720
tttgtcaata acatggtgcg agcacagaag atccaggccc tggaccgtgg cacagctcag 780
tatggagtca ccaagttcag tgatctcaca gaggaggagt tccgcactat ctacctgaat 840
actctcctga ggaaagagcc tggcaacaag atgaagcaag ccaagtctgt gggtgacctc 900
gccccacctg aatgggactg gaggagtaag ggggctgtca caaaagtcaa agaccagggc 960
atgtgtggct cctgctgggc cttctcagtc acaggcaatg tggagggcca gtggtttctc 1020
aaccagggga ccctgctctc cctctctgaa caggagctct tggactgtga caagatggac 1080
aaggcctgca tgggcggctt gccctccaat gcctactcgg ccataaagaa tttgggaggg 1140
ctggagacag aggatgacta cagctaccag ggtcacatgc agtcctgcaa cttctcagca 1200
gagaaggcca aggtctacat caatgactcc gtggagctga gccagaacga gcagaagctg 1260
gcagcctggc tggccaagag aggcccaatc tccgtggcca tcaatgcctt tggcatgcag 1320
ttttaccgcc acgggatctc ccgccctctc cggcccctct gcagcccttg gctcattgac 1380
catgcggtgt tgcttgtggg ctacggcaac cgctctgacg ttccctttg ggccatcaag 1440
aacagctggg gcactgactg gggtgagaag ggttactact acttgcatcg tgggtccggg 1500
gcctgtggcg tgaacaccat ggccagctcg gcggtggtgg actgaagagg ggcccccagc 1560
tcgggacctg gtgctgatca gagtggctgc tgccccagcc tgacatgtgt ccaggcccct 1620
ccccgggagg tacagctggc agagggaaag gcactgggta cctcagggtg agcagagggc 1680
actgggctgg ggcacagccc ctgcttccct gcaccccatt cccaccctga agttctgcac 1740
ctgcaccttt gttgaattgt ggtagcttag gaggatgtcg gggtgaaggg tggtatcttg 1800
gcagttgaag ctggggcaag aactctgggc ttgggtaatg agcaggaaga aaattttctg 1860
atcttaagcc cagctctgtt ctgcccccgc tttcctctgt ttgatactat aaattttctg 1920
gttcccttgg atttagggat agtgtccctc tccatgtcca ggaaacttgt aaccaccctt 1980
ttctaacagc aataaagagg tgtccttgtc ccgaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 2032

<210> 182

220

<211> 484
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor catepsina F

<400> 182

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

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

```
Gln Asn Glu Gln Lys Leu Ala Ala Trp Leu Ala Lys Arg Gly Pro Ile
385                 390                 395                 400
Ser Val Ala Ile Asn Ala Phe Gly Met Gln Phe Tyr Arg His Gly Ile
                405                 410                 415
Ser Arg Pro Leu Arg Pro Leu Cys Ser Pro Trp Leu Ile Asp His Ala
            420                 425                 430
Val Leu Leu Val Gly Tyr Gly Asn Arg Ser Asp Val Pro Phe Trp Ala
        435                 440                 445
Ile Lys Asn Ser Trp Gly Thr Asp Trp Gly Glu Lys Gly Tyr Tyr Tyr
    450                 455                 460
Leu His Arg Gly Ser Gly Ala Cys Gly Val Asn Thr Met Ala Ser Ser
465                 470                 475                 480
Ala Val Val Asp
```

<210> 183
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina F maduro

<400> 183

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

<210> 184
<211> 2943

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina O

<400> 184
ccgaaagaga aaacaggccg cgcgggcggc agaggagccg ggcgccgcaa tggacgtgcg 60
ggcgctgccg tggctgccgt ggctgctgtg gctgctgtgc cggggcggcg gcgatgcgga 120
ctcccgcgcc cccttcaccc cgacctggcc gcggagccgc gagcgtgaag ccgccgcctt 180
ccgggaaagt cttaatagac atcgatactt gaattcttta tttcccagtg aaaactccac 240
cgccttctat ggaataaatc agttttccta tttgtttcct gaagagttta aagccattta 300
tttaagaagc aaaccttcca agtttcccag atactcagca gaagtacata tgtccatccc 360
caatgtgtct ttgccgttaa gatttgactg gagggacaag caggttgtga cacaagtgag 420
aaaccagcag atgtgtggag gatgctgggc cttcagcgtg gtgggggcag tggaatctgc 480
ttatgcaata aaggggaagc ccctggaaga cctaagtgtc cagcaggtca ttgactgttc 540
gtataataat tatggctgca atggaggctc tactctcaat gctttgaact ggttaaacaa 600
gatgcaagta aaactggtga aagattcaga atatcctttt aaagcacaaa atggtctgtg 660
ccattacttt tctggttcac attctggatt ttcaatcaaa ggttattctg catatgactt 720
cagtgaccaa gaagatgaaa tggcaaaagc acttcttacc tttggccctt tggtagtcat 780
agtagatgca gtgagctggc aagattatct gggaggcatt atacagcatc actgctctag 840
tggagaagca aatcatgcag ttctcataac tgggtttgat aaaacaggaa gcactccata 900
ttggattgtg cggaattcct ggggaagttc ttggggagta gatggttatg cccatgtcaa 960
aatgggaagt aatgtttgtg gtattgcaga ttccgtttct tctatatttg tgtgacatgt 1020
tgggcagatc aagagacagc tacaaaaatg aaggttttca taatgcaatg taacatagta 1080
cttcaaagta ttattcaact tcaagtttca gcaactacct acaaaagatt ctaaggccta 1140
gtagtattta aactaagttt cagaatgttc ccttcttgta gagagatgga caaccaaagt 1200
cagtgggaca aactccagca cagaagcctg cgaggaagcc tatggaatag tttcctgtcc 1260
tgagacgaaa ttcagattag gagatatttt aggcccctgc aactggggaa ggctactgtt 1320
tgtttttgtt tgcttattat ttatttgttt gtttattgtg agatatttca ggtgggatca 1380
aagaggtcat aagaatttat tttcttttgt ggggtgtaac tactagcttt agattacccc 1440
tatacacaag aatggccaac ctaaaattat gtgtgtcttg tacagttagt tatattagca 1500
gccctctgag atggcgtatc tatcggaagg atttcaaaca ccaattgctt tacctgaaca 1560
aatggtgctt acccctttgaa cagcagagtg accacgtaga aggaaggaaa agggcaaaat 1620
cgcttcagtt aaactgaaat taaatgaaca ataaggcaac tatataagta acttctagta 1680
gcattgcctg agagacaaat tattgtttga taattttcat tgtgaatagg aatccaatag 1740
atcatattgc ttactttgtt ctttttatac tatagaataa tattttgttc tctagtatat 1800
caaaatacca aaatattatc tcatattttc tccctctttc tcttactctt taccaagttt 1860
tcctggtggc ttggcttccc tgactaaaga attaagtctc atttttactt tccatttcta 1920
ttttcttacc acttggttgg ctccctttgt ctctgtacct ttaccaacat taggatctca 1980
cctctttctt cctcccttaa ttcataagca ccactcctat caaagtccca tctcttaacc 2040
ctgggtatca aacaaactgt gagttttcca gaatctgttt cccagttttc ccctcagctt 2100
tcctggtctc ccatccgaac tgcttctttg tgcacctctt gttctttctc ttggctccca 2160
gtcttgattc ctgtgatcac tcttgcatca ctaattgcac aagtgatttc aggtgcaatt 2220
ctgattagcc tgcgtccaca cagtgatcga tgatcctatg tgcctagaaa ggacactgtg 2280
tgctgctcat gacctgcaac aggaaaaaag ccatttcttg ttagcagtgt aagaacctta 2340
gagcaaagga gttgaccttc tgattgaata taagcacaac catattaaat gaatcaatac 2400
aagaaaatta tttctgatac tatgtatgta catatttctt ctctaaaatg tatcattctt 2460
ttctaatgta tatgatctaa caaaaatgaa acatgaaatg cagtagcaac cactaaaaaa 2520
aaaaattcaa ggacatctaa ctttttctct cacttttgcc ctttgtttat ccttccctgt 2580
gattagataa acaaaataaa aaacaaaatg ctgtatttct cttcttacgc cagtcagaac 2640
caatccgaaa agaatgtgtg ttgactcagg tttggagtta tttcaggaag acagatattg 2700
acctttttaat tgataaatat tcttattatc ctggaatgcc agaaaagaac tatgtcctgc 2760
ttgtctagtt tgtattcgct gactttctat gtgatataga tgcatttgta atactctttt 2820
tcaagtgcta aaggatttct aaaatttcaa actgattaat atgtttctgc tgttctggat 2880
tttgatgaca tttacaataa aacaacctac atttgacttt ggtttaaaaa gaaaaaaaaa 2940
aaa 2943

<210> 185
<211> 321
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de catepsina O

<400> 185
Met Asp Val Arg Ala Leu Pro Trp Leu Pro Trp Leu Leu Trp Leu Leu
 1   5   10   15
Cys Arg Gly Gly Gly Asp Ala Asp Ser Arg Ala Pro Phe Thr Pro Thr
            20   25   30
Trp Pro Arg Ser Arg Glu Arg Glu Ala Ala Ala Phe Arg Glu Ser Leu
        35   40   45
Asn Arg His Arg Tyr Leu Asn Ser Leu Phe Pro Ser Glu Asn Ser Thr
    50   55   60
Ala Phe Tyr Gly Ile Asn Gln Phe Ser Tyr Leu Phe Pro Glu Glu Phe
65   70   75   80
Lys Ala Ile Tyr Leu Arg Ser Lys Pro Ser Lys Phe Pro Arg Tyr Ser
                85   90   95
Ala Glu Val His Met Ser Ile Pro Asn Val Ser Leu Pro Leu Arg Phe
            100   105   110
Asp Trp Arg Asp Lys Gln Val Val Thr Gln Val Arg Asn Gln Gln Met
        115   120   125
Cys Gly Gly Cys Trp Ala Phe Ser Val Val Gly Ala Val Glu Ser Ala
    130   135   140

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

<210> 186
<211> 214
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina O madura

<400> 186

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

<210> 187
<211> 1496
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina V

<400> 187

```
gctctaagcg cccggggccc cgcccagtgg ccggcacagc caatcgcagc gcgggaaggc 60
ggtgggggcg gggaaggccg cctggaaact taaatcccga ggcgggcgaa cctgcaccag 120
accgcggacg tctgtaatct cagaggcttg tttgctgagg gtgcctgcgc agctgcgacg 180
gctgctggtt ttgaaacatg aatctttcgc tcgtcctggc tgccttttgc ttgggaatag 240
cctccgctgt tccaaaattt gaccaaaatt tggatacaaa gtggtaccag tggaaggcaa 300
cacacagaag attatatggc gcgaatgaag aaggatggag gagagcagtg tgggaaaaga 360
atatgaaaat gattgaactg cacaatgggg aatacagcca agggaaacat ggcttcacaa 420
tggccatgaa tgcttttggt gacatgacca atgaagaatt caggcagatg atgggttgct 480
ttcgaaacca gaaattcagg aaggggaaag tgttccgtga gcctctgttt cttgatcttc 540
ccaaatctgt ggattggaga aagaaaggct acgtgacgcc agtgaagaat cagaaacagt 600
gtggttcttg ttgggctttt agtgcgactg gtgctcttga aggacagatg ttccggaaaa 660
ctgggaaact tgtctcactg agcgagcaga atctggtgga ctgttcgcgt cctcaaggca 720
```

225

atcagggctg caatggtggc ttcatggcta gggccttcca gtatgtcaag gagaacggag 780
gcctggactc tgaggaatcc tatccatatg tagcagtgga tgaaatctgt aagtacagac 840
ctgagaattc tgttgctaat gacactggct tcacagtggt cgcacctgga aaggagaagg 900
ccctgatgaa agcagtcgca actgtggggc ccatctccgt tgctatggat gcaggccatt 960
cgtccttcca gttctacaaa tcaggcattt attttgaacc agactgcagc agcaaaaacc 1020
tggatcatgg tgttctggtg gttggctacg gctttgaagg agcaaattcg aataacagca 1080
agtattggct cgtcaaaaac agctggggtc cagaatgggg ctcgaatggc tatgtaaaaa 1140
tagccaaaga caagaacaac cactgtggaa tcgccacagc agccagctac cccaatgtgt 1200
gagctgatgg atggtgagga ggaaggactt aaggacagca tgtctgggga aatttatct 1260
tgaaactgac caaacgctta ttgtgtaaga taaaccagtt gaatcattga ggatccaagt 1320
tgagatttta attctgtgac atttttacaa gggtaaaatg ttaccactac tttaattatt 1380
gttatacaca gctttatgat atcaaagact cattgcttaa ttctaagact tttgaatttt 1440
catttttaa aaagatgtac aaaacagttt gaaataaatt ttaattcgta tataaa 1496

<210> 188
<211> 334
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor catepsina V

<400> 188
Met Asn Leu Ser Leu Val Leu Ala Ala Phe Cys Leu Gly Ile Ala Ser
 1   5   10   15
Ala Val Pro Lys Phe Asp Gln Asn Leu Asp Thr Lys Trp Tyr Gln Trp
            20   25   30

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

```
Phe Gln Phe Tyr Lys Ser Gly Ile Tyr Phe Glu Pro Asp Cys Ser Ser
            260                 265                 270
Lys Asn Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Gly
        275                 280                 285
Ala Asn Ser Asn Asn Ser Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly
    290                 295                 300
Pro Glu Trp Gly Ser Asn Gly Tyr Val Lys Ile Ala Lys Asp Lys Asn
305                 310                 315                 320
Asn His Cys Gly Ile Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Asn Val
                325                 330
```

<210> 189
<211> 221
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina V madura

<400> 189

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

<210> 190
<211> 2048
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> legumaina

<400> 190
gcacagtggc ccttaagcga ggagcggcgg cgcccgcagc aatcacagca gtgccgacgt 60
cgtgggtgtt tggtgtgagg ctgcgagccg ccgcgagttc tcacggtccc gccggcgcca 120
ccaccgcggt cactcaccgc cgccgccgcc accactgcca ccacggtcgc ctgccacagg 180
tgtctgcaat tgaactccaa ggtgcagaat ggtttggaaa gtagctgtat tcctcagtgt 240
ggccctgggc attggtgccg ttcctataga tgatcctgaa gatggaggca agcactgggt 300
ggtgatcgtg gcaggttcaa atggctggta taattatagg caccaggcag acgcgtgcca 360
tgcctaccag atcattcacc gcaatgggat tcctgacgaa cagatcgttg tgatgatgta 420
cgatgacatt gcttactctg aagacaatcc cactccagga attgtgatca acaggcccaa 480
tggcacagat gtctatcagg gagtcccgaa ggactacact ggagaggatg ttaccccaca 540
aaatttcctt gctgtgttga gaggcgatgc agaagcagtg aagggcatag gatccggcaa 600
agtcctgaag agtggccccc aggatcacgt gttcatttac ttcactgacc atggatctac 660
tggaatactg gtttttccca atgaagatct tcatgtaaag gacctgaatg agaccatcca 720
ttacatgtac aaacacaaaa tgtaccgaaa gatggtgttc tacattgaag cctgtgagtc 780
tgggtccatg atgaaccacc tgccggataa catcaatgtt tatgcaacta ctgctgccaa 840
ccccagagag tcgtcctacg cctgttacta tgatgagaag aggtccacgt acctgggggа 900
ctggtacagc gtcaactgga tggaagattc ggacgtggaa gatctgacta aagagaccct 960
gcacaagcag taccacctgg taaaatcgca caccaacacc agccacgtca tgcagtatgg 1020
aaacaaaaca atctccacca tgaaagtgat gcagtttcag ggtatgaaac gcaaagccag 1080
ttctcccgtc cccctacctc cagtcacaca ccttgacctc acccccagcc ctgatgtgcc 1140
tctcaccatc atgaaaagga aactgatgaa caccaatgat ctggaggagt ccaggcagct 1200
cacggaggag atccagcggc atctggatgc caggcacctc attgagaagt cagtgcgtaa 1260
gatcgtctcc ttgctggcag cgtccgaggc tgaggtggag cagctcctgt ccgagagagc 1320
cccgctcacg gggcacagct gctacccaga ggccctgctg cacttccgga cccactgctt 1380
caactggcac tcccccacgt acgagtatgc gttgagacat ttgtacgtgc tggtcaacct 1440
ttgtgagaag ccgtatccgc ttcacaggat aaaattgtcc atggaccacg tgtgccttgg 1500
tcactactga agagctgcct cctggaagct tttccaagtg tgagcgcccc accgactgtg 1560
tgctgatcag agactggaga ggtggagtga gaagtctccg ctgctcgggc cctcctgggg 1620
agcccccgct ccagggctcg ctccaggacc ttcttcacaa gatgacttgc tcgctgttac 1680
ctgcttcccc agtcttttct gaaaaactac aaattagggt gggaaaagct ctgtattgag 1740
aagggtcata tttgctttct aggaggtttg ttgttttgcc tgttagtttt gaggagcagg 1800
aagctcatgg gggcttctgt agcccctctc aaaaggagtc tttattctga gaatttgaag 1860
ctgaaacctc tttaaatctt cagaatgatt ttattgaaga gggccgcaag ccccaaatgg 1920
aaaactgttt ttagaaaata tgatgatttt tgattgcttt tgtatttaat tctgcaggtg 1980
ttcaagtctt aaaaaataaa gatttataac agaacccaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040
aaaaaaaa 2048

<210> 191
<211> 433
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de legumaina

<400> 191
Met Val Trp Lys Val Ala Val Phe Leu Ser Val Ala Leu Gly Ile Gly
 1   5   10   15
Ala Val Pro Ile Asp Asp Pro Glu Asp Gly Gly Lys His Trp Val Val
            20   25   30
Ile Val Ala Gly Ser Asn Gly Trp Tyr Asn Tyr Arg His Gln Ala Asp
        35   40   45
Ala Cys His Ala Tyr Gln Ile Ile His Arg Asn Gly Ile Pro Asp Glu
    50   55   60

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

<210> 192
<211> 306
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> legumaina madura

<400> 192
Val Pro Ile Asp Asp Pro Glu Asp Gly Gly Lys His Trp Val Val Ile
1 5 10 15
Val Ala Gly Ser Asn Gly Trp Tyr Asn Tyr Arg His Gln Ala Asp Ala
20 25 30
Cys His Ala Tyr Gln Ile Ile His Arg Asn Gly Ile Pro Asp Glu Gln
35 40 45
Ile Val Val Met Met Tyr Asp Asp Ile Ala Tyr Ser Glu Asp Asn Pro
50 55 60
Thr Pro Gly Ile Val Ile Asn Arg Pro Asn Gly Thr Asp Val Tyr Gln
65 70 75 80
Gly Val Pro Lys Asp Tyr Thr Gly Glu Asp Val Thr Pro Gln Asn Phe
85 90 95
Leu Ala Val Leu Arg Gly Asp Ala Glu Ala Val Lys Gly Ile Gly Ser
100 105 110
Gly Lys Val Leu Lys Ser Gly Pro Gln Asp His Val Phe Ile Tyr Phe
115 120 125
Thr Asp His Gly Ser Thr Gly Ile Leu Val Phe Pro Asn Glu Asp Leu
130 135 140
His Val Lys Asp Leu Asn Glu Thr Ile His Tyr Met Tyr Lys His Lys
145 150 155 160
Met Tyr Arg Lys Met Val Phe Tyr Ile Glu Ala Cys Glu Ser Gly Ser
165 170 175
Met Met Asn His Leu Pro Asp Asn Ile Asn Val Tyr Ala Thr Thr Ala
180 185 190
Ala Asn Pro Arg Glu Ser Ser Tyr Ala Cys Tyr Tyr Asp Glu Lys Arg
195 200 205
Ser Thr Tyr Leu Gly Asp Trp Tyr Ser Val Asn Trp Met Glu Asp Ser
210 215 220
Asp Val Glu Asp Leu Thr Lys Glu Thr Leu His Lys Gln Tyr His Leu
225 230 235 240
Val Lys Ser His Thr Asn Thr Ser His Val Met Gln Tyr Gly Asn Lys
245 250 255
Thr Ile Ser Thr Met Lys Val Met Gln Phe Gln Gly Met Lys Arg Lys
260 265 270
Ala Ser Ser Pro Val Pro Leu Pro Pro Val Thr His Leu Asp Leu Thr
275 280 285
Pro Ser Pro Asp Val Pro Leu Thr Ile Met Lys Arg Lys Leu Met Asn
290 295 300
Thr Asn
305

<210> 193
<211> 1501
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina Z

<400> 193
ggggtcggcc gggtgctagg ccggggccga ggccgaggcc ggggcgggat ccagagcggg 60
agccggcgcg ggatctggga ctcggagcgg gatccggagc gggacccagg agccggcgcg 120
gggccatggc gaggcgcggg ccagggtggc ggccgcttct gctgctcgtg ctgctggcgg 180
gcgcggcgca gggcggcctc tacttccgcc ggggacagac ctgctaccgg cctctgcggg 240
gggacgggct ggctccgctg gggcgcagca catacccccg gcctcatgag tacctgtccc 300

780

cagcggatct gcccaagagc tgggactggc gcaatgtgga tggtgtcaac tatgccagca 360
tcacccggaa ccagcacatc ccccaatact gcggctcctg ctgggcccac gccagcacca 420
gcgctatggc ggatcggatc aacatcaaga ggaagggagc gtggccctcc accctcctgt 480
ccgtgcagaa cgtcatcgac tgcggtaacg ctggctcctg tgaaggggt aatgacctgt 540
ccgtgtggga ctacgcccac cagcacggca tccctgacga gacctgcaac aactaccagg 600
ccaaggacca ggagtgtgac aagtttaacc aatgtgggac atgcaatgaa ttcaaagagt 660
gccacgccat ccggaactac accctctgga gggtgggaga ctacggctcc ctctctggga 720
gggagaagat gatggcagaa atctacgcaa atggtcccat cagctgtgga ataatggcaa 780
cagaaagact ggctaactac accggaggca tctatgccga ataccaggac accacatata 840
taaaccatgt cgtttccgtg gctgggtggg gcatcagtga tgggactgag tactggattg 900
tccggaattc atggggtgaa ccatggggcg agagaggctg gctgaggatc gtgaccagca 960
cctataagga tgggaagggc gccagataca accttgccat cgaggagcac tgtacatttg 1020
gggaccccat cgtttaaggc catgtcacta gaagcgcagt ttaagaaaag gcatggtgac 1080
ccatgaccag aggggatcct atggttatgt gtgccaggct ggctggcagg aactggggtg 1140
gctatcaata ttggatggcg aggacagcgt ggtactggct gcgagtgttc ctgagagttg 1200
aaagtgggat gacttatgac acttgcacag catggctctg cctcacaatg atgcagtcag 1260
ccacctggtg aagaagtgac ctgcaacaca ggaaacgatg ggacctcagt cttcttcagc 1320
agaggacttg atattttgta tttggcaact gtgggcaata atatggcatt taagaggtga 1380
aagagttcag acttatcacc attcttatgt cactttagaa tcaagggtgg gggagggagg 1440
gagggagttg gcagtttcaa atcgcccaag tgatgaataa agtatctggc tctgcacgag 1500
a 1501

<210> 194
<211> 303
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor catepsina Z

<400> 194

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

```
Asn Gly Pro Ile Ser Cys Gly Ile Met Ala Thr Glu Arg Leu Ala Asn
    210                 215                 220
Tyr Thr Gly Gly Ile Tyr Ala Glu Tyr Gln Asp Thr Thr Tyr Ile Asn
225                 230                 235                 240
His Val Val Ser Val Ala Gly Trp Gly Ile Ser Asp Gly Thr Glu Tyr
                245                 250                 255
Trp Ile Val Arg Asn Ser Trp Gly Glu Pro Trp Gly Glu Arg Gly Trp
            260                 265                 270
Leu Arg Ile Val Thr Ser Thr Tyr Lys Asp Gly Lys Gly Ala Arg Tyr
        275                 280                 285
Asn Leu Ala Ile Glu Glu His Cys Thr Phe Gly Asp Pro Ile Val
    290                 295                 300
```

<210> 195
<211> 242
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> catepsina Z madura

<400> 195

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

<210> 196
<211> 2654
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> lipasa de ácido lisosomal

<400> 196
ttcccggtgg ctggctgctc tgattggctg aacaaatagt ccgagggtgg tgggcatccg 60
ccctcccgac aaggcagacc aggccccctg caggtcccct atccgcaccc cggcccctga 120
gagctggcac tgcgactcga gacagcggcc cggcaggaca gctccagaat gaaaatgcgg 180
ttcttggggt tggtggtctg tttggttctc tggaccctgc attctgaggg gtctggaggg 240
aaactgacag ctgtggatcc tgaaacaaac atgaatgtga gtgaaattat ctcttactgg 300
ggattcccta gtgaggaata cctagttgag acagaagatg gatatattct gtgccttaac 360
cgaattcctc atgggaggaa gaaccattct gacaaaggtc ccaaaccagt tgtcttcctg 420
caacatggct tgctggcaga ttctagtaac tgggtcacaa accttgccaa cagcagcctg 480
ggcttcattc ttgctgatgc tggttttgac gtgtggatgg gcaacagcag aggaaatacc 540
tggtctcgga aacataagac actctcagtt tctcaggatg aattctgggc tttcagttat 600
gatgagatgg caaaatatga cctaccagct tccattaact tcattctgaa taaaactggc 660
caagaacaag tgtattatgt gggtcattct caaggcacca ctataggttt tatagcattt 720
tcacagatcc ctgagctggc taaaaggatt aaaatgtttt ttgccctggg tcctgtggct 780
tccgtcgcct tctgtactag ccctatggcc aaattaggac gattaccaga tcatctcatt 840
aaggacttat ttggagacaa agaatttctt ccccagagtg cgtttttgaa gtggctgggt 900
acccacgttt gcactcatgt catactgaag gagctctgtg gaaatctctg ttttcttctg 960
tgtggattta atgagagaaa tttaaatatg tctagagtgg atgtatatac aacacattct 1020
cctgctggaa cttctgtgca aaacatgtta cactggagcc aggctgttaa attccaaaag 1080
tttcaagcct ttgactgggg aagcagtgcc aagaattatt ttcattacaa ccagagttat 1140
cctcccacat acaatgtgaa ggacatgctt gtgccgactg cagtctggag cgggggtcac 1200
gactggcttg cagatgtcta cgacgtcaat atcttactga ctcagatcac caacttggtg 1260
ttccatgaga gcattccgga atgggagcat cttgacttca tttggggcct ggatgcccct 1320
tggaggcttt ataataaaat tattaatcta atgaggaaat atcagtgaaa gctggacttg 1380
agctgtgtac caccaagtca atgattatgt catgtgaaaa tgtgtttgct tcatttctgt 1440
aaaacacttg tttttctttc ccaggtcttt tgtttttta tatccaagaa aatgataact 1500
ttgaagatgc ccagttcact ctagtttcaa ttagaaacat actagctatt ttttctttaa 1560
ttagggctgg aataggaagc cagtgtctca accatagtat tgtctcttta agtcttttaa 1620
atatcactga tgtgtaaaaa ggtcattata tccattctgt ttttaaaatt taaaatatat 1680
tgacttttttg cccttcatag gacaaagtaa tatatgtgtt ggaattttaa aattgtgttg 1740
tcattggtaa atctgtcact gacttaagcg aggtataaaa gtacgcagtt ttcatgtcct 1800
tgccttaaag agctctctag tctaacggtc ttgtagttag agatctaaat gacattttat 1860
catgttttcc tgcagcaggt gcatagtcaa atccagaaat atcacagctg tgccagtaat 1920
aaggatgcta acaattaatt ttatcaaacc taactgtgac agctgtgatt tgacacgttt 1980
taattgctca ggttaaatga aatagtttc cggcgtcttc aaaaacaaat tgcactgata 2040
aaacaaaaac aaaagtatgt tttaaatgct ttgaagactg atacactcaa ccatctatat 2100
tcatgagctc tcaatttcat ggcaggccat agttctactt atctgagaag caaatccctg 2160
tggagactat accactattt tttctgagat taatgtactc ttggagcccg ctactgtcgt 2220
tattgatcac atctgtgtga agccaaagcc ccgtggttgc ccatgagaag tgtccttgtt 2280
cattttcacc caaatgaagt gtgaacgtga tgttttcgga tgcaaactca gctcagggat 2340
tcattttgtg tcttagtttt atatgcatcc ttatttttaa tacacctgct tcacgtccct 2400
atgttgggaa gtccatattt gtctgctttt cttgcagcat catttcctta caatactgtc 2460
cggtggacaa aatgacaatt gatatgtttt tctgatataa ttactttagc tgcactaaca 2520
gtacaatgct tgttaatggt taatataggc agggcgaata ctactttgta acttttaaag 2580
tcttaaactt ttcaataaaa ttgagtgaga cttataggcc caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640
aaaaaaaaaa aaaa 2654

<210> 197

<211> 399
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de lipasa de ácido lisosomal

<400> 197

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

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

Trp Arg Leu Tyr Asn Lys Ile Ile Asn Leu Met Arg Lys Tyr Gln
385 390 395

<210> 198
<211> 378
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> proteína madura de lipasa de ácido lisosomal

<400> 198
Ser Gly Gly Lys Leu Thr Ala Val Asp Pro Glu Thr Asn Met Asn Val
1 5 10 15
Ser Glu Ile Ile Ser Tyr Trp Gly Phe Pro Ser Glu Glu Tyr Leu Val
20 25 30
Glu Thr Glu Asp Gly Tyr Ile Leu Cys Leu Asn Arg Ile Pro His Gly
35 40 45
Arg Lys Asn His Ser Asp Lys Gly Pro Lys Pro Val Val Phe Leu Gln
50 55 60
His Gly Leu Leu Ala Asp Ser Ser Asn Trp Val Thr Asn Leu Ala Asn
65 70 75 80
Ser Ser Leu Gly Phe Ile Leu Ala Asp Ala Gly Phe Asp Val Trp Met
85 90 95
Gly Asn Ser Arg Gly Asn Thr Trp Ser Arg Lys His Lys Thr Leu Ser
100 105 110
Val Ser Gln Asp Glu Phe Trp Ala Phe Ser Tyr Asp Glu Met Ala Lys
115 120 125
Tyr Asp Leu Pro Ala Ser Ile Asn Phe Ile Leu Asn Lys Thr Gly Gln
130 135 140
Glu Gln Val Tyr Tyr Val Gly His Ser Gln Gly Thr Thr Ile Gly Phe
145 150 155 160
Ile Ala Phe Ser Gln Ile Pro Glu Leu Ala Lys Arg Ile Lys Met Phe
165 170 175
Phe Ala Leu Gly Pro Val Ala Ser Val Ala Phe Cys Thr Ser Pro Met
180 185 190
Ala Lys Leu Gly Arg Leu Pro Asp His Leu Ile Lys Asp Leu Phe Gly
195 200 205
Asp Lys Glu Phe Leu Pro Gln Ser Ala Phe Leu Lys Trp Leu Gly Thr
210 215 220
His Val Cys Thr His Val Ile Leu Lys Glu Leu Cys Gly Asn Leu Cys
225 230 235 240
Phe Leu Leu Cys Gly Phe Asn Glu Arg Asn Leu Asn Met Ser Arg Val
245 250 255
Asp Val Tyr Thr Thr His Ser Pro Ala Gly Thr Ser Val Gln Asn Met
260 265 270
Leu His Trp Ser Gln Ala Val Lys Phe Gln Lys Phe Gln Ala Phe Asp
275 280 285
Trp Gly Ser Ser Ala Lys Asn Tyr Phe His Tyr Asn Gln Ser Tyr Pro
290 295 300
Pro Thr Tyr Asn Val Lys Asp Met Leu Val Pro Thr Ala Val Trp Ser
305 310 315 320
Gly Gly His Asp Trp Leu Ala Asp Val Tyr Asp Val Asn Ile Leu Leu
325 330 335
Thr Gln Ile Thr Asn Leu Val Phe His Glu Ser Ile Pro Glu Trp Glu
340 345 350

```
His Leu Asp Phe Ile Trp Gly Leu Asp Ala Pro Trp Arg Leu Tyr Asn
        355                 360                 365
Lys Ile Ile Asn Leu Met Arg Lys Tyr Gln
    370                 375
```

<210> 199
<211> 1497
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> lipasa gástrica

<400> 199
agatgatgcc cagatagtaa gtctttttgg taatgtaatc agtggatgag gaatctgacc 60
attgttgaag gttttgtata taagaagtca atacaacatt gaccaaaata ctaaccagcc 120
agagaaacag aatcctaact atttctgagg aaactgcagg tccaaaatgt ggctgctttt 180
aacaatggca agtttgatat ctgtactggg gactacacat ggtttgtttg gaaaattaca 240
tcctggaagc cctgaagtga ctatgaacat tagtcagatg attacttatt ggggataccc 300
aaatgaagaa tatgaagttg tgactgaaga tggttatatt cttgaagtca atagaattcc 360
ttatgggaag aaaaattcag ggaatacagg ccagagacct gttgtgtttt tgcagcatgg 420
tttgcttgca tcagccacaa actggatttc caacctgccg aacaacagcc ttgccttcat 480
tctggcagat gctggttatg atgtgtggct gggcaacagc agaggaaaca cctgggccag 540
aagaaacttg tactattcac cagattcagt tgaattctgg gctttcagct ttgatgaaat 600
ggctaaatat gaccttccag ccacaatcga cttcattgta aagaaaactg gacagaagca 660
gctacactat gttggccatt cccagggcac caccattggt tttattgcct tttccaccaa 720
tcccagcctg gctaaaagaa tcaaaacctt ctatgctcta gctcctgttg ccactgtgaa 780
gtatacaaaa agccttataa acaaacttag atttgttcct caatccctct tcaagtttat 840
atttggtgac aaaatattct acccacacaa cttctttgat caatttcttg ctactgaagt 900
gtgctcccgt gagatgctga atctcctttg cagcaatgcc ttatttataa tttgtggatt 960
tgacagtaag aactttaaca cgagtcgctt ggatgtgtat ctatcacata atccagcagg 1020
aacttctgtt caaaacatgt tccattggac ccaggctgtt aagtctggga aattccaagc 1080
ttatgactgg ggaagcccag ttcagaatag gatgcactat gatcagtccc aacctcccta 1140
ctacaatgtg acagccatga atgtaccaat tgcagtgtgg aacggtggca aggacctgtt 1200
ggctgacccc caagatgttg gccttttgct tccaaaactc cccaatctta tttaccacaa 1260
ggagattcct ttttacaatc acttggactt tatctgggca atggatgccc ctcaagaagt 1320
ttacaatgac attgtttcta tgatatcaga agataaaaag tagttctgga tttaaagaat 1380
tatccgtttg tttttccaaa atactttatt ctctcataca tagtattttc ataatgtttg 1440
acatgcagtg cttctttctg taattttgac tttagaaata tattggcatc aacaaac 1497

<210> 200
<211> 398
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de lipasa gástrica

<400> 200
```
Met Trp Leu Leu Leu Thr Met Ala Ser Leu Ile Ser Val Leu Gly Thr
 1               5                  10                  15
Thr His Gly Leu Phe Gly Lys Leu His Pro Gly Ser Pro Glu Val Thr
            20                  25                  30
Met Asn Ile Ser Gln Met Ile Thr Tyr Trp Gly Tyr Pro Asn Glu Glu
        35                  40                  45
```

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

<210> 201
<211> 379
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> INSEGURO
<222> (0)...(0)
<223> proteína madura de lipasa gástrica

<400> 201

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

<210> 202
<211> 2764
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> fosfolipasa A2 lisosomal

<400> 202
aagcgcgtcg ccaccgcccc cgcctaggcg agagcccaga gagctgaacc tgcatcccgg 60
acctgcggcg accgtcgtac accatgggcc tccacctccg cccctaccgt gtggggctgc 120
tcccggatgg cctcctgttc ctcttgctgc tgctaatgct gctcgcggac ccagcgctcc 180
cggccggacg tcaccccca gtggtgctgg tccctggtga tttgggtaac caactggaag 240
ccaagctgga caagccgaca gtggtgcact acctctgctc caagaagacc gaaagctact 300
tcacaatctg gctgaacctg gaactgctgc tgcctgtcat cattgactgc tggattgaca 360
atatcaggct ggtttacaac aaaacatcca gggccaccca gtttcctgat ggtgtggatg 420
tacgtgtccc tggctttggg aagaccttct cactggagtt cctggacccc agcaaaagca 480
gcgtgggttc ctatttccac accatggtgg agagccttgt gggctggggc tacacacggg 540
gtgaggatgt ccgaggggct ccctatgact ggcgccgagc cccaaatgaa aacgggccct 600
acttcctggc cctccgcgag atgatcgagg agatgtacca gctgtatggg ggccccgtgg 660
tgctggttgc ccacagtatg ggcaacatgt acacgctcta ctttctgcag cggcagccgc 720
aggcctggaa ggacaagtat atccgggcct tcgtgtcact gggtgcgccc tgggggggcg 780
tggccaagac cctgcgcgtc ctggcttcag gagacaacaa ccggatccca gtcatcgggc 840
ccctgaagat ccgggagcag cagcggtcag ctgtctccac cagctggctg ctgccctaca 900
actacacatg gtcacctgag aaggtgttcg tgcagacacc cacaatcaac tacacactgc 960
gggactaccg caagttcttc caggacatcg gctttgaaga tggctggctc atgcggcagg 1020
acacagaagg gctggtggaa gccacgatgc cacctggcgt gcagctgcac tgcctctatg 1080
gtactggcgt ccccacacca gactccttct actatgagag cttccctgac cgtgacccta 1140
aaatctgctt tggtgacggc gatggtactg tgaacttgaa gagtgccctg cagtgccagg 1200
cctggcagag ccgccaggag caccaagtgt tgctgcagga gctgccaggc agcgagcaca 1260
tcgagatgct ggccaacgcc accaccctgg cctatctgaa acgtgtgctc cttgggccct 1320
gactcctgtg ccacaggact cctgtggctc ggccgtggac ctgctgttgg cctctggggc 1380
tgtcatggcc cacgcgtttt gcaaagtttg tgactcacca ttcaaggccc cgagtcttgg 1440
actgtgaagc atctgccatg gggaagtgct gtttgttatc ctttctctgt ggcagtgaag 1500
aaggaagaaa tgagagtcta gactcaaggg acactggatg gcaagaatgc tgctgatggt 1560
ggaactgctg tgaccttagg actggctcca cagggtggac tggctgggcc ctggtcccag 1620
tccctgcctg gggccatgtg tccccctat tcctgtgggc ttttcatact tgcctactgg 1680
gccctggccc cgcagccttc ctatgaggga tgttactggg ctgtggtcct gtacccagag 1740
gtcccaggga tcggctcctg gcccctcggg tgacccttcc cacacaccag ccacagatag 1800
gcctgccact ggtcatgggt agctagagct gctggcttcc ctgtggctta gctggtggcc 1860
agcctgactg gcttcctggg cgagcctagt agctcctgca ggcaggggca gtttgttgcg 1920
ttcttcgtgg ttcccaggcc ctgggacatc tcactccact cctacctccc ttaccaccag 1980
gagcattcaa gctctggatt gggcagcaga tgtgccccca gtcccgcagg ctgtgttcca 2040
ggggccctga tttcctcgga tgtgctattg gccccaggac tgaagctgcc tcccttcacc 2100
ctgggactgt ggttccaagg atgagagcag gggttggagc catggccttc tgggaaccta 2160
tggagaaagg gaatccaagg aagcagccaa ggctgctcgc agcttccctg agctgcacct 2220
cttgctaacc ccaccatcac actgccaccc tgccctaggg tctcactagt accaagtggg 2280
tcagcacagg gctgaggatg gggctcctat ccaccctggc cagcacccag cttagtgctg 2340
ggactagccc agaaacttga atgggaccct gagagagcca ggggtcccct gaggcccccc 2400
taggggcttt ctgtctgccc cagggtgctc catggatctc cctgtggcag caggcatgga 2460
gagtcagggc tgccttcatg gcagtaggct ctaagtgggt gactggccac aggccgagaa 2520
aagggtacag cctctaggtg gggttcccaa agacgccttc acgctggact gagctgctct 2580
cccacagggt ttctgtgcag ctggattttc tctgttgcat acatgcctgg catctgtctc 2640
cccttgttcc tgagtggccc cacatggggc tctgagcagg ctgtatctgg attctggcaa 2700
taaaagtact ctggatgctg taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760
aaaa 2764

<210> 203
<211> 412
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor de fosfolipasa A2 lisosomal

<400> 203

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

<210> 204
<211> 379

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> proteína madura de fosfolipasa A2 lisosomal

<400> 204

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

<210> 205
<211> 2428
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> lipasa activada de sal biliar

<400> 205
accttctgta tcagttaagt gtcaagatgg aaggaacagc agtctcaaga taatgcaaag 60
agtttattca tccagaggct gatgctcacc atggggcgcc tgcaactggt tgtgttgggc 120
ctcacctgct gctgggcagt ggcgagtgcc gcgaagctgg gcgccgtgta cacagaaggt 180
gggttcgtgg aaggcgtcaa taagaagctc ggcctcctgg gtgactctgt ggacatcttc 240
aagggcatcc ccttcgcagc tcccaccaag gccctggaaa atcctcagcc acatcctggc 300
tggcaaggga ccctgaaggc caagaacttc aagaagagat gcctgcaggc caccatcacc 360
caggacagca cctacgggga tgaagactgc ctgtacctca acatttgggt gccccagggc 420
aggaagcaag tctcccggga cctgcccgtt atgatctgga tctatggagg cgccttcctc 480
atggggtccg gccatggggc caacttcctc aacaactacc tgtatgacgg cgaggagatc 540
gccacacgcg gaaacgtcat cgtggtcacc ttcaactacc gtgtcggccc ccttgggttc 600
ctcagcactg gggacgccaa tctgccaggt aactatggcc ttcgggatca gcacatggcc 660
attgcttggg tgaagaggaa tatcgcggcc ttcgggggggg accccaacaa catcacgctc 720
ttcggggagt ctgctggagg tgccagcgtc tctctgcaga ccctctcccc ctacaacaag 780
ggcctcatcc ggcgagccat cagccagagc ggcgtggccc tgagtccctg ggtcatccag 840
aaaaacccac tcttctgggc caaaaaggtg gctgagaagg tgggttgccc tgtgggtgat 900
gccgccagga tggcccagtg tctgaaggtt actgatcccc gagccctgac gctggcctat 960
aaggtgccgc tggcaggcct ggagtacccc atgctgcact atgtgggctt cgtccctgtc 1020
attgatggag acttcatccc cgctgacccg atcaacctgt acgccaacgc cgccgacatc 1080
gactatatag caggcaccaa caacatggac ggccacatct tcgccagcat cgacatgcct 1140
gccatcaaca agggcaacaa gaaagtcacg gaggaggact tctacaagct ggtcagtgag 1200
ttcacaatca ccaaggggct cagaggcgcc aagacgacct ttgatgtcta caccgagtcc 1260
tgggcccagg acccatccca ggagaataag aagaagactg tggtggactt tgagaccgat 1320
gtcctcttcc tggtgcccac cgagattgcc ctagcccagc acagagccaa tgccaagagt 1380
gccaagacct acgcctacct gttttcccat ccctctcgga tgcccgtcta ccccaaatgg 1440
gtgggggccg accatgcaga tgacattcag tacgttttcg ggaagccctt cgccaccccc 1500
acgggctacc ggccccaaga caggacagtc tctaaggcca tgatcgccta ctggaccaac 1560
tttgccaaaa caggggaccc caacatgggc gactcggctg tgcccacaca ctgggaaccc 1620
tacactacgg aaaacagcgg ctacctggag atcaccaaga agatgggcag cagctccatg 1680
aagcggagcc tgagaaccaa cttcctgcgc tactggaccc tcacctatct ggcgctgccc 1740
acagtgaccg accaggaggc caccctgtg ccccccacag gggactccga ggccactccc 1800
gtgccccccа cgggtgactc cgagaccgcc cccgtgccgc ccacgggtga ctccgggggcc 1860
ccccccgtgc cgcccacggg tgactccggg gccccccccg tgccgcccac gggtgactcc 1920
ggggcccccc ccgtgccgcc cacgggtgac tccggggccc cccccgtgcc gcccacgggt 1980
gactccgggg ccccccccgt gccgcccacg ggtgactccg gggccccccc cgtgccgccc 2040
acgggtgact ccggcgcccc ccccgtgccg cccacgggtg acgccgggcc ccccccccgtg 2100
ccgcccacgg gtgactccgg cgcccccccc gtgccgccca cgggtgactc cggggccccc 2160
cccgtgaccc ccacgggtga ctccgagacc gcccccgtgc cgcccacggg tgactccggg 2220
gccccccctg tgccccccac gggtgactct gaggctgccc ctgtgccccc cacagatgac 2280
tccaaggaag ctcagatgcc tgcagtcatt aggttttagc gtcccatgag ccttggtatc 2340
aagaggccac aagagtggga ccccaggggc tcccctccca tcttgagctc ttcctgaata 2400
aagcctcata cccctaaaaa aaaaaaaa 2428

<210> 206
<211> 745
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

792

<223> precursor de lipasa estimulada de sal biliar

<400> 206

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ala Gly Pro Pro Pro
660 665 670
Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly
675 680 685
Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Thr Pro Thr Gly Asp Ser Glu Thr Ala
690 695 700
Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr
705 710 715 720
Gly Asp Ser Glu Ala Ala Pro Val Pro Pro Thr Asp Asp Ser Lys Glu
725 730 735
Ala Gln Met Pro Ala Val Ile Arg Phe
740 745

<210> 207
<211> 722
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> proteína madura de lipasa activada de sal biliar

<400> 207
Ala Lys Leu Gly Ala Val Tyr Thr Glu Gly Gly Phe Val Glu Gly Val
1 5 10 15
Asn Lys Lys Leu Gly Leu Leu Gly Asp Ser Val Asp Ile Phe Lys Gly
20 25 30

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

795

```
Asp Ser Ala Val Pro Thr His Trp Glu Pro Tyr Thr Thr Glu Asn Ser
                485                 490                 495
Gly Tyr Leu Glu Ile Thr Lys Lys Met Gly Ser Ser Ser Met Lys Arg
            500                 505                 510
Ser Leu Arg Thr Asn Phe Leu Arg Tyr Trp Thr Leu Thr Tyr Leu Ala
        515                 520                 525
Leu Pro Thr Val Thr Asp Gln Glu Ala Thr Pro Val Pro Pro Thr Gly
    530                 535                 540
Asp Ser Glu Ala Thr Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Glu Thr Ala
545                 550                 555                 560
Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr
                565                 570                 575
Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala
            580                 585                 590
Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro
        595                 600                 605
Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly
    610                 615                 620
Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro
625                 630                 635                 640
Pro Thr Gly Asp Ala Gly Pro Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser
                645                 650                 655
Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Gly Ala Pro Pro Val
            660                 665                 670
Thr Pro Thr Gly Asp Ser Glu Thr Ala Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp
        675                 680                 685
Ser Gly Ala Pro Pro Val Pro Pro Thr Gly Asp Ser Glu Ala Ala Pro
    690                 695                 700
Val Pro Pro Thr Asp Asp Ser Lys Glu Ala Gln Met Pro Ala Val Ile
705                 710                 715                 720
Arg Phe
```

<210> 208
<211> 334
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> precursor de catepsina L

<400> 208

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

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

<210> 209
<211> 217
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 209

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

Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Asp Cys Ser Ser Lys Asp Leu Asp His
145 150 155 160
Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Gly Thr Asp Ser Asn Asn
165 170 175
Asn Lys Phe Trp Ile Val Lys Asn Ser Trp Gly Pro Glu Trp Gly Trp
180 185 190
Asn Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Gln Asn Asn His Cys Gly Ile
195 200 205
Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
210 215

<210> 210
<211> 333
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<220>
<223> precursor de catepsina L

<400> 210
Met Asn Pro Ser Leu Phe Leu Thr Ala Leu Cys Leu Gly Ile Ala Ser
1 5 10 15
Ala Ala Pro Lys Phe Asp Gln Ser Leu Asn Ala Gln Trp Tyr Gln Trp
20 25 30
Lys Ala Thr His Arg Arg Leu Tyr Gly Met Asn Glu Glu Gly Trp Arg
35 40 45
Arg Ala Val Trp Glu Lys Asn Met Lys Met Ile Glu Leu His Asn Arg
50 55 60
Glu Tyr Ser Gln Gly Lys His Gly Phe Thr Met Ala Met Asn Ala Phe
65 70 75 80
Gly Asp Met Thr Asn Glu Glu Phe Arg Gln Val Met Asn Gly Phe Gln
85 90 95
Asn Gln Lys His Lys Lys Gly Lys Met Phe Gln Glu Pro Leu Phe Ala
100 105 110
Glu Ile Pro Lys Ser Val Asp Trp Arg Glu Lys Gly Tyr Val Thr Pro
115 120 125
Val Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ala Thr
130 135 140
Gly Ala Leu Glu Gly Gln Met Phe Arg Lys Thr Gly Lys Leu Val Ser
145 150 155 160
Leu Ser Glu Gln Asn Leu Val Asp Cys Ser Arg Ala Gln Gly Asn Glu
165 170 175
Gly Cys Asn Gly Gly Leu Met Asp Asn Ala Phe Arg Tyr Val Lys Asp
180 185 190
Asn Gly Gly Leu Asp Ser Glu Glu Ser Tyr Pro Tyr Leu Gly Arg Asp
195 200 205
Thr Glu Thr Cys Asn Tyr Lys Pro Glu Cys Ser Ala Ala Asn Asp Thr
210 215 220
Gly Phe Val Asp Leu Pro Gln Arg Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val
225 230 235 240
Ala Thr Leu Gly Pro Ile Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Gln Ser
245 250 255
Phe Gln Phe Tyr Lys Ser Gly Ile Tyr Phe Asp Pro Asp Cys Ser Ser
260 265 270
Lys Asp Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Gly
275 280 285

```
Thr Asp Ser Asn Asn Lys Phe Trp Ile Val Lys Asn Ser Trp Gly Pro
    290                 295                 300
Glu Trp Gly Trp Asn Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Gln Asn Asn
305                 310                 315                 320
His Cys Gly Ile Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
                325                 330
```

<210> 211
<211> 216
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 211

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

<210> 212
<211> 333
<212> PRT
<213> Cercopithecus aethiops

<220>
<223> precursor de catepsina L

<400> 212

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

<210> 213
<211> 220
<212> PRT
<213> Cercopithecus aethiops

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 213

```
Ala Pro Arg Ser Val Asp Trp Arg Glu Lys Gly Tyr Val Thr Pro Val
 1               5                  10                  15
Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ala Thr Gly
            20                  25                  30
```

800

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

<210> 214
<211> 218
<212> PRT
<213> Gallus gallus

<220>
<223> proproteína de catepsina L

<400> 214
Ala Pro Arg Ser Val Asp Trp Arg Glu Lys Gly Tyr Val Thr Pro Val
1 5 10 15
Lys Asp Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Thr Thr Gly
20 25 30
Ala Leu Glu Gly Gln His Phe Arg Thr Lys Gly Lys Leu Val Ser Leu
35 40 45
Ser Glu Gln Asn Leu Val Asp Cys Ser Arg Pro Glu Gly Asn Gln Gly
50 55 60
Cys Asn Gly Gly Leu Met Asp Gln Ala Phe Gln Tyr Val Gln Asp Asn
65 70 75 80
Gly Gly Ile Asp Ser Glu Glu Ser Tyr Pro Tyr Thr Ala Lys Asp Asp
85 90 95
Glu Asp Cys Arg Tyr Lys Ala Glu Tyr Asn Ala Ala Asn Asp Thr Gly
100 105 110
Phe Val Asp Ile Pro Gln Gly His Glu Arg Ala Leu Met Lys Ala Val
115 120 125
Ala Ser Val Gly Pro Val Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Ser Ser
130 135 140
Phe Gln Phe Tyr Gln Ser Gly Ile Tyr Tyr Glu Pro Asp Cys Ser Ser
145 150 155 160
Glu Asp Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Gly
165 170 175

801

Gly Lys Lys Tyr Trp Ile Val Lys Asn Ser Trp Gly Glu Lys Trp Gly
180 185 190
Asp Lys Gly Tyr Ile Tyr Met Ala Lys Asp Arg Lys Asn His Cys Gly
195 200 205
Ile Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Leu Val
210 215

<210> 215
<211> 334
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> precursor de catepsina L

<400> 215
Met Asn Leu Leu Leu Leu Leu Ala Val Leu Cys Leu Gly Thr Ala Leu
1 5 10 15
Ala Thr Pro Lys Phe Asp Gln Thr Phe Ser Ala Glu Trp His Gln Trp
20 25 30
Lys Ser Thr His Arg Arg Leu Tyr Gly Thr Asn Glu Glu Glu Trp Arg
35 40 45
Arg Ala Ile Trp Glu Lys Asn Met Arg Met Ile Gln Leu His Asn Gly
50 55 60
Glu Tyr Ser Asn Gly Gln His Gly Phe Ser Met Glu Met Asn Ala Phe
65 70 75 80
Gly Asp Met Thr Asn Glu Glu Phe Arg Gln Val Val Asn Gly Tyr Arg
85 90 95
His Gln Lys His Lys Lys Gly Arg Leu Phe Gln Glu Pro Leu Met Leu
100 105 110

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

802

```
Glu Trp Gly Met Glu Gly Tyr Ile Lys Ile Ala Lys Asp Arg Asp Asn
305                 310                 315                 320
His Cys Gly Leu Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Val Val Asn
                325                 330
```

<210> 216
<211> 221
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 216

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

<210> 217
<211> 314
<212> PRT
<213> Paramecium tetraurelia

<220>
<223> precursor de catepsina L

<400> 217

```
Met Met Leu Leu Gly Ala Ser Leu Tyr Leu Asn Asn Thr Gln Glu Val
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 218
<211> 205
<212> PRT
<213> Paramecium tetraurelia

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 218

```
Gly Ala Glu Val Asp Trp Thr Asp Asn Lys Lys Val Lys Tyr Pro Ala
 1               5                  10                  15
Val Lys Asn Gln Gly Ser Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ala Val
            20                  25                  30
Gly Ala Leu Glu Ile Asn Thr Asp Ile Glu Leu Asn Arg Lys Tyr Glu
        35                  40                  45
Leu Ser Glu Gln Asp Leu Val Asp Cys Ser Gly Pro Tyr Asp Asn Asp
    50                  55                  60
```

804

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

<210> 219
<211> 334
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> de precursor catepsina L

<400> 219
Met Lys Pro Ser Leu Phe Leu Thr Ala Leu Cys Leu Gly Ile Ala Ser
1 5 10 15
Ala Ala Pro Lys Leu Asp Gln Asn Leu Asp Ala Asp Trp Tyr Lys Trp
20 25 30

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

805

```
Thr Asn Ser Cys Thr Tyr Lys Pro Glu Cys Ser Ala Ala Asn Asp Thr
    210                 215                 220
Gly Phe Val Asp Ile Pro Gln Arg Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val
225                 230                 235                 240
Ala Thr Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Ser Ser
                245                 250                 255
Phe Gln Phe Tyr Lys Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Asp Cys Ser Ser
            260                 265                 270
Lys Asp Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Gly
        275                 280                 285
Thr Asp Ser Asn Ser Ser Lys Phe Trp Ile Val Lys Asn Ser Trp Gly
    290                 295                 300
Pro Glu Trp Gly Trp Asn Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Gln Asn
305                 310                 315                 320
Asn His Cys Gly Ile Ser Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
                325                 330
```

<210> 220
<211> 217

<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 220

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

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

806

<210> 221
<211> 334
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> precursor de catepsina L

<400> 221
Met Thr Pro Leu Leu Leu Leu Ala Val Leu Cys Leu Gly Thr Ala Leu
1 5 10 15
Ala Thr Pro Lys Phe Asp Gln Thr Phe Asn Ala Gln Trp His Gln Trp
20 25 30
Lys Ser Thr His Arg Arg Leu Tyr Gly Thr Asn Glu Glu Glu Trp Arg
35 40 45
Arg Ala Val Trp Glu Lys Asn Met Arg Met Ile Gln Leu His Asn Gly
50 55 60
Glu Tyr Ser Asn Gly Lys His Gly Phe Thr Met Glu Met Asn Ala Phe
65 70 75 80
Gly Asp Met Thr Asn Glu Glu Phe Arg Gln Ile Val Asn Gly Tyr Arg
85 90 95
His Gln Lys His Lys Lys Gly Arg Leu Phe Gln Glu Pro Leu Met Leu
100 105 110
Gln Ile Pro Lys Thr Val Asp Trp Arg Glu Lys Gly Cys Val Thr Pro
115 120 125
Val Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ala Ser
130 135 140
Gly Cys Leu Glu Gly Gln Met Phe Leu Lys Thr Gly Lys Leu Ile Ser
145 150 155 160
Leu Ser Glu Gln Asn Leu Val Asp Cys Ser His Asp Gln Gly Asn Gln
165 170 175
Gly Cys Asn Gly Gly Leu Met Asp Phe Ala Phe Gln Tyr Ile Lys Glu
180 185 190
Asn Gly Gly Leu Asp Ser Glu Glu Ser Tyr Pro Tyr Glu Ala Lys Asp
195 200 205
Gly Ser Cys Lys Tyr Arg Ala Glu Tyr Ala Val Ala Asn Asp Thr Gly
210 215 220
Phe Val Asp Ile Pro Gln Gln Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val Ala
225 230 235 240
Thr Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Met Asp Ala Ser His Pro Ser Leu
245 250 255
Gln Phe Tyr Ser Ser Gly Ile Tyr Tyr Glu Pro Asn Cys Ser Ser Lys
260 265 270
Asp Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Tyr Glu Gly Thr
275 280 285
Asp Ser Asn Lys Asp Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly Lys
290 295 300
Glu Trp Gly Met Asp Gly Tyr Ile Lys Ile Ala Lys Asp Arg Asn Asn
305 310 315 320
His Cys Gly Leu Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Ile Val Asn
325 330

<210> 222
<211> 221
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 222
Ile Pro Lys Thr Val Asp Trp Arg Glu Lys Gly Cys Val Thr Pro Val
 1   5   10   15
Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ala Ser Gly
            20   25   30
Cys Leu Glu Gly Gln Met Phe Leu Lys Thr Gly Lys Leu Ile Ser Leu
        35   40   45
Ser Glu Gln Asn Leu Val Asp Cys Ser His Asp Gln Gly Asn Gln Gly
    50   55   60
Cys Asn Gly Gly Leu Met Asp Phe Ala Phe Gln Tyr Ile Lys Glu Asn
65   70   75   80
Gly Gly Leu Asp Ser Glu Glu Ser Tyr Pro Tyr Glu Ala Lys Asp Gly
                85   90   95
Ser Cys Lys Tyr Arg Ala Glu Tyr Ala Val Ala Asn Asp Thr Gly Phe
            100   105   110
Val Asp Ile Pro Gln Gln Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val Ala Thr
        115   120   125
Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Met Asp Ala Ser His Pro Ser Leu Gln
    130   135   140
Phe Tyr Ser Ser Gly Ile Tyr Tyr Glu Pro Asn Cys Ser Ser Lys Asp
145   150   155   160
Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Tyr Glu Gly Thr Asp
                165   170   175
Ser Asn Lys Asp Lys Tyr Trp Leu Val Lys Asn Ser Trp Gly Lys Glu
            180   185   190
Trp Gly Met Asp Gly Tyr Ile Lys Ile Ala Lys Asp Arg Asn Asn His
        195   200   205
Cys Gly Leu Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Ile Val Asn
    210   215   220

<210> 223
<211> 217
<212> PRT
<213> Ovis aries

<220>
<223> catepsina L madura

<400> 223
Val Pro Lys Ser Val Asp Trp Thr Lys Lys Gly Tyr Val Thr Pro Val
 1   5   10   15
Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ala Thr Gly
            20   25   30
Ala Leu Glu Gly Gln Met Phe Arg Lys Thr Gly Lys Leu Val Ser Leu
        35   40   45
Ser Glu Gln Asn Leu Val Asp Ser Ser Arg Pro Gln Gly Asn Gln Gly
    50   55   60
Cys Asn Gly Gly Leu Met Asp Asn Ala Phe Gln Tyr Ile Lys Glu Asn
65   70   75   80
Gly Gly Leu Asp Ser Glu Glu Ser Tyr Pro Tyr Glu Ala Thr Asp Thr
                85   90   95
Ser Cys Asn Tyr Lys Pro Glu Tyr Ser Ala Ala Lys Asp Thr Gly Phe
            100   105   110

Val Asp Ile Pro Gln Arg Glu Lys Ala Leu Met Lys Ala Val Ala Thr
115 120 125
Val Gly Pro Ile Ser Val Ala Ile Asp Ala Gly His Ser Ser Phe Gln
130 135 140
Phe Tyr Lys Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Asp Cys Ser Ser Lys Asp
145 150 155 160
Leu Asp His Gly Val Leu Val Val Gly Tyr Gly Phe Glu Gly Thr Asn
165 170 175
Asn Lys Phe Trp Ile Val Lys Asn Ser Trp Gly Pro Glu Trp Gly Asn
180 185 190
Lys Gly Tyr Val Lys Met Ala Lys Asp Gln Asn Asn His Cys Gly Ile
195 200 205
Ala Thr Ala Ala Ser Tyr Pro Thr Val
210 215

<210> 224
<211> 6630
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> HZ24 con PH20 y DHFR (Gen1/Gen2)

<400> 224
tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta 60
ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc 120
aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg 180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc 240
gcctggctga ccgcccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat 300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc 360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaagtccg ccccctattg acgtcaatga 420
cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttacgggact ttcctacttg 480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacac 540
caatgggcgt ggatagcggt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt 600
caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaataaccc 660
cgccccgttg acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc 720
tcgtttagtg aaccgtcaga tcactagaag ctttattgcg gtagtttatc acagttaaat 780
tgctaacgca gtcagtgctt ctgacacaac agtctcgaac ttaagctgca gaagttggtc 840
gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa 900
actgggcttg tcgagacaga gaagactctt gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac 960
tgacatccac tttgcctttc tctccacagg tgtccactcc cagttcaatt acagctctta 1020
aggctagagt acttaatacg actcactata ggctagcatg ggagtgctaa aattcaagca 1080
catcttttc agaagctttg ttaaatcaag tggagtatcc cagatagttt tcaccttcct 1140
tctgattcca tgttgcttga ctctgaattt cagagcacct cctgttattc caaatgtgcc 1200
tttcctctgg gcctggaatg ccccaagtga attttgtctt ggaaaatttg atgagccact 1260
agatatgagc ctcttctctt tcataggaag cccccgaata aacgccaccg ggcaaggtgt 1320
tacaatattt tatgttgata gacttggcta ctatccttac atagattcaa tcacaggagt 1380
aactgtgaat ggaggaatcc cccagaagat ttccttacaa gaccatctgg acaaagctaa 1440
gaaagacatt acattttata tgccagtaga caatttggga atggctgtta ttgactggga 1500
agaatggaga cccacttggg caagaaactg gaaacctaaa gatgtttaca agaataggtc 1560
tattgaattg gttcagcaac aaaatgtaca acttagtctc acagaggcca ctgagaaagc 1620
aaaacaagaa tttgaaaagg cagggaagga tttcctggta gagactataa aattgggaaa 1680
attacttcgg ccaaatcact tgtggggtta ttatcttttt ccggattgtt acaaccatca 1740
ctataagaaa cccggttaca atggaagttg cttcaatgta gaaataaaaa gaaatgatga 1800
tctcagctgg ttgtggaatg aaagcactgc tctttaccca tccatttatt tgaacactca 1860
gcagtctcct gtagctgcta cactctatgt gcgcaatcga gttcgggaag ccatcagagt 1920

ttccaaaata cctgatgcaa aaagtccact tccggttttt gcatataccc gcatagtttt 1980
tactgatcaa gttttgaaat tcctttctca agatgaactt gtgtatacat ttggcgaaac 2040
tgttgctctg ggtgcttctg gaattgtaat atggggaacc ctcagtataa tgcgaagtat 2100
gaaatcttgc ttgctcctag acaattacat ggagactata ctgaatcctt acataatcaa 2160
cgtcacacta gcagccaaaa tgtgtagcca agtgctttgc caggagcaag gagtgtgtat 2220
aaggaaaaac tggaattcaa gtgactatct tcacctcaac ccagataatt ttgctattca 2280
acttgagaaa ggtggaaagt tcacagtacg tggaaaaccg acacttgaag acctggagca 2340
attttctgaa aaatttttatt gcagctgtta tagcaccttg agttgtaagg agaaagctga 2400
tgtaaaagac actgatgctg ttgatgtgtg tattgctgat ggtgtctgta tagatgcttt 2460
tctaaaacct cccatggaga cagaagaacc tcaaattttc tactgaggat ccatagctaa 2520
cgcccctctc cctccccccc ccctaacgtt actggccgaa gccgcttgga ataaggccgg 2580
tgtgcgtttg tctatatgtt attttccacc atattgccgt cttttggcaa tgtgagggcc 2640
cggaaacctg gccctgtctt cttgacgagc attcctaggg gtctttcccc tctcgccaaa 2700
ggaatgcaag gtctgttgaa tgtcgtgaag gaagcagttc ctctggaagc ttcttgaaga 2760
caaacaacgt ctgtagcgac cctttgcagg cagcggaacc ccccacctgg cgacaggtgc 2820
ctctgcggcc aaaagccacg tgtataagat acacctgcaa aggcggcaca accccagtgc 2880
cacgttgtga gttggatagt tgtggaaaga gtcaaatggc tctcctcaag cgtattcaac 2940
aaggggctga aggatgccca gaaggtaccc cattgtatgg gatctgatct ggggcctcgg 3000
tgcacatgct ttacatgtgt ttagtcgagg ttaaaaaaac gtctaggccc cccgaaccac 3060
ggggacgtgg ttttcctttg aaaaacacga tgataagctt gccacaaccc acagcggccg 3120
ctgccatcat ggttcgacca ttgaactgca tcgtcgccgt gtcccaaaat atggggattg 3180
gcaagaacgg agacctaccc tggcctccgc tcaggaacga gttcaagtac ttccaaagaa 3240
tgaccacaac ctcttcagtg gaaggtaaac agaatctggt gattatgggt aggaaaacct 3300
ggttctccat tcctgagaag aatcgacctt taaaggacag aattaatata gttctcagta 3360
gagaactcaa agaaccacca cgaggagctc attttcttgc caaaagtttg gatgatgcct 3420
taagacttat tgaacaaccg gaattggcaa gtaaagtaga catggtttgg atagtcggag 3480
gcagttctgt ttaccaggaa gccatgaatc aaccaggcca cctcagactc tttgtgacaa 3540
ggatcatgca ggaatttgaa agtgacacgt ttttcccaga aattgatttg gggaaatata 3600
aacttctccc agaataccca ggcgtcctct ctgaggtcca ggaggaaaaa ggcatcaagt 3660
ataagtttga agtctacgag aagaaagact aaacgcgtgg tacctctaga gtcgacccgg 3720
gcggccgctt cgagcagaca tgataagata cattgatgag tttggacaaa ccacaactag 3780
aatgcagtga aaaaaatgct ttatttgtga aatttgtgat gctattgctt tatttgtaac 3840
cattataagc tgcaataaac aagttaacaa caacaattgc attcatttta tgtttcaggt 3900
tcaggggggag atgtgggagg ttttttaaag caagtaaaac ctctacaaat gtggtaaaat 3960
cgataaggat ccgggctggc gtaatagcga agaggcccgc accgatcgcc cttcccaaca 4020
gttgcgcagc ctgaatggcg aatggacgcg ccctgtagcg gcgcattaag cgcggcgggt 4080
gtggtggtta cgcgcagcgt gaccgctaca cttgccagcg ccctagcgcc cgctcctttc 4140
gctttcttcc cttcctttct cgccacgttc gccggctttc cccgtcaagc tctaaatcgg 4200
gggctccctt tagggttccg atttagtgct ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat 4260
tagggtgatg gttcacgtag tgggccatcg ccctgataga cggtttttcg ccctttgacg 4320
ttggagtcca cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct 4380
atctcggtct attcttttga tttataaggg attttgccga tttcggccta ttggttaaaa 4440
aatgagctga tttaacaaaa atttaacgcg aattttaaca aaatattaac gcttacaatt 4500
tcctgatgcg gtattttctc cttacgcatc tgtgcggtat ttcacaccgc atatggtgca 4560
ctctcagtac aatctgctct gatgccgcat agttaagcca gccccgacac ccgccaacac 4620
ccgctgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcatc cgcttacaga caagctgtga 4680
ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcaccgtc atcaccgaaa cgcgcgagac 4740
gaaagggcct cgtgatacgc ctatttttat aggttaatgt catgataata atggtttctt 4800
agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct 4860
aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg cttcaataat 4920
attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt cgcccttatt ccctttttttg 4980
cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg 5040
aagatcagtt gggtgcacga gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc 5100
ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc caatgatgag cacttttaaa gttctgctat 5160
gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact 5220
attctcagaa tgacttggtt gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca 5280
tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca taaccatgag tgataacact gcggccaact 5340

```
tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg 5400
atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg 5460
agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg 5520
aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg gatggaggcg gataaagttg 5580
caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat aaatctggag 5640
ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc 5700
gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc aggcaactat ggatgaacga aatagacaga 5760
tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc attggtaact gtcagaccaa gtttactcat 5820
atatacttta gattgattta aaacttcatt tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc 5880
tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag 5940
accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct 6000
gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag cggtggtttg tttgccggat caagagctac 6060
caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgttcttc 6120
tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca agaactctgt agcaccgcct acatacctcg 6180
ctctgctaat cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt 6240
tggactcaag acgatagtta ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt 6300
gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc 6360
tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca 6420
gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata 6480
gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg 6540
ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttcctg gccttttgct 6600
ggccttttgc tcacatggct cgacagatct                                  6630
```

<210> 225
<211> 482

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor soluble rHuPH20

<400> 225

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

```
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
            180                 185                 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
        195                 200                 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
    210                 215                 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225                 230                 235                 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
                245                 250                 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
            260                 265                 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
        275                 280                 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
    290                 295                 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305                 310                 315                 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
                325                 330                 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
            340                 345                 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
        355                 360                 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
    370                 375                 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                 390                 395                 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
                405                 410                 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
            420                 425                 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
        435                 440                 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
    450                 455                 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                 470                 475                 480
Phe Tyr
```

<210> 226
<211> 447
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> rHuPH20 1-447 soluble

<400> 226

```
Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1               5                  10                  15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
            20                  25                  30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
        35                  40                  45
```

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

<210> 227
<211> 446
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> rHuPH20 1-446 soluble

<400> 227

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

```
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
            420                 425                 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe
        435                 440                 445


<210> 228
<211> 445
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> rHuPH20 1-445 soluble

<400> 228
Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1               5                  10                  15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
            20                  25                  30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
        35                  40                  45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
    50                  55                  60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65                  70                  75                  80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
                85                  90                  95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
            100                 105                 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
        115                 120                 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
    130                 135                 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145                 150                 155                 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
            180                 185                 190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
        195                 200                 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
    210                 215                 220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225                 230                 235                 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
                245                 250                 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
            260                 265                 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
        275                 280                 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
    290                 295                 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305                 310                 315                 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
                325                 330                 335
```

```
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
            340                 345                 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
        355                 360                 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
    370                 375                 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385                 390                 395                 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
                405                 410                 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
            420                 425                 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
        435                 440                 445
```

<210> 229
<211> 444
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> rHuPH20 1-444 soluble

<400> 229

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

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

<210> 230
<211> 443
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> rHuPH20 1-443 soluble

<400> 230

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

812

```
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
            180                 185                 190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
        195                 200                 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
    210                 215                 220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225                 230                 235                 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
                245                 250                 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
            260                 265                 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
        275                 280                 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
    290                 295                 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305                 310                 315                 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
                325                 330                 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
            340                 345                 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
        355                 360                 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
    370                 375                 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385                 390                 395                 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
                405                 410                 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
            420                 425                 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro
        435                 440
```

<210> 231
<211> 442
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> rHuPH20 1-442 soluble

<400> 231

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

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

<210> 232
<211> 509
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor PH20

<400> 232

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

820

```
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
    450                 455                 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                 470                 475                 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
                485                 490                 495
Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
            500                 505
```

<210> 233
<211> 474
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> PH20 maduro

<400> 233

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

821

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
465 470

<210> 234
<211> 333
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> variantes alélicos de catepsina L

<220>
<221> VARIANTE
<222> 56
<223> M o V

<220>
<221> VARIANTE
<222> 268
<223> D o N

<400> 234
Met Asn Pro Thr Leu Ile Leu Ala Ala Phe Cys Leu Gly Ile Ala Ser
1 5 10 15
Ala Thr Leu Thr Phe Asp His Ser Leu Glu Ala Gln Trp Thr Lys Trp
20 25 30
Lys Ala Met His Asn Arg Leu Tyr Gly Met Asn Glu Glu Gly Trp Arg
35 40 45
Arg Ala Val Trp Glu Lys Asn Met Lys Met Ile Glu Leu His Asn Gln
50 55 60
Glu Tyr Arg Glu Gly Lys His Ser Phe Thr Met Ala Met Asn Ala Phe
65 70 75 80
Gly Asp Met Thr Ser Glu Glu Phe Arg Gln Val Met Asn Gly Phe Gln
85 90 95
Asn Arg Lys Pro Arg Lys Gly Lys Val Phe Gln Glu Pro Leu Phe Tyr
100 105 110

822

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

<210> 235
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Etiqueta 6 x His

<400> 235
His His His His His
 1   5

<210> 236
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Etiqueta Flag

<400> 236
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1   5

<210> 237

<211> 450
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> hialuronidasa

<400> 237
Met Arg Pro Phe Ser Leu Glu Val Ser Leu His Leu Pro Trp Ala Met
1 5 10 15
Ala Ala His Leu Leu Pro Val Cys Thr Leu Phe Leu Asn Leu Leu Ser
20 25 30
Met Thr Gln Gly Ser Arg Asp Pro Val Val Pro Asn Gln Pro Phe Thr
35 40 45
Thr Ile Trp Asn Ala Asn Thr Glu Trp Cys Met Lys Lys His Gly Val
50 55 60
Asp Val Asp Ile Ser Ile Phe Asp Val Val Thr Asn Pro Gly Gln Thr
65 70 75 80
Phe Arg Gly Pro Asn Met Thr Ile Phe Tyr Ser Ser Gln Leu Gly Thr
85 90 95
Tyr Pro Tyr Tyr Thr Ser Ala Gly Glu Pro Val Phe Gly Gly Leu Pro
100 105 110
Gln Asn Ala Ser Leu Asn Ala His Leu Ala Arg Thr Phe Gln Asp Ile
115 120 125
Leu Ala Ala Met Pro Glu Pro Arg Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile Asp
130 135 140
Trp Glu Ala Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Thr Lys Asp
145 150 155 160
Ile Tyr Arg Gln Arg Ser Arg Ala Leu Val Gln Lys Gln His Pro Asp
165 170 175
Trp Leu Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Ala Gln Asp Gln Phe Glu Gly
180 185 190
Ala Ala Glu Glu Trp Met Ala Gly Thr Leu Lys Leu Gly Gln Ala Leu
195 200 205

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

824

```
Ala Arg Arg Pro Ser Tyr Pro Lys Ala Arg Leu Ile Leu Asn Ser Thr
385                 390                 395                 400
Ser Phe Ser Ile Lys Pro Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Thr Leu Gln
                405                 410                 415
Gly Ala Leu Ser Leu Glu Asp Arg Leu Arg Met Ala Val Glu Phe Glu
            420                 425                 430
Cys Arg Cys Tyr Arg Gly Trp Arg Gly Thr Arg Cys Glu Gln Trp Gly
        435                 440                 445
Met Trp
    450
```

<210> 238
<211> 331
<212> PRT
<213> Vespula vulgaris

<220>
<223> hialuronidasa A

<400> 238

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

```
Gly Gly Asp Gly Ile Ile Ile Trp Gly Ser Ser Ser Asp Val Asn Ser
    290                 295                 300
Leu Ser Lys Cys Lys Arg Leu Gln Asp Tyr Leu Leu Thr Val Leu Gly
305                 310                 315                 320
Pro Ile Ala Ile Asn Val Thr Glu Ala Val Asn
                325                 330
```

<210> 239
<211> 340
<212> PRT
<213> Vespula vulgaris

<220>
<223> hialuronidasa B

<400> 239

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

Leu Gly Pro Ile Ala Phe Lys Val Thr Lys Ala Val Lys Glu Asn Thr
325 330 335
Pro Leu Asn Phe
340

<210> 240
<211> 382
<212> PRT
<213> Apis mellifera

<220>
<223> hialuronidasa

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

827

```
Asp Asp Ile Asn Thr Lys Ala Lys Cys Leu Gln Phe Arg Glu Tyr Leu
            340                 345                 350
Asn Asn Glu Leu Gly Pro Ala Val Lys Arg Ile Ala Leu Asn Asn Asn
        355                 360                 365
Ala Asn Asp Arg Leu Thr Val Asp Val Ser Val Asp Gln Val
    370                 375                 380
```

<210> 241
<211> 331
<212> PRT
<213> Dolichovespula maculata

<220>
<223> hialuronidasa

<400> 241

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

828

```
Pro Ile Thr Val Asn Val Thr Glu Thr Val Asn
                325                 330
```

<210> 242
<211> 367
<212> PRT
<213> Polistes annularis

<220>
<223> hialuronidasa

<400> 242

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

Val Asn Val Thr Glu Thr Val Asn Gly Arg Ser Ser Leu Asn Phe
355 360 365

<210> 243
<211> 462
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> hialuronidasa

<400> 243
Met Leu Gly Leu Thr Gln His Ala Gln Lys Val Trp Arg Met Lys Pro
1 5 10 15
Phe Ser Pro Glu Val Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ala Thr Ala Gly His
20 25 30
Leu Leu Arg Ile Ser Thr Leu Phe Leu Thr Leu Leu Glu Leu Ala Gln
35 40 45
Val Cys Arg Gly Ser Val Val Ser Asn Arg Pro Phe Ile Thr Val Trp
50 55 60
Asn Gly Asp Thr His Trp Cys Leu Thr Glu Tyr Gly Val Asp Val Asp
65 70 75 80
Val Ser Val Phe Asp Val Val Ala Asn Lys Glu Gln Ser Phe Gln Gly
85 90 95
Ser Asn Met Thr Ile Phe Tyr Arg Glu Glu Leu Gly Thr Tyr Pro Tyr
100 105 110
Tyr Thr Pro Thr Gly Glu Pro Val Phe Gly Gly Leu Pro Gln Asn Ala
115 120 125
Ser Leu Val Thr His Leu Ala His Thr Phe Gln Asp Ile Lys Ala Ala
130 135 140
Met Pro Glu Pro Asp Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu Ala
145 150 155 160
Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Ser Lys Asp Ile Tyr Arg
165 170 175
Gln Arg Ser Met Glu Leu Val Gln Ala Glu His Pro Asp Trp Pro Glu
180 185 190
Thr Leu Val Glu Ala Ala Ala Lys Asn Gln Phe Gln Glu Ala Ala Glu
195 200 205
Ala Trp Met Ala Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Val Leu Arg Pro Arg
210 215 220
Gly Leu Trp Gly Tyr Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Asn Asp Phe
225 230 235 240
Leu Ser Leu Asn Tyr Thr Gly Gln Cys Pro Val Phe Val Arg Asp Gln
245 250 255
Asn Asp Gln Leu Gly Trp Leu Trp Asn Gln Ser Tyr Ala Leu Tyr Pro
260 265 270
Ser Ile Tyr Leu Pro Ala Ala Leu Met Gly Thr Gly Lys Ser Gln Met
275 280 285
Tyr Val Arg His Arg Val Gln Glu Ala Leu Arg Val Ala Ile Val Ser
290 295 300
Arg Asp Pro His Val Pro Val Met Pro Tyr Val Gln Ile Phe Tyr Glu
305 310 315 320
Met Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Leu Glu Glu Leu Glu His Ser Leu Gly
325 330 335
Glu Ser Ala Ala Gln Gly Val Ala Gly Ala Val Leu Trp Leu Ser Ser
340 345 350

```
Asp Lys Thr Ser Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Ala Tyr Met
        355                 360                 365
Asp Ser Thr Leu Gly Pro Phe Ile Val Asn Val Thr Ser Ala Ala Leu
    370                 375                 380
Leu Cys Ser Glu Ala Leu Cys Ser Gly His Gly Arg Cys Val Arg His
385                 390                 395                 400
Pro Ser Tyr Pro Glu Ala Leu Leu Thr Leu Asn Pro Ala Ser Phe Ser
                405                 410                 415
Ile Glu Leu Thr His Asp Gly Arg Pro Pro Ser Leu Lys Gly Thr Leu
            420                 425                 430
Ser Leu Lys Asp Arg Ala Gln Met Ala Met Lys Phe Arg Cys Arg Cys
        435                 440                 445
Tyr Arg Gly Trp Arg Gly Lys Trp Cys Asp Lys Arg Gly Met
    450                 455                 460
```

<210> 244
<211> 473
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> Hialuronidasa 2

<400> 244

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

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

<210> 245
<211> 412
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> hialurinidasa 3

<400> 245

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

832

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

<210> 246
<211> 435
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> hialauronidasa

<400> 246

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

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

Cys Val Arg Arg Pro Ser His Thr Glu Ala Leu Pro Ile Leu Asn Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Phe Ser Ile Lys Pro Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Thr Leu
385                 390                 395                 400
Gln Gly Ala Leu Ser Leu Lys Asp Arg Val Gln Met Ala Glu Glu Phe
                405                 410                 415
Gln Cys Arg Cys Tyr Pro Gly Trp Arg Gly Thr Trp Cys Glu Gln Gln
            420                 425                 430
Gly Thr Arg
        435
```

<210> 247
<211> 419
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> hialuronidasa 3

<400> 247

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

<210> 248

<211> 449
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> hialuronidasa 1

<400> 248

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

836

```
Val Arg His Pro Ser Tyr Pro Glu Ala Leu Leu Thr Leu Ser Pro Ala
385                 390                 395                 400
Ser Phe Ser Ile Glu Pro Thr His Asp Gly Arg Pro Leu Ser Leu Lys
                405                 410                 415
Gly Thr Leu Ser Leu Lys Asp Arg Ala Gln Met Ala Met Lys Phe Lys
            420                 425                 430
Cys Arg Cys Tyr Arg Gly Trp Ser Gly Glu Trp Cys Lys Lys Gln Asp
        435                 440                 445
Met
```

<210> 249
<211> 473
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> hialuronidasa 2

```
<400> 249
Met Arg Ala Gly Leu Gly Pro Ile Ile Thr Leu Ala Leu Val Leu Glu
 1               5                  10                  15
Val Ala Trp Ala Ser Glu Leu Lys Pro Thr Ala Pro Pro Ile Phe Thr
            20                  25                  30
Gly Arg Pro Phe Val Val Ala Trp Asn Val Pro Thr Gln Glu Cys Ala
        35                  40                  45
Pro Arg His Lys Val Pro Leu Asp Leu Arg Ala Phe Asp Val Glu Ala
    50                  55                  60
Thr Pro Asn Glu Gly Phe Phe Asn Gln Asn Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr
65                  70                  75                  80
Asp Arg Leu Gly Leu Tyr Pro Arg Phe Asp Ala Ala Gly Met Ser Val
                85                  90                  95
His Gly Gly Val Pro Gln Asn Gly Ser Leu Cys Ala His Leu Pro Met
            100                 105                 110
Leu Lys Glu Ala Val Glu Arg Tyr Ile Gln Thr Gln Glu Pro Ala Gly
        115                 120                 125
Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Val Trp Val Arg Asn
    130                 135                 140
Trp Gln Glu Lys Asp Val Tyr Arg Gln Ser Ser Arg Gln Leu Val Ala
145                 150                 155                 160
Ser Arg His Pro Asp Trp Pro Ser Asp Arg Ile Val Lys Gln Ala Gln
                165                 170                 175
Tyr Glu Phe Glu Phe Ala Ala Arg Gln Phe Met Leu Asn Thr Leu Arg
            180                 185                 190
Tyr Val Lys Ala Val Arg Pro Gln His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe
        195                 200                 205
Pro Asp Cys Tyr Asn His Asp Tyr Val Gln Asn Trp Asp Ser Tyr Thr
    210                 215                 220
Gly Arg Cys Pro Asp Val Glu Val Ala Gln Asn Asp Gln Leu Ala Trp
225                 230                 235                 240
Leu Trp Ala Glu Asn Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asp Lys
                245                 250                 255
Thr Leu Ala Ser Ser Lys His Ser Arg Asn Phe Val Ser Phe Arg Val
            260                 265                 270
Gln Glu Ala Leu Arg Val Ala His Thr His His Ala Asn His Ala Leu
        275                 280                 285
```

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

<210> 250
<211> 412
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> hialuronidasa 3

<400> 250

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

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

<210> 251
<211> 545

<212> PRT
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>
<223> PH20

<400> 251

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

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

840

<210> 252
<211> 476
<212> PRT
<213> Ovis aries

<220>
<223> hialuronidasa 2

<400> 252

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

841

```
Asn Ala His Thr Phe Leu His Leu Ser Ala Ser Ser Phe Arg Leu Val
385                 390                 395                 400
Pro Ser His Ala Pro Asp Glu Pro Arg Leu Arg Pro Glu Gly Glu Leu
                405                 410                 415
Ser Trp Ala Asp Arg Asn His Leu Gln Thr His Phe Arg Cys Gln Cys
            420                 425                 430
Tyr Leu Gly Trp Gly Gly Glu Gln Cys Gln Trp Asp Arg Arg Arg Ala
        435                 440                 445
Ala Gly Gly Ala Ser Gly Ala Trp Ala Gly Ser His Leu Thr Gly Leu
    450                 455                 460
Leu Ala Val Ala Val Leu Ala Phe Thr Trp Thr Ser
465                 470                 475


<210> 253
<211> 414
<212> PRT
<213> Pongo pygmaeus

<220>
<223> hialuronidasa 3

<400> 253
Met Thr Thr Arg Leu Gly Pro Ala Leu Val Leu Gly Val Ala Leu Cys
 1               5                  10                  15
Leu Gly Cys Gly Gln Pro Leu Pro Gln Val Pro Glu Arg Pro Phe Ser
            20                  25                  30
Val Leu Trp Asn Val Pro Ser Ala His Cys Lys Ser Arg Phe Gly Val
        35                  40                  45
His Leu Pro Leu Asn Ala Leu Gly Ile Ile Ala Asn Arg Gly Gln His
    50                  55                  60
Phe His Gly Gln Asn Met Thr Ile Phe Tyr Lys Asn Gln Leu Gly Leu
65                  70                  75                  80
Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Lys Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Pro
                85                  90                  95
Gln Ala Leu Pro Leu Asp Arg His Leu Ala Leu Ala Ala Tyr Gln Ile
            100                 105                 110
His His Ser Leu Arg Pro Gly Phe Ala Gly Pro Ala Val Leu Asp Trp
        115                 120                 125
Glu Glu Trp Cys Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Arg Arg Arg Ala
    130                 135                 140
Tyr Gln Ala Ala Ser Trp Ala Trp Ala Gln Gln Val Phe Pro Asp Leu
145                 150                 155                 160
Asp Pro Gln Glu Gln Leu Tyr Lys Ala Tyr Thr Gly Phe Glu Gln Ala
                165                 170                 175
Ala Arg Ala Leu Met Glu Asp Thr Leu Arg Val Ala Gln Ala Leu Arg
            180                 185                 190
Pro His Gly Leu Trp Gly Phe Tyr His Tyr Pro Ala Cys Gly Asn Gly
        195                 200                 205
Trp His Ser Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly Arg Cys His Ala Ala Thr
    210                 215                 220
Leu Ala Arg Asn Thr Gln Leu His Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser Ala
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Pro Arg Leu Pro Pro Ala His His
                245                 250                 255
Gln Ala Phe Val Arg His Arg Leu Glu Glu Ala Phe Arg Val Ala Leu
            260                 265                 270
```

842

```
Val Gly His Leu Pro Val Leu Ala Tyr Val Arg Leu Thr His Arg Arg
        275                 280                 285
Ser Gly Arg Phe Leu Ser Gln Asp Asp Leu Val Gln Thr Ile Gly Val
    290                 295                 300
Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp Gly Asp Leu Ser
305                 310                 315                 320
Leu Ser Ser Ser Glu Glu Glu Cys Trp His Leu His Asp Tyr Leu Val
                325                 330                 335
Asp Thr Leu Gly Pro Tyr Gly Ile Asn Val Thr Arg Ala Ala Met Ala
            340                 345                 350
Cys Ser His Gln Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys Ala Arg Arg Asp
        355                 360                 365
Pro Gly Gln Met Glu Ala Phe Leu His Leu Trp Pro Asp Gly Ser Leu
    370                 375                 380
Gly Asp Trp Lys Ser Phe Ser Cys His Cys Tyr Trp Gly Trp Ala Gly
385                 390                 395                 400
Pro Thr Cys Gln Glu Pro Arg Leu Gly Pro Lys Glu Ala Val
                405                 410
```

<210> 254
<211> 510
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<220>
<223> PH20

<400> 254

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

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

<210> 255
<211> 529
<212> PRT
<213> Cavia porcellus

<220>
<223> PH20

<400> 255

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

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

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Gly Gln Val Leu Cys Lys Asn Gln
    370                 375                 380
Gly Ile Cys Thr Arg Lys Asp Trp Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His Leu
385                 390                 395                 400
Asn Ala Thr Asn Phe Asp Ile Glu Leu Gln Gln Asn Gly Lys Phe Val
                405                 410                 415
Val His Gly Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Gln Glu Phe Ser Lys Asn
            420                 425                 430
Phe His Cys Ser Cys Tyr Thr Asn Val Ala Cys Lys Asp Arg Leu Asp
        435                 440                 445
Val His Asn Val Arg Ser Val Asn Val Cys Thr Ala Asn Asn Ile Cys
    450                 455                 460
Ile Asp Ala Val Leu Asn Phe Pro Ser Leu Asp Asp Asp Asp Glu Pro
465                 470                 475                 480
Pro Ile Thr Asp Asp Thr Ser Gln Asn Gln Asp Ser Ile Ser Asp Ile
                485                 490                 495
Thr Ser Ser Ala Pro Pro Ser Ser His Ile Leu Pro Lys Asp Leu Ser
            500                 505                 510
Trp Cys Leu Phe Leu Leu Ser Ile Phe Ser Gln His Trp Lys Tyr Leu
        515                 520                 525
```

Leu

<210> 256
<211> 512
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> PH20

<400> 256
Met Gly Glu Leu Gln Phe Lys Trp Leu Phe Trp Arg Ser Phe Ala Glu
1 5 10 15
Ser Gly Gly Thr Phe Gln Thr Val Leu Ile Phe Leu Phe Ile Pro Tyr
20 25 30
Ser Leu Thr Val Asp Tyr Arg Ala Thr Pro Val Leu Ser Asp Thr Thr
35 40 45
Phe Val Trp Val Trp Asn Val Pro Thr Glu Ala Cys Val Glu Asn Val
50 55 60
Thr Glu Pro Ile Asp Leu Ser Phe Phe Ser Leu Ile Gly Ser Pro Arg
65 70 75 80
Lys Thr Ala Ile Gly Gln Pro Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95
Gly Asn Tyr Pro His Ile Asp Ala Gln Gln Thr Glu His His Gly Gly
100 105 110
Ile Pro Gln Lys Gly Asp Leu Thr Thr His Leu Val Lys Ala Lys Glu
115 120 125
Asp Val Glu Arg Tyr Ile Pro Thr Asp Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile
130 135 140
Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Met Arg Asn Trp Thr Pro Lys
145 150 155 160
Asp Ile Tyr Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Gln Ala Ala Asp Pro
165 170 175
Ala Ile Asn Ile Thr Glu Ala Thr Val Arg Ala Lys Ala Gln Phe Glu
180 185 190
Gly Ala Ala Lys Glu Phe Met Glu Gly Thr Leu Lys Leu Gly Lys His
195 200 205
Ile Arg Pro Lys His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr
210 215 220
Asn Asn Lys Phe Gln Val Asp Asn Tyr Asp Gly Gln Cys Pro Asp Val
225 230 235 240
Glu Lys Lys Arg Asn Asp Asp Leu Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr
245 250 255
Gly Leu Tyr Pro Ser Val Tyr Leu Lys Lys Asp Leu Lys Ser Ser Arg
260 265 270
Lys Ala Thr Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Leu Glu Ser Ile Arg Val
275 280 285
Ser Lys Val Ser Asp Glu Ser Asn Pro Val Pro Ile Phe Val Tyr Ile
290 295 300
Arg Leu Val Phe Thr Asp His Val Ser Glu Tyr Leu Leu Glu Asp Asp
305 310 315 320
Leu Val Asn Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Gln Gly Thr Ser Gly Ile
325 330 335
Ile Ile Trp Asp Ala Met Ser Leu Ala Gln Arg Ser Ala Gly Cys Pro
340 345 350

```
Ile Leu Arg Gln Tyr Met Lys Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Val Asn
        355                 360                 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Thr Leu Cys Lys Glu Lys
    370                 375                 380
Gly Met Cys Ser Arg Lys Thr Glu Ser Ser Asp Ala Tyr Leu His Leu
385                 390                 395                 400
Asp Pro Ser Ser Phe Ser Ile Asn Val Thr Glu Ala Gly Lys Tyr Glu
                405                 410                 415
Val Leu Gly Lys Pro Glu Val Lys Asp Leu Glu Tyr Phe Ser Glu His
            420                 425                 430
Phe Lys Cys Ser Cys Phe Ser Lys Met Thr Cys Glu Glu Thr Ser Asp
        435                 440                 445
Met Arg Ser Ile Gln Asp Val Asn Val Cys Met Gly Asp Asn Val Cys
    450                 455                 460
Ile Lys Ala Thr Leu Gly Pro Asn Ser Ala Phe His Leu Leu Pro Gly
465                 470                 475                 480
Lys Gly Leu Leu Leu Met Thr Thr Leu Ala His Ile Leu His His Leu
                485                 490                 495
Pro His Asp Ile Phe Val Phe Pro Trp Lys Met Leu Val Ser Thr Pro
            500                 505                 510
```

<210> 257
<211> 512
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> PH20

<400> 257

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

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

<210> 258
<211> 807
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus

<220>
<223> hialuronidasa

<400> 258

```
Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu
 1               5                  10                  15
Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Val
            20                  25                  30
Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asp
        35                  40                  45
Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
    50                  55                  60
```

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

Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr
        355                 360                 365
Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser
    370                 375                 380
Asp Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys
385                 390                 395                 400
Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Asn Asp Tyr Leu Asn
                405                 410                 415
Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Asn Ser
            420                 425                 430
Ile Ser Lys Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Met
        435                 440                 445
Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu
    450                 455                 460
Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu
465                 470                 475                 480
Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn
                485                 490                 495
Ser Asp Val Lys His Tyr His Asp Asn Phe Trp Val Thr Ala Asp Met
            500                 505                 510
```

```
Lys Arg Leu Ser Gly Thr Thr Thr Leu Asp Asn Glu Ile Leu Lys Asp
        515                 520                 525
Thr Asp Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val
    530                 535                 540
Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys
545                 550                 555                 560
Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val
                565                 570                 575
Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Pro Val
            580                 585                 590
Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr Asp
        595                 600                 605
Asp Lys Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Asn Asn Ser Val Phe
    610                 615                 620
Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn
625                 630                 635                 640
Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys
                645                 650                 655
Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr
            660                 665                 670
Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val
        675                 680                 685
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu
    690                 695                 700
Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn
705                 710                 715                 720
Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe
                725                 730                 735
Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile
            740                 745                 750
Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
        755                 760                 765
Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
    770                 775                 780

Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly
785                 790                 795                 800
Val His Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 259
<211> 371
<212> PRT
<213> Bacteriófago H4489A de Streptococcus pyogenes

<220>
<223> hialuronidasa

```
<400> 259
Met Thr Glu Asn Ile Pro Leu Arg Val Gln Phe Lys Arg Met Ser Ala
 1                5                  10                  15
Asp Glu Trp Ala Arg Ser Asp Val Ile Leu Leu Glu Gly Glu Ile Gly
            20                  25                  30
Phe Glu Thr Asp Thr Gly Phe Ala Lys Phe Gly Asp Gly Gln Asn Thr
        35                  40                  45
```

850

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

<210> 260
<211> 1628
<212> PRT
<213> Clostridium perfringens

<220>
<223> hialuronidasa

<400> 260

```
Met Asn Lys Asn Ile Arg Lys Ile Ile Thr Ser Thr Val Leu Ala Ala
 1               5                  10                  15
Met Thr Ile Ser Val Leu Pro Ser Asn Leu Val Val Phe Ala Thr Asp
            20                  25                  30
```

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

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

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

Glu Gly Ser Ile Thr Tyr Arg Leu Ser Glu Lys Thr Asp Val Arg Lys
1265                1270                1275                1280
Val Thr Ile Val Gln Ser Gly Ser Ser Ile Ser Asn Ala Lys Val Met
                1285                1290                1295
Ala Arg Val Gly Asp Gly Ser Glu Asn Val Thr Asp Gln Trp Val Gln
            1300                1305                1310
Leu Gly Thr Leu Ser Asn Ser Leu Asn Glu Phe Ile Asn Arg Asp Tyr
        1315                1320                1325
Asn Asn Ile Tyr Glu Ile Lys Ile Glu Trp Thr Asp Val Ala Pro Asn
    1330                1335                1340
Ile Tyr Glu Ile Ile Thr Leu Asn Gln Glu Phe Glu Phe Pro Val Asn
1345                1350                1355                1360
Asp Ser Leu Lys Ala Lys Tyr Asp Glu Leu Ile Asn Leu Ser Gly Asp
                1365                1370                1375
```

Glu Tyr Thr Leu Ser Ser Phe Glu Thr Leu Lys Glu Ala Leu Asn Glu
1380 1385 1390
Ala Lys Ser Ile Leu Asp Asp Ser Asn Ser Ser Gln Lys Lys Ile Asp
1395 1400 1405
Lys Ala Leu Glu Lys Leu Asn Lys Ala Glu Glu Arg Leu Asp Leu Arg
1410 1415 1420
Ala Thr Asp Phe Glu Asp Phe Asn Lys Val Leu Thr Leu Gly Asn Ser
1425 1430 1435 1440
Leu Val Glu Glu Glu Tyr Thr Ala Glu Ser Trp Ala Leu Phe Ser Glu
1445 1450 1455
Val Leu Glu Ala Ala Asn Glu Ala Asn Lys Asn Lys Ala Asp Tyr Thr
1460 1465 1470
Gln Asp Gln Ile Asn Gln Ile Val Ile Asp Leu Asp Ala Ser Ile Lys
1475 1480 1485
Ala Leu Val Lys Glu Thr Pro Glu Val Asp Lys Thr Asn Leu Gly Glu
1490 1495 1500
Leu Ile Asn Gln Gly Lys Ser Leu Leu Asp Glu Ser Val Glu Gly Phe
1505 1510 1515 1520
Asn Val Gly Glu Tyr His Lys Gly Ala Lys Asp Gly Leu Thr Val Glu
1525 1530 1535
Ile Asn Lys Ala Glu Glu Val Phe Asn Lys Glu Asp Ala Thr Glu Glu
1540 1545 1550
Glu Ile Asn Leu Ala Lys Glu Ser Leu Glu Gly Ala Ile Ala Arg Phe
1555 1560 1565
Asn Ser Leu Leu Ile Glu Glu Ser Thr Gly Asp Phe Asn Gly Asn Gly
1570 1575 1580
Lys Ile Asp Ile Gly Asp Leu Ala Met Val Ser Lys Asn Ile Gly Ser
1585 1590 1595 1600
Thr Thr Asn Thr Ser Leu Asp Leu Asn Lys Asp Gly Ser Ile Asp Glu

1605 1610 1615
Tyr Glu Ile Ser Phe Ile Asn His Arg Ile Leu Asn
1620 1625

<210> 261
<211> 186
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> dihidrofolato reductasa

<400> 261
Val Arg Pro Leu Asn Cys Ile Val Ala Val Ser Gln Asn Met Gly Ile
1 5 10 15
Gly Lys Asn Gly Asp Leu Pro Trp Pro Pro Leu Arg Asn Glu Phe Lys
20 25 30
Tyr Phe Gln Arg Met Thr Thr Thr Ser Ser Val Glu Gly Lys Gln Asn
35 40 45
Leu Val Ile Met Gly Arg Lys Thr Trp Phe Ser Ile Pro Glu Lys Asn
50 55 60
Arg Pro Leu Lys Asp Arg Ile Asn Ile Val Leu Ser Arg Glu Leu Lys
65 70 75 80
Glu Pro Pro Arg Gly Ala His Phe Leu Ala Lys Ser Leu Asp Asp Ala
85 90 95

855

```
Leu Arg Leu Ile Glu Gln Pro Glu Leu Ala Ser Lys Val Asp Met Val
            100                 105                 110
Trp Ile Val Gly Gly Ser Ser Val Tyr Gln Glu Ala Met Asn Gln Pro
        115                 120                 125
Gly His Leu Arg Leu Phe Val Thr Arg Ile Met Gln Glu Phe Glu Ser
    130                 135                 140
Asp Thr Phe Phe Pro Glu Ile Asp Leu Gly Lys Tyr Lys Leu Leu Pro
145                 150                 155                 160
Glu Tyr Pro Gly Val Leu Ser Glu Val Gln Glu Glu Lys Gly Ile Lys
                165                 170                 175
Tyr Lys Phe Glu Val Tyr Glu Lys Lys Asp
            180                 185
```

<210> 262
<211> 435
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Hialuronidasa-1 [Precursor]

<400> 262

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

```
Ala Val Ala Ala Gly Asp Pro Asn Leu Pro Val Leu Pro Tyr Val Gln
        275                 280                 285
Ile Phe Tyr Asp Thr Thr Asn His Phe Leu Pro Leu Asp Glu Leu Glu
    290                 295                 300
His Ser Leu Gly Glu Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu
305                 310                 315                 320
Trp Val Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile
                325                 330                 335
Lys Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Gly Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr
            340                 345                 350
Ser Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Leu Cys Ser Gly His Gly Arg
        355                 360                 365
Cys Val Arg Arg Thr Ser His Pro Lys Ala Leu Leu Leu Leu Asn Pro
    370                 375                 380
Ala Ser Phe Ser Ile Gln Leu Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Ser Leu
385                 390                 395                 400
Arg Gly Ala Leu Ser Leu Glu Asp Gln Ala Gln Met Ala Val Glu Phe
                405                 410                 415
Lys Cys Arg Cys Tyr Pro Gly Trp Gln Ala Pro Trp Cys Glu Arg Lys
            420                 425                 430
Ser Met Trp
        435
```

<210> 263
<211> 473
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Hialuronidasa-2 [Precursor]

<400> 263

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

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

<210> 264
<211> 417
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Hialuronidasa-3 [Precursor]

<400> 264

```
Met Thr Thr Gln Leu Gly Pro Ala Leu Val Leu Gly Val Ala Leu Cys
 1               5                  10                  15
Leu Gly Cys Gly Gln Pro Leu Pro Gln Val Pro Glu Arg Pro Phe Ser
            20                  25                  30
Val Leu Trp Asn Val Pro Ser Ala His Cys Glu Ala Arg Phe Gly Val
        35                  40                  45
His Leu Pro Leu Asn Ala Leu Gly Ile Ile Ala Asn Arg Gly Gln His
    50                  55                  60
```

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

<210> 265
<211> 481
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Hialuronidasa-4

<400> 265

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

Phe Ser Cys His Cys Tyr Gln Gly Tyr Glu Gly Ala Asp Cys Arg Glu
        435                 440                 445
```

860

```
Ile Lys Thr Ala Asp Gly Cys Ser Gly Val Ser Pro Ser Pro Gly Ser
    450                 455                 460
Leu Met Thr Leu Cys Leu Leu Leu Leu Ala Ser Tyr Arg Ser Ile Gln
465                 470                 475                 480
Leu
```

<210> 266
<211> 553
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> PH20

<400> 266

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

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

<210> 267
<211> 114
<212> PRT
<213> Ovis aries

<220>
<223> Secuencia parcial PH20

<400> 267

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

<210> 268
<211> 1446
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>
<223> ADN que codifica rHuPH20 soluble "precursor"

<400> 268
atgggagtgc taaaattcaa gcacatcttt ttcagaagct ttgttaaatc aagtggagta 60
tcccagatag ttttcacctt ccttctgatt ccatgttgct tgactctgaa tttcagagca 120
cctcctgtta ttccaaatgt gcctttcctc tgggcctgga atgccccaag tgaattttgt 180
cttggaaaat ttgatgagcc actagatatg agcctcttct ctttcatagg aagcccccga 240
ataaacgcca ccgggcaagg tgttacaata ttttatgttg atagacttgg ctactatcct 300
tacatagatt caatcacagg agtaactgtg aatggaggaa tcccccagaa gatttcctta 360
caagaccatc tggacaaagc taagaaagac attacatttt atatgccagt agacaatttg 420
ggaatggctg ttattgactg ggaagaatgg agacccactt gggcaagaaa ctggaaacct 480
aaagatgttt acaagaatag gtctattgaa ttggttcagc aacaaaatgt acaacttagt 540
ctcacagagg ccactgagaa agcaaaacaa gaatttgaaa aggcagggaa ggatttcctg 600
gtagagacta taaaattggg aaaattactt cggccaaatc acttgtgggg ttattatctt 660
tttccggatt gttacaacca tcactataag aaacccggtt acaatggaag ttgcttcaat 720
gtagaaataa aaagaaatga tgatctcagc tggttgtgga atgaaagcac tgctctttac 780
ccatccattt atttgaacac tcagcagtct cctgtagctg ctacactcta tgtgcgcaat 840
cgagttcggg aagccatcag agtttccaaa atacctgatg caaaaagtcc acttccggtt 900
tttgcatata cccgcatagt ttttactgat caagttttga aattcctttc tcaagatgaa 960
cttgtgtata catttggcga aactgttgct ctgggtgctt ctggaattgt aatatgggga 1020
accctcagta taatgcgaag tatgaaatct tgcttgctcc tagacaatta catggagact 1080
atactgaatc cttacataat caacgtcaca ctagcagcca aaatgtgtag ccaagtgctt 1140
tgccaggagc aaggagtgtg tataaggaaa aactggaatt caagtgacta tcttcacctc 1200
aacccagata attttgctat tcaacttgag aaaggtggaa agttcacagt acgtggaaaa 1260
ccgacacttg aagacctgga gcaatttttct gaaaaatttt attgcagctg ttatagcacc 1320
ttgagttgta aggagaaagc tgatgtaaaa gacactgatg ctgttgatgt gtgtattgct 1380
gatggtgtct gtatagatgc ttttctaaaa cctcccatgg agacagaaga acctcaaatt 1440
ttctac 1446

<210> 269
<211> 509
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> PH20 variante P48A

<400> 269
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1   5   10   15
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
            20   25   30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Ala
        35   40   45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
    50   55   60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
65   70   75   80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
                85   90   95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
            100   105   110

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

<210> 270
<211> 509
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> precursor PH20 variante L499W

<400> 270

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

```
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
            420                 425                 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
        435                 440                 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
    450                 455                 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                 470                 475                 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
                485                 490                 495
Ser Ile Trp Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
            500                 505
```

<210> 271
<211> 520
<212> PRT
<213> Ovis aries

<400> 271

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

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

<210> 272
<211> 474
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> PH20

<400> 272

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

867

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

                325                 330                 335
Gly Ile Ile Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Val Gln Ser
            340                 345                 350
Cys Met Asn Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile
        355                 360                 365
Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His
    370                 375                 380
Asp Gly Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu
385                 390                 395                 400
His Leu Asn Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys
                405                 410                 415
Tyr Thr Val Pro Gly Thr Leu Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser
            420                 425                 430
Asp Thr Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Asn Leu Ser Cys Lys Lys Arg
        435                 440                 445
Val Asp Ile Lys Asn Val His Ser Val Asp Val Cys Met Ala Glu Asp
    450                 455                 460
Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro
465                 470
```

<210> 273
<211> 517
<212> PRT
<213> Ovis aries

<400> 273

```
Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp Ala
 1               5                  10                  15
Trp Asn Ala Pro Ala Glu Arg Cys Ile Lys Ile Phe Lys Leu Pro Pro
            20                  25                  30
```

868

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

```
Arg Cys Leu Glu Ala Ile Ala Asn Val Thr Gln Thr Gly Cys Gln Gly
                485                 490                 495
Val Lys Trp Lys Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ile Gln Asn Ile Lys
            500                 505                 510
Asn Gln Thr Thr Tyr
        515
```

<210> 274
<211> 1620
<212> ADN
<213> Ovis aries

<400> 274

```
ttttccgtgt tggttggctc tggacttcag agcacccccct ctcatttcaa acacttcttt 60
cctctgggcc tggaatgccc cagctgaacg ttgtattaaa atctttaaac tacctccaga 120
tctgagactc ttctctgtaa aaggaagccc ccaaaaaagt gctacgggac aatttattac 180
attattttat gctgatagac ttggctacta tcctcatata gatgaaaaaa caggcaacac 240
tgtatatgga ggaattcccc agttgggaaa cttaaaaaat catttggaaa aagccaaaaa 300
agacattgcc tattacatac caaatgacag cgtgggcttg gcggtcattg actgggaaaa 360
ctggaggcct acctgggcaa gaaactggaa acctaaagat gtttacaggg atgagtctgt 420
tgagttggtt ctgcaaaaaa atccacaact cagtttccca gaggcttcca agattgcaaa 480
agtggatttt gagacagcag gaaagagttt catgcaagag actttaaaac tgggaaaatt 540
acttcggcca aatcacttat ggggttatta tctttttcct gattgttaca atcataatta 600
taaccagcct acttacaatg gaaattgctc tgatttagaa aaaaggagaa atgatgatct 660
cgactggttg tggaaggaaa gcactgccct tttcccttct gtttatttga atatcaagtt 720
aaaatctact ccaaaagctg ccttctatgt tcgtaatcgt gtccaggaag ccattcggtt 780
gtctaaaata gcgagtgttg aaagtccact tcccgttttt gtatatcacc gtccagtttt 840
tactgatggg tcttcaacat acctttctca gggtgacctt gtgaattcgg ttggtgagat 900
cgttgctcta ggtgcctctg ggattataat gtggggcagt ctcaatctaa gcctaactat 960
gcaatcttgc atgaacctag gcaattactt gaacactaca ctgaatcctt acataatcaa 1020
cgtcacccta gcagccaaaa tgtgcagcca agtgctttgc cacgatgaag gagtgtgtac 1080
aaggaaacaa tggaattcaa gcgactatct tcacctgaac ccaatgaatt ttgctattca 1140
aactgggaaa ggtggaaaat acacagtacc tgggaaagtc acacttgaag acctgcaaac 1200
gttttctgat aaattttatt gcagttgtta tgccaacatc aactgtaaga agagagttga 1260
tataaaaaat gttcatagtg ttaatgtatg tatggcagaa gacatttgta tagagggccc 1320
tgtgaagtta caacccagtg atcattcctc tagccagaat gaggcatcta ctaccaccgt 1380
cagcagtatc tcaccctcta ctacagccac cacagtatct ccatgtactc ctgagaaaca 1440
gtcccctgag tgcctcaaag tcaggtgttt ggaagccatc gccaacgtca cccaaacggg 1500
gtgtcaaggt gttaaatgga agaacacttc cagtcagtca agtattcaaa atattaaaaa 1560
tcaaacaacc tattaaaata taaattcagt gcttataaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620
```

<210> 275
<211> 793
<212> PRT
<213> Arthrobacter sp. (cepa FB24)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 275

```
Met Thr Arg Glu Phe Ser Arg Arg Thr Ala Leu Lys Gly Ala Ala Leu
 1               5                  10                  15
Ser Gly Leu Leu Leu Ala Met Val His Gly Pro Ala His Ala Ala Ala
            20                  25                  30
```

870

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

871

```
Leu Pro Gly Ile Thr Val Asp Thr Ser Ser Leu Pro Asp Lys Val Glu
                485                 490                 495
Gly Glu Trp Gly Ala Ala Thr Pro Ala Asn Glu Trp Thr Gly Ser Thr
            500                 505                 510
Ala Tyr Gly Asp Val Ala Ala Val Gly Gln His Leu Ile Gly Pro Gly
        515                 520                 525
Gly Thr Gly Leu Thr Ala Arg Lys Ser Trp Phe Val Ser Lys Asp Val
    530                 535                 540
Ile Val Cys Leu Gly Ala Asp Ile Arg Thr Gly Ser Gly Ser Arg Ile
545                 550                 555                 560
Glu Thr Val Val Asp His Arg Asn Leu His Ala Gly Phe Asn Ala Met
                565                 570                 575
Gly Thr Ala Ala Gly Thr Val Ala Ala Thr Pro Gly His Pro Glu Val
            580                 585                 590
Leu Thr Val Asp Arg Trp Val His Leu Glu Gly Phe Gly Gly Tyr Val
        595                 600                 605
Val Leu Asp Ala Ala Pro Leu Gln Val Leu Arg Glu Gln Arg Glu Gly
    610                 615                 620
Ser Trp Ser Glu Val Asn Val Lys Gly Ser Ala Ala Arg Gln Thr Arg
625                 630                 635                 640
Asn Tyr Ala Thr Leu Tyr Phe Asp His Gly His Glu Pro Glu Ala Ala
                645                 650                 655
Ser Tyr Ala Tyr Leu Val Ala Pro Gly Ala Ser Ala Ser Met Thr Ser
            660                 665                 670
Ser Leu Ser Gly Gln Ser Phe His Thr Val Leu Arg Asn Asp Glu Val
        675                 680                 685
Ala Gln Ala Val Lys Phe Lys Lys Glu Lys Thr Thr Ala Ala Thr Phe
    690                 695                 700
Trp Arg Pro Gly Thr Val Gly Asp Leu Ala Leu Ser Gly Pro Ala Cys
705                 710                 715                 720
Val Val Val Lys Glu Val Gly Asp Arg Leu Ser Ile Ala Val Ser Asp
                725                 730                 735
Pro Thr Gln Asn Ala Ser Thr Leu Thr Leu Arg Leu Lys Thr Lys Arg
            740                 745                 750
Phe Phe Arg Ile Ile Glu Gly Gln Gly Ala Ser Leu Ser His Gly Ala
        755                 760                 765
Asp Gly Phe Thr Val Leu Glu Val Asp Ile Ala Asn His Ala Gly Arg
    770                 775                 780
Thr Lys Gln Ile Glu Leu Ser Ala Glu
785                 790
```

<210> 276
<211> 557
<212> PRT
<213> Bdellovibrio bacteriovorus

<220>
<223> hialuronan liasa

```
<400> 276
Met Thr Lys Phe Phe Phe Leu Leu Thr Leu Ile Ser Ala Thr Ala Phe
 1               5                  10                  15
Ala Gln Ser Glu Pro Asp Trp Thr Ala Gly Val Pro Val Pro Pro Gly
            20                  25                  30
Gly Arg Ser Asn Ile Tyr Ser Trp Asn Asp Phe Asp Phe Gln Ala Thr
        35                  40                  45
```

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

```
Cys Gly Gly Tyr Pro Ile Gly Asp Lys Thr Pro Lys Ala Trp Lys Thr
            500                 505                 510
Arg Glu His Leu Tyr Asp Thr Arg Asn Pro Gly Met Gly Asn Met Gly
        515                 520                 525
His Asp Glu Gly Ile Phe Ile Lys Asp Gly Lys Glu Ile Leu Ser Ala
    530                 535                 540
Glu Asp Lys Tyr Asn Leu Ile Gln Phe Leu Gln Thr Leu
545                 550                 555


<210> 277
<211> 813
<212> PRT
<213> Propionibacterium acnes

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 277
Met Phe Gly Thr Pro Ser Arg Arg Thr Phe Leu Thr Ala Ser Ala Leu
 1               5                  10                  15
Ser Ala Met Ala Leu Ala Ala Ser Pro Thr Val Thr Asp Ala Ile Ala
            20                  25                  30
Ala Pro Gly Pro Asp Ser Trp Ser Ala Leu Cys Glu Arg Trp Ile Asp
        35                  40                  45
Ile Ile Thr Gly Arg Arg Ala Ala Arg Thr Ser Asp Pro Arg Ala Arg
    50                  55                  60
Ala Ile Ile Ala Lys Thr Asp Arg Lys Val Ala Glu Ile Leu Thr Asp
65                  70                  75                  80
Leu Val Ser Gly Ser Ser Arg Gln Thr Val Leu Ile Ser Ala Asp Leu
                85                  90                  95
Arg Lys Glu Gln Ser Pro Phe Ile Thr Lys Thr Ala Arg Ala Ile Glu
            100                 105                 110
Ser Met Ala Cys Ala Trp Ala Thr Pro Gly Ser Ser Tyr His Lys Asp
        115                 120                 125
Pro Glu Ile Leu Ser Ala Cys Ile Glu Gly Leu Arg Asp Phe Cys Arg
    130                 135                 140
Leu Arg Tyr Asn Pro Ser Gln Asp Glu Tyr Gly Asn Trp Trp Asp Trp
145                 150                 155                 160
Glu Asp Gly Ala Ser Arg Ala Val Ala Asp Val Met Cys Ile Leu His
                165                 170                 175
Asp Val Leu Pro Pro Glu Val Met Ser Ala Ala Ala Ala Gly Ile Asp
            180                 185                 190
His Phe Ile Pro Asp Pro Trp Phe Gln Gln Pro Ala Ser Val Lys Pro
        195                 200                 205
Thr Ala Asn Pro Val Gln Pro Val Val Ser Thr Gly Ala Asn Arg Met
    210                 215                 220
Asp Leu Thr Arg Ala Val Met Cys Arg Ser Ile Ala Thr Gly Asp Glu
225                 230                 235                 240
Lys Arg Leu Arg His Ala Val Asp Gly Leu Pro Asp Ala Trp Arg Val
                245                 250                 255
Thr Thr Glu Gly Asp Gly Phe Arg Ala Asp Gly Gly Phe Ile Gln His
            260                 265                 270
Ser His Ile Pro Tyr Thr Gly Gly Tyr Gly Asp Val Leu Phe Ser Gly
        275                 280                 285
Leu Ala Met Leu Phe Pro Leu Val Ser Gly Met Arg Phe Asp Ile Val
    290                 295                 300
```

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

875

```
Thr Val Thr Ile Glu Gly Ser Trp Lys Val Lys Thr Ala Asp Ser His
        755                 760                 765
Val Asp Val Ser Cys Glu Asn Ala Ala Gly Thr Leu His Val Asp Thr
    770                 775                 780
Ala Gly Leu Gly Gly Gln Ser Val Arg Val Thr Leu Ala Arg Gln Val
785                 790                 795                 800
Thr Gln Thr Pro Ser Gly Gly Gly Arg His Asp Arg Ala
                805                 810
```

<210> 278
<211> 1072
<212> PRT
<213> Streptococcus agalactiae

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 278

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

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

```
Arg Gly Trp Tyr Thr Gly Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Ser Asp
        755                 760                 765
Gln Ser His Tyr Ser Asn His Phe Trp Pro Thr Val Asn Pro Tyr Lys
    770                 775                 780
Met Ala Gly Thr Thr Glu Lys Asp Ala Lys Arg Glu Asp Thr Thr Lys
785                 790                 795                 800
Glu Phe Met Ser Lys His Ser Lys Asp Ala Lys Glu Lys Thr Gly Gln
                805                 810                 815
Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe Val Gly Ser Val Lys Leu Asn Asp His
            820                 825                 830
Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp Phe Thr Asn Trp Asp Arg Thr Leu Thr
        835                 840                 845
Ala Gln Lys Gly Trp Val Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly
    850                 855                 860
Ser Asn Ile Lys Asn Thr Asn Gly Ile Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile
865                 870                 875                 880
Asp Gln Arg Lys Asp Asp Ser Lys Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asn
                885                 890                 895
Gly Lys Thr Ile Asp Leu Lys Gln Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr Asp
            900                 905                 910
Thr Lys Ser Val Phe Leu Glu Ser Lys Glu Pro Gly Arg Asn Ile Gly
        915                 920                 925
Tyr Ile Phe Phe Lys Asn Ser Thr Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu Gln
    930                 935                 940
Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile
945                 950                 955                 960
Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr Ile Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly
                965                 970                 975
Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met Val Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe
            980                 985                 990
Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys Glu Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser
        995                 1000                1005
Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp Lys Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile
    1010                1015                1020
Lys His Asp Asn Gln Glu Ser Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn
1025                1030                1035                1040
Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val Gln Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn
                1045                1050                1055
Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr Met Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
            1060                1065                1070
```

<210> 279
<211> 1072
<212> PRT
<213> Streptococcus agalactiae 18RS21

<220>
<223> hialuronan liasa

```
<400> 279
Met Glu Ile Lys Lys Lys His Arg Ile Met Leu Tyr Ser Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn Asn Ser Tyr Gln Ala Lys Ala Glu Glu
            20                  25                  30
Leu Thr Lys Thr Thr Ser Thr Ser Gln Ile Arg Asp Thr Gln Thr Asn
        35                  40                  45
```

878

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

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

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

880

Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile
945 950 955 960
Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr Ile Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly
965 970 975
Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met Val Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe
980 985 990
Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys Glu Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser
995 1000 1005
Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp Lys Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile
1010 1015 1020
Lys His Asp Asn Gln Glu Ser Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn
1025 1030 1035 1040
Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val Gln Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn
1045 1050 1055
Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr Met Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
1060 1065 1070

<210> 280
<211> 1081
<212> PRT
<213> Streptococcus agalactiae serotipo Ia

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 280
Met Glu Ile Lys Lys Lys His Arg Ile Met Leu Tyr Ser Ala Leu Ile
1 5 10 15
Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn Asn Ser Tyr Gln Ala Lys Ala Glu Glu
20 25 30
Phe Thr Lys Thr Thr Ser Thr Ser Gln Ile Arg Asp Thr Gln Thr Asn
35 40 45
Asn Val Glu Val Pro Gln Thr Glu Ser Thr Thr Val Lys Gly Thr Ser
50 55 60
Thr Thr Thr Thr Gln Gln Asp Leu Ser Asn Ser Thr Ala Ser Thr Ala
65 70 75 80
Thr Ala Thr Ala Thr His Ser Thr Met Lys Gln Val Val Asp Asn Gln
85 90 95
Thr Gln Asn Lys Glu Leu Val Lys Asn Gly Asp Phe Lys Glu Lys Ile
100 105 110
Ile Asp Lys Lys Ile Asp Lys Lys Ser Gln Trp Thr Asn Leu Tyr Gly
115 120 125
Ala Lys Asp Trp Asn Thr Tyr Ile Asp Gln Thr Lys Ser Val Asn Lys
130 135 140
Ser Pro Ile Ile Gln Arg Thr Glu Gln Gly Gln Val Ser Leu Ser Ser
145 150 155 160
Asp Lys Gly Phe Arg Gly Ala Val Thr Gln Lys Val Asn Ile Asp Pro
165 170 175
Thr Lys Lys Tyr Glu Val Lys Phe Asp Ile Glu Thr Ser Asn Lys Val
180 185 190
Gly Gln Ala Phe Leu Arg Ile Met Lys Lys Lys Asp Lys Asn Thr Arg
195 200 205
Leu Trp Leu Ser Glu Met Thr Ser Gly Thr Thr Asn Lys His Thr Leu
210 215 220
Thr Lys Ile Tyr Asn Pro Lys Leu Asn Val Ser Glu Val Thr Leu Glu
225 230 235 240

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

```
Asn Asn Leu Lys Ser Tyr Ser Asp Ile Ala Asn Met Asn Lys Leu Leu
    690                 695                 700
Asn Asp Ser Thr Val Ala Thr Lys Pro Leu Lys Ser Asn Leu Ser Thr
705                 710                 715                 720
Phe Asn Ser Met Asp Arg Leu Ala Tyr Tyr Asn Ala Glu Lys Asp Phe
                725                 730                 735
Gly Phe Ala Leu Ser Leu His Ser Lys Arg Thr Leu Asn Tyr Glu Gly
            740                 745                 750
Met Asn Asp Glu Asn Thr Arg Gly Trp Tyr Thr Gly Asp Gly Met Phe
        755                 760                 765
Tyr Leu Tyr Asn Ser Asp Gln Ser His Tyr Ser Asn His Phe Trp Pro
    770                 775                 780
Thr Val Asn Pro Tyr Lys Met Ala Gly Thr Thr Glu Lys Asp Thr Gly
785                 790                 795                 800
Arg Glu Asp Thr Ile Lys Lys Leu Met Asn Arg Tyr Asp Lys Thr Asn
                805                 810                 815
Lys Asn Ser Lys Val Met Thr Gly Gln Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe
            820                 825                 830
Val Gly Ser Val Lys Leu Asn Asp His Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp
        835                 840                 845
Phe Thr Asn Trp Asp Arg Thr Leu Thr Ala Gln Lys Gly Trp Val Ile
    850                 855                 860
Leu Asn Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly Ser Asn Ile Lys Asn Thr Asn
865                 870                 875                 880
Gly Val Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile Asp Gln Arg Lys Asp Asp Ser
                885                 890                 895
Lys Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asn Gly Lys Thr Val Asp Leu Lys
            900                 905                 910
Gln Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr Asp Thr Lys Ser Val Phe Leu Glu
        915                 920                 925
Ser Lys Glu Pro Gly Arg Asn Ile Gly Tyr Ile Phe Phe Lys Asn Ser
    930                 935                 940
Thr Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu Gln Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile
945                 950                 955                 960
Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr
                965                 970                 975
Ile Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met
            980                 985                 990
Val Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys
        995                 1000                1005
Glu Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp
    1010                1015                1020
Lys Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile Lys His Asp Asn Gln Glu Ser
1025                1030                1035                1040
Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val
                1045                1050                1055
Gln Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr
            1060                1065                1070
Met Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
        1075                1080
```

<210> 281
<211> 984
<212> PRT
<213> Streptococcus agalactiae serotipo III

883

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 281

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

884

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

Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu Gln Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile Asn
850 855 860

```
Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr Ile
865                 870                 875                 880
Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met Val
                885                 890                 895
Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys Glu
            900                 905                 910
Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp Lys
        915                 920                 925
Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile Lys His Asp Asn Gln Glu Ser Leu
    930                 935                 940
Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val Gln
945                 950                 955                 960
Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr Met
                965                 970                 975
Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
            980
```

<210> 282
<211> 807
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa COL)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 282

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

886

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

887

```
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu
    690                 695                 700
Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn
705                 710                 715                 720
Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe
                725                 730                 735
Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile
            740                 745                 750
Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
        755                 760                 765
Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
    770                 775                 780
Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly
785                 790                 795                 800
Val His Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 283
<211> 420
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa MRSA252)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 283

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

```
Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Ser Ile Ile Glu
                245                 250                 255
Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Thr Val
            260                 265                 270
Phe Thr Tyr Ala Gln Asn Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe
        275                 280                 285
Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr Gly
    290                 295                 300
Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro Met
305                 310                 315                 320
Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Ser Asn Gln Asn Asp Thr Thr Leu
                325                 330                 335
Lys Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu
            340                 345                 350
Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr
        355                 360                 365
Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser
    370                 375                 380
Asp Thr Met Asp Lys Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys
385                 390                 395                 400
Thr Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Thr Asp Tyr Leu Ser
                405                 410                 415
Ser Tyr Ser Asp
            420
```

<210> 284
<211> 806
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa MRSA252)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 284

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

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

890

```
Glu Ser Asn Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asp Lys
625                 630                 635                 640
Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Ser Glu
                645                 650                 655
Ile Asn Lys Ser Gln Lys Lys Asp Asp Lys Lys Asp Glu Tyr Tyr Glu
            660                 665                 670
Val Thr Gln Thr His Asn Thr Ser Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr Val Leu
        675                 680                 685
Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Ser Asp Phe Lys Ser Lys Asn Asn Asn Val
    690                 695                 700
Ser Ile Val Lys Gln Asp Glu Asp Phe His Val Ile Lys Asp Asn Asp
705                 710                 715                 720
Gly Val Phe Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Asn Thr Lys Ser Phe Asp
                725                 730                 735
Ile Asn Gly Ile Thr Val Glu Leu Lys Glu Lys Gly Met Phe Val Ile
            740                 745                 750
Lys Lys Lys Asp Asp Lys Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Tyr Asn Pro Glu
        755                 760                 765
Thr Thr Asn Thr Ala Ser Asn Ile Glu Ser Lys Ile Phe Ile Lys Gly
    770                 775                 780
Tyr Thr Ile Thr Asn Lys Ser Val Ile Asn Ser Asn Asp Ala Gly Val
785                 790                 795                 800
Asn Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 285
<211> 815
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa MSSA476)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 285

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

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

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

<210> 286
<211> 807
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa NCTC 8325)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 286

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

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

```
Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn
625                 630                 635                 640
Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys
                645                 650                 655
Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr
            660                 665                 670
Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val
        675                 680                 685
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu
    690                 695                 700
Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn
705                 710                 715                 720
Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe
                725                 730                 735
Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile
            740                 745                 750
Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
        755                 760                 765
Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
    770                 775                 780
Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly
785                 790                 795                 800
Val His Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 287
<211> 809
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa bovino RF122)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 287

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

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

```
Phe Leu Glu Ser Thr Asn Ser Thr Gln Asn Asn Ile Gly Tyr His Phe
625                 630                 635                 640
Leu Asn Lys Ser Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys
                645                 650                 655
Trp Ser Asp Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu
            660                 665                 670
Tyr Tyr Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Thr Asp Asp Lys Tyr Ala
        675                 680                 685
Tyr Val Leu Tyr Pro Gly Ile Thr Lys Asp Asn Phe Lys Ser Lys Ala
    690                 695                 700
Ser Gln Val Thr Val Val Lys Gln Asp Asp Asp Phe His Val Val Lys
705                 710                 715                 720
Asp Asn Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Ser Thr Gln
                725                 730                 735
Thr Phe Asp Ile Asn Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met
            740                 745                 750
Phe Ile Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr
        755                 760                 765
Asn Pro Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser
    770                 775                 780
Met Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Asn Thr Asn Glu
785                 790                 795                 800
Ser Gly Val Arg Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 288
<211> 807
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa bovino RF122)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 288

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

897

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

```
Leu Glu Ser Asn Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asp
625                 630                 635                 640
Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Ser
                645                 650                 655
Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Thr Asp Asp Lys Lys Asp Glu Tyr Tyr
            660                 665                 670
Glu Val Thr Gln Thr His Asn Thr Ser Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr Val
        675                 680                 685
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Ser Asp Phe Lys Ser Lys Asn Asn Asn
    690                 695                 700
Val Ser Ile Val Lys Gln Asp Glu Asp Phe His Val Ile Lys Asp Asn
705                 710                 715                 720
Asp Gly Val Phe Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Ser Thr Lys Ser Phe
                725                 730                 735
Asp Ile Asn Gly Thr Ile Val Glu Leu Lys Glu Lys Gly Met Phe Val
            740                 745                 750
Ile Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
        755                 760                 765
Thr Ser Thr Asn Ser Thr Ser Asn Lys Glu Ser Lys Ile Ser Val Thr
    770                 775                 780
Gly Tyr Thr Ile Thr Asn Gln Ser Val Ser Asn Phe Lys Glu Ser Asp
785                 790                 795                 800
Ile His Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 289
<211> 807
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (cepa USA300)

<220>
<223> hialuronan liasa

```
<400> 289
Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu
 1               5                  10                  15
Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Val
            20                  25                  30
Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asp
        35                  40                  45
Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
    50                  55                  60
Lys Tyr Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Asp Ala Thr
65                  70                  75                  80
Glu Lys Glu Ala Thr Asn Leu Leu Lys Glu Met Lys Thr Glu Ser Gly
                85                  90                  95
Arg Lys Tyr Leu Trp Ser Gly Ala Glu Thr Leu Glu Thr Asn Ser Ser
            100                 105                 110
His Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met
        115                 120                 125
Arg Asn Pro Lys Thr Thr Leu Asn Thr Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val
    130                 135                 140
Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro
145                 150                 155                 160
Asp Lys Lys Val Lys Glu Leu Ser Glu Asn Phe Thr Lys Thr Thr Gly
                165                 170                 175
```

899

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

900

```
Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn
625                 630                 635                 640
Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys
                645                 650                 655
Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr
            660                 665                 670
Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val
        675                 680                 685
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu
    690                 695                 700
Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn
705                 710                 715                 720
Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe
                725                 730                 735
Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile
            740                 745                 750
Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
        755                 760                 765
Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
    770                 775                 780
Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly
785                 790                 795                 800
Val His Phe Glu Leu Thr Lys
                805
```

<210> 290
<211> 1066
<212> PRT
<213> Streptococcus pneumoniae

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 290

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

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

902

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

<210> 291
<211> 1078
<212> PRT
<213> Streptococcus pneumoniae (cepa ATCC BAA-255/R6)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 291

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

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

```
Ser Asn Pro Tyr Lys Val Tyr Val Asn Asp Lys Glu Ala Ser Leu Thr
        835                 840                 845
Glu Gln Glu Lys Asp Tyr Pro Glu Thr Gln Ser Val Phe Leu Glu Ser
    850                 855                 860
Ser Asp Ser Lys Lys Asn Ile Gly Tyr Phe Phe Phe Lys Lys Ser Ser
865                 870                 875                 880
Ile Ser Met Ser Lys Ala Leu Gln Lys Gly Ala Trp Lys Asp Ile Asn
                885                 890                 895
Glu Gly Gln Ser Asp Lys Glu Val Glu Asn Glu Phe Leu Thr Ile Ser
            900                 905                 910
Gln Ala His Lys Gln Asn Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Leu Ile Pro
        915                 920                 925
Asn Val Asp Arg Ala Thr Phe Asn Gln Met Ile Lys Glu Leu Glu Ser
    930                 935                 940
Ser Leu Ile Glu Asn Asn Glu Thr Leu Gln Ser Val Tyr Asp Ala Lys
945                 950                 955                 960
Gln Gly Val Trp Gly Ile Val Lys Tyr Asp Asp Ser Val Ser Thr Ile
                965                 970                 975
Ser Asn Gln Phe Gln Val Leu Lys Arg Gly Val Tyr Thr Ile Arg Lys
            980                 985                 990
Glu Gly Asp Glu Tyr Lys Ile Ala Tyr Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Glu
        995                 1000                1005
Ser Ala Pro Asp Gln Glu Val Phe Lys Lys Leu Glu Gln Ala Ala Gln
    1010                1015                1020
Pro Gln Val Gln Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys Ser Glu Glu Glu Lys
1025                1030                1035                1040
Asn His Ser Asp Gln Lys Asn Leu Pro Gln Thr Gly Glu Gly Gln Ser
                1045                1050                1055
Ile Leu Ala Ser Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Ala Phe Tyr Leu Phe
            1060                1065                1070
Arg Arg Gly Lys Asn Asn
        1075
```

<210> 292
<211> 1067
<212> PRT
<213> Streptococcus pneumoniae serotipo 2 (cepa D39/NCTC 7466)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 292

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

906

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

907

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

```
Glu Gln Ala Ala Gln Pro Gln Val Gln Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys
    1010                1015                1020
Ser Glu Glu Glu Lys Asn His Ser Asp Gln Lys Asn Leu Pro Gln Thr
1025                1030                1035                1040
Gly Glu Gly Gln Ser Ile Leu Ala Ser Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly
                1045                1050                1055
Ala Phe Tyr Leu Phe Arg Arg Gly Lys Asn Asn
            1060                1065
```

<210> 293
<211> 805
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M1

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 293

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

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

910

```
Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala Val Tyr Asp His Asp Ser
        755                 760                 765
Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Gly Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser
    770                 775                 780
Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr Ser Phe Pro His Pro Val
785                 790                 795                 800
Arg Gln Asn Gln Gln
                805
```

<210> 294
<211> 780
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M2 (cepa MGAS10270)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 294

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

Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr
    130                 135                 140
Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Thr Asn Ile Thr
145                 150                 155                 160
Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro
                165                 170                 175
Glu Ser Cys Tyr Tyr Gln Asp Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp
            180                 185                 190
Gly Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn
        195                 200                 205
His Gln Thr Thr Gly Lys Glu Asn Lys Glu Asn Trp Trp Val Tyr Glu
    210                 215                 220
Ile Gly Thr Pro Arg Ala Ile Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Pro
225                 230                 235                 240
Tyr Phe Thr Gln Glu Glu Ile Leu Lys Tyr Thr Ala Pro Ile Glu Lys
                245                 250                 255
Phe Val Pro Asp Pro Thr Arg Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser
            260                 265                 270
Pro Phe Glu Ala Asn Ser Gly Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys
        275                 280                 285
```

911

```
Leu Ile Ser Gly Ile Leu Arg Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr
    290                 295                 300
Ile Lys Ala Ile Glu Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly
305                 310                 315                 320
Phe Tyr Gln Asp Gly Ser Leu Ile Asp His Val Val Thr Asn Thr Gln
                325                 330                 335
Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn
            340                 345                 350
Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr
        355                 360                 365
Lys Ser Pro Ile Glu Ala Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile
    370                 375                 380
Asn His Ser Phe Phe Pro Ile Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met
385                 390                 395                 400
Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala
                405                 410                 415
Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu
            420                 425                 430
Glu Pro His Arg Leu Glu Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr
        435                 440                 445
Gln Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His
    450                 455                 460
Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Pro Val

465                 470                 475                 480
Gln Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu
                485                 490                 495
Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe
            500                 505                 510
Ser Asn Arg Thr Gln Asn Tyr Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His
        515                 520                 525
Gly Trp Phe Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu
    530                 535                 540
Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu
545                 550                 555                 560
Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu
                565                 570                 575
Asn Ile Lys Thr Asn Tyr Gln Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp
            580                 585                 590
Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala
        595                 600                 605
Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly
    610                 615                 620
Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys
625                 630                 635                 640
Asn Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu
                645                 650                 655
Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp
            660                 665                 670
Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu
        675                 680                 685
Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
    690                 695                 700
Arg Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn
705                 710                 715                 720
Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn
                725                 730                 735
```

912

```
Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Glu Gly Asp Arg Tyr
            740                 745                 750
Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
        755                 760                 765
Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn
    770                 775                 780
```

<210> 295
<211> 868
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M4 (cepa MGAS10750)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 295

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

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

```
Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu Lys Lys Ala Thr Thr Phe Ser
    770                 775                 780
Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr Ser Phe Pro His Pro Val
785                 790                 795                 800

Lys Gln Asn Gln Gln Gln Lys Leu Ala His Gln Gly Ile Ala Ala Lys
                805                 810                 815
Asn Asn Ala Leu Asn Ser His Lys Ile Pro His Lys Arg Gln Arg Arg
            820                 825                 830
Leu Pro Arg Thr Gly Tyr Gln Ser Ser Ser Leu Glu Phe Leu Gly Gly
        835                 840                 845
Ala Leu Val Ala Ser Phe Asn His Ile Thr Lys Pro Phe Arg Lys Lys
    850                 855                 860
Asp Leu Arg Ile
865
```

<210> 296
<211> 828
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M6

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 296

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

915

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

```
Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
    690                 695                 700
Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn
705                 710                 715                 720
Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn
                725                 730                 735
Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr
            740                 745                 750
Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
        755                 760                 765
Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala
    770                 775                 780
Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu
785                 790                 795                 800
Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe
                805                 810                 815
Tyr Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln
            820                 825
```

<210> 297
<211> 556
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M12 (cepa MGAS2096)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 297

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

Ile Asn Gly Glu Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser
225 230 235 240
Tyr Leu Tyr Asn Ser Asp Val Lys His Tyr Arg Asp Asn Phe Trp Ala
245 250 255
Thr Ala Asp Met Lys Arg Leu Ala Gly Thr Thr Thr Leu Asp Asn Glu
260 265 270
Glu Pro Lys Ser Thr Asp Val Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly
275 280 285
Gly Thr Lys Phe Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu
290 295 300
Asn Gln Asp Lys Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn
305 310 315 320
Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser
325 330 335
Lys Asn Pro Val Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala Asn Asp Tyr Lys
340 345 350
Leu Tyr Lys Asp Asp Thr Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Thr
355 360 365
Asn Ser Leu Phe Leu Glu Ser Thr Asn Ser Thr Gln Asn Asn Ile Gly
370 375 380
Tyr His Phe Leu Asn Glu Ser Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His
385 390 395 400
Thr Gly Lys Trp Ser Asp Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Ile Gln Lys
405 410 415
Thr Asp Glu Tyr Tyr Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Thr Asp Ser
420 425 430
Lys Tyr Ala Tyr Val Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys
435 440 445
Ser Lys Ala Ser Lys Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His
450 455 460
Val Val Lys Asp Asn Glu Ser Val Trp Ala Gly Ile Asn Tyr Ser Asp
465 470 475 480
Ser Ala Lys Thr Phe Glu Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala
485 490 495
Lys Gly Met Phe Ile Leu Thr Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys
500 505 510
Ser Phe Tyr Asn Pro Glu Ser Thr Asn Ser Val Ser Asp Ile Glu Ser
515 520 525
Lys Ile Ser Met Thr Gly Tyr Ser Ile Ile Asn Lys Asn Thr Ser Thr
530 535 540
Ser Asn Glu Ser Gly Val Arg Phe Glu Leu Thr Lys
545 550 555

<210> 298
<211> 635
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M12 (cepa MGAS2096)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 298
Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn His
1 5 10 15
Gln Thr Thr Gly Lys Glu Asn Lys Glu Asn Trp Trp Val Tyr Glu Ile
20 25 30

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

```
Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu Glu
                485                 490                 495
Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro Thr
            500                 505                 510
Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn Ile
        515                 520                 525
Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn Thr
    530                 535                 540
Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr Ala
545                 550                 555                 560
Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr Ile
                565                 570                 575
Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala
            580                 585                 590
Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu Lys
        595                 600                 605
Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr
    610                 615                 620
Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln
625                 630                 635


<210> 299
<211> 828
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M12 (cepa MGAS9429)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 299
Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Gln Ser Thr Phe Ile Ile Ser Phe
 1               5                  10                  15
Leu Tyr Trp Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His
            20                  25                  30
Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met
        35                  40                  45
Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
    50                  55                  60
Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser
65                  70                  75                  80
Glu Lys Lys Val Val Gln Pro Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu
                85                  90                  95
Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile Ile Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Val Lys
            100                 105                 110
Thr Asn Pro Asp Met Val Thr Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala
        115                 120                 125
Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr
    130                 135                 140
Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Thr Asn Ile Thr
145                 150                 155                 160
Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro
                165                 170                 175
Glu Ser Cys Tyr Tyr Gln Asp Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp
            180                 185                 190
Gly Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn
        195                 200                 205
```

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

```
Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp
            660                 665                 670
Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu
        675                 680                 685
Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
    690                 695                 700
Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn
705                 710                 715                 720
Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn
                725                 730                 735
Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr
            740                 745                 750
Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
        755                 760                 765
Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala
    770                 775                 780

Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu
785                 790                 795                 800
Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe
                805                 810                 815
Tyr Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln
            820                 825
```

<210> 300
<211> 828
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotipo M28

<220>
<223> hialuronan liasa

```
<400> 300
Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Gln Phe Thr Phe Ile Ile Ser Phe
 1               5                  10                  15
Leu Tyr Arg Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His
            20                  25                  30
Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met
        35                  40                  45
Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
    50                  55                  60
Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Met Leu Thr Thr Thr Asp Ser
65                  70                  75                  80
Glu Lys Lys Val Val Gln Pro Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu
                85                  90                  95
Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile Ile Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Asp Lys
            100                 105                 110
Thr Asn Pro Asp Met Val Thr Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala
        115                 120                 125
Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr
    130                 135                 140
Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr
145                 150                 155                 160
Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro
                165                 170                 175
```

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

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

<210> 301
<211> 522
<212> PRT
<213> Streptococcus suis

<220>
<223> hialuronan liasa

```
<400> 301
Met Gly Phe Phe Ile Ser Gln Ser Lys Gln His Tyr Gly Ile Arg Lys
 1               5                  10                  15
Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ile Leu Gly
            20                  25                  30
Thr Arg Val Ala Ala Asn Gln Leu Pro Ser Thr Glu Thr Ala Ser Pro
        35                  40                  45
Gln Ser Ser Gln Leu Val Glu Thr Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Val
    50                  55                  60
Asn Leu Thr Thr Glu Ala Val Met Thr Ser Glu Val Ser Ser Glu Val
65                  70                  75                  80
Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu Thr Gln Pro Ser Ser Thr Ala Ala Glu
                85                  90                  95
Thr Leu Ala Ser Pro Gln Ala Val Gln Ala Thr Lys Glu Glu Glu Lys
            100                 105                 110
Asn Leu Val Ala Asn Gly Glu Phe Ala Ser Thr Thr Ala Ala Ser Gly
        115                 120                 125
Asn Trp Ala Asp Pro Ala Ala Thr Asn Trp Glu Thr Trp Ile Pro Ala
    130                 135                 140
Asn Val Lys Lys Glu Asn Gly Gln Val Arg Ile Asp Glu Gly Arg Leu
145                 150                 155                 160
```

924

```
His Ile Ser Ser Thr Ala Ser Tyr Arg Val Ala Val His Gln Thr Val
                165                 170                 175
Asp Val Asp Pro Asn Lys Arg Tyr Leu Phe Ser Tyr Asn Val Glu Thr
            180                 185                 190
Lys Asp Leu Lys Gly Ser Gly Val Arg Val Arg Leu Arg Ser Leu Thr
        195                 200                 205
Ala Glu Gly Lys Asp Leu Ser Pro Gln Glu Phe Ala Tyr Thr Pro Tyr
    210                 215                 220
Lys Asn Gly Ser Gln Ala Glu His Ile Glu Gln Ile Leu Thr Val Ser
225                 230                 235                 240
Pro Glu Thr Arg Lys Leu Lys Val Glu Leu Phe Phe Glu Asn Ser Val
                245                 250                 255
Gly Gln Ala Trp Leu Asp Asn Ile Ser Leu Val Glu Tyr Val Glu Lys
            260                 265                 270
Thr Pro Glu Thr Pro Glu Pro Ser Leu Glu Leu Val Gln Pro Glu Thr
        275                 280                 285
Gly Gln Ile Ser Leu Ala Ser Asn Lys Val Tyr Leu Pro Val Arg Pro
    290                 295                 300
Asp Leu Thr Tyr Arg Ile Ala Asp Ala Ala Val Ala Ile Val Glu Lys
305                 310                 315                 320
Asn Met Ile Arg Pro Leu Ala Ala Gly Lys Thr Gln Val Asp Val Tyr
                325                 330                 335
Asp Lys Asp Thr Lys Leu Ser Ser Phe Glu Leu Thr Val Thr Glu His
            340                 345                 350
Gln Ala Thr Val Phe Asp Thr Leu Arg Asn Asn Trp Glu Asp Ile Ser
        355                 360                 365
Leu Ala Asn Lys Arg Tyr Gln Ser Asn Asp Thr Gln Met Lys Ala Phe
    370                 375                 380
Leu Gly Arg Leu Asp Ala Gly Val Ala Ser Ser Leu Lys Lys Trp Val
385                 390                 395                 400
Glu Pro Thr Asn Gln Gly Lys Thr Ile Phe Asn Asp Ile Asp Phe Ser
                405                 410                 415
Lys Ser Ser His Leu Thr Thr Val Tyr Arg Arg Leu Glu Gln Met Ala
            420                 425                 430
Gln Val Val Glu Asn Pro Asp Ser Ala Tyr Tyr His Asp Arg Ser Leu
        435                 440                 445
Ile Asp Leu Val Arg Lys Gly Met Asn Trp Leu Tyr Thr Asn Val Tyr
    450                 455                 460
Asn Glu Asn Lys Ser Ile Asp Gly Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly
465                 470                 475                 480
Thr Pro Arg Ala Val Val Asn Thr Leu Ile Tyr Met His Pro Tyr Phe
                485                 490                 495
Ser Gln Glu Glu Ile Leu Thr Tyr Thr Lys Pro Ile Ser Lys Phe Val
            500                 505                 510
Pro Asp Pro Thr Thr Ile Ser Val Lys His
        515                 520
```

<210> 302
<211> 1164
<212> PRT
<213> Streptococcus suis

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 302

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

Val Gln Ala Thr Lys Glu Glu Lys Asn Leu Val Ala Asn Gly Glu Phe
            100                 105                 110
Ile Ser Thr Thr Ala Pro Ser Gly Asn Trp Lys Glu Leu Ala Ala Thr
        115                 120                 125
Asn Trp Glu Thr Trp Ile Pro Ala Asn Val Lys Lys Glu Asn Gly Gln
    130                 135                 140
Val Arg Ile Asp Glu Gly Arg Leu His Ile Ser Ser Thr Ala Ser Tyr
145                 150                 155                 160
Arg Val Ala Val His Gln Thr Val Asp Val Asp Pro Asn Lys Arg Tyr
                165                 170                 175
Leu Phe Ser Tyr Asp Val Glu Thr Lys Asp Leu Lys Gly Ser Gly Val
            180                 185                 190
Arg Val Arg Leu Arg Ser Leu Thr Ala Glu Gly Lys Asp Leu Ser Pro
        195                 200                 205
Gln Glu Phe Ala Tyr Thr Pro Tyr Lys Asn Gly Ser Gln Ala Glu His
    210                 215                 220
Ile Glu Gln Ile Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr Arg Lys Leu Lys Val
225                 230                 235                 240
Glu Leu Phe Phe Glu Asn Ser Val Gly Gln Ala Trp Leu Asp Asn Ile
                245                 250                 255
Ser Leu Val Glu Tyr Val Glu Lys Thr Pro Glu Thr Pro Glu Gln Ser
            260                 265                 270
Pro Glu Leu Val Gln Pro Glu Thr Gly Gln Ile Ser Leu Ala Ser Asn
        275                 280                 285
Lys Val Tyr Leu Pro Val Arg Pro Asp Leu Thr Tyr Arg Ile Ala Asp
    290                 295                 300
Ala Ala Val Ala Thr Val Glu Lys Asn Met Ile Arg Pro Leu Ala Ala
305                 310                 315                 320
Gly Lys Thr Gln Val Asp Val Tyr Asp Lys Asp Thr Lys Leu Ser Ser
                325                 330                 335
Phe Glu Leu Ile Val Thr Glu His Gln Ala Thr Val Phe Asp Thr Leu
            340                 345                 350
Arg Asn Asn Trp Glu Asp Ile Ser Leu Ala Asn Lys Arg Tyr Gln Ser
        355                 360                 365
Asn Asp Ala Gln Met Lys Ala Phe Leu Gly Arg Leu Asp Ala Gly Val
    370                 375                 380
Ala Ser Ser Leu Glu Lys Trp Val Glu Pro Thr Glu Gln Ser Lys Thr
385                 390                 395                 400
Ile Phe Asn Asp Ile Asp Phe Ser Lys Ser Ser His Leu Thr Thr Val
                405                 410                 415
Tyr Arg Arg Leu Glu Gln Met Ala Gln Val Val Glu Asn Pro Asp Ser
            420                 425                 430
```

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

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

<210> 303
<211> 1164
<212> PRT
<213> Streptococcus suis

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 303
Met Gly Phe Phe Ile Ser Gln Ser Lys Gln His Tyr Gly Ile Arg Lys
1 5 10 15
Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ile Leu Gly
20 25 30
Thr Arg Val Ala Ala Asn Gln Leu Pro Ser Thr Glu Thr Ala Ser Pro
35 40 45
Gln Ser Ser Gln Leu Val Glu Thr Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Val
50 55 60
Met Thr Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu
65 70 75 80

928

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

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

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

<210> 304
<211> 802
<212> PRT
<213> Vibrio fischeri (cepa ATCC 700601 / ES114)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 304
Met Tyr Met Ile Lys Lys His Arg Leu Asn Thr Ile Ala Leu Ser Met
1 5 10 15
Leu Phe Leu Phe Thr Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Lys Asn Thr Gln Thr
20 25 30
Pro Gln Tyr Leu Pro Ser Asp Phe Glu Gln Val Arg Glu Asn Trp Ala
35 40 45
Glu Asn Tyr Leu Gly Asp Pro Ala Ile Thr Phe Asp Gln Thr Leu Lys
50 55 60
Asn Met Val Thr Ser Thr Asn Ser Ser Ala Gln Lys His Trp Asp Ser
65 70 75 80
Met Thr Pro Gln Pro Asn Ala Ser Gly Ile Trp Asp Asp Leu Pro Leu
85 90 95
Ile Asp Lys Asp Thr Thr Leu Gly Pro Asn Ile Arg Asn Ser Tyr Gln
100 105 110
Arg Leu Phe Thr Met Ala Lys Ala Tyr Arg Leu Arg Asp Gly Asn Leu
115 120 125
Glu Asn Asn Gln Leu Met Leu Asn Asp Ile Met Thr Ala Met Asn Tyr
130 135 140
Ile Asn Gln Asn Phe Tyr Phe Val Asn Gln Leu Glu Tyr Gly Asn Trp
145 150 155 160
Trp Gln Trp Glu Leu Ala Ile Pro Lys Asp Ile His Asn Ile Leu Val
165 170 175

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

```
Pro Lys Thr Ile Ser Ile Ser Gln Asn Asp Val Asp Gly Asn Trp Ser
625                 630                 635                 640
Asp Ile Gly Asn Ser Lys Gly Asp Val Ser Asp Ser Tyr Leu Gln Ala
                645                 650                 655
Thr Leu Thr Gln Val Asp Gln Ala Asp Tyr Gln Tyr Ala Leu Leu Pro
            660                 665                 670
Asn Gln Asn Asn Asp Thr Val Gln Asn Tyr Ala Gln His Pro Asp Val
        675                 680                 685
Thr Val Leu Arg Gln Asp Glu Gln Ala His Ala Val Gln Glu Asn Thr
    690                 695                 700
Leu Asn Ile Ile Ala Ala Asn Asn Trp Lys Asn Asn Pro Val Asn Ile
705                 710                 715                 720
Thr Asp Thr Ile Thr Leu Asn Ser Met Met Gly Phe Met Ile Lys Glu
                725                 730                 735
Glu Ser Ser Asn Thr Phe Thr Val Ala Val Ser Glu Pro Ile Gln Thr
            740                 745                 750
Ile Asp Ser Val Asn Phe Thr Phe Asp Lys Gln Gly Ile Val Ile Lys
        755                 760                 765
Glu Asp Ile Glu Asn Arg Val Val Leu Asn Gly Thr Thr Leu Thr Ile
    770                 775                 780
Asn Thr Ser Gly Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Phe Gln Val Thr Ile
785                 790                 795                 800
Gln Asp
```

<210> 305
<211> 517
<212> PRT
<213> Synechococcus sp. (cepa RCC307)

<220>
<223> hialuronan liasa

<400> 305

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

```
Thr Ser Pro Lys Val Gln Arg Ala Val Gln Leu Leu Leu Asp Leu Val
                165                 170                 175
Leu Gln Pro Ser Phe Tyr Glu Pro Pro Val Leu Phe Val Pro Asp Cys
            180                 185                 190
Ala Phe Met Ile Asp Arg Pro Met Asp Val Trp Gly Ala Pro Leu Glu
        195                 200                 205
Val Glu Val Leu Leu Phe Gly Cys Leu Lys Ser Cys Cys Gln Leu Met
    210                 215                 220
Ser Leu Val Glu Gly Gly Gly His Gly Gly Pro Leu Ile Gln Gln Arg
225                 230                 235                 240
Leu Glu Leu Thr Arg Thr Trp Met Arg Asp Leu Arg Val Tyr Leu Leu
                245                 250                 255
Asn His Tyr Trp Val Thr Ser Lys Thr Met Gln Val Leu Arg Arg Arg
            260                 265                 270
Pro Thr Glu Gln Tyr Gly Asp Tyr Gln Ser Arg Asn Glu Phe Asn Val
        275                 280                 285
Gln Pro Glu Val Ile Pro His Trp Leu Gln Glu Trp Leu Asp Asp Arg
    290                 295                 300
Gly Gly Tyr Leu Ile Gly Asn Met Arg Thr Gly Arg Pro Asp Phe Arg
305                 310                 315                 320
Phe Tyr Ser Leu Gly Asn Ala Leu Gly Ser Leu Phe Gly Leu Leu Thr
                325                 330                 335
Gly Pro Gln Gln Leu Ala Leu Phe Arg Leu Val Ile His Asn Arg Gln
            340                 345                 350
His Leu Met Ala Glu Met Pro Met Arg Ile Cys His Pro Pro Met Asp
        355                 360                 365
Gln Asp Glu Trp Ile Thr Asn Thr Gly Met Asp Pro Lys Asn Trp Pro
    370                 375                 380
Trp Ser Tyr His Asn Gly Gly His Trp Pro Ser Leu Leu Trp Pro Met
385                 390                 395                 400
Ala Ala Ala Val Leu Met His Gln Arg Leu Tyr Pro Asn Asp Asp Leu
                405                 410                 415
Leu Leu Leu Gly Gln Thr Arg Thr Met Leu Glu Glu Cys Tyr Trp Gln
            420                 425                 430
Gln Leu Asn Gln Leu Pro Arg Gln Gln Trp Ala Glu Tyr Phe Asp Gly
        435                 440                 445
Pro Thr Gly Thr Trp Val Gly Gln Gln Ala Arg Ile Asn Gln Thr Trp
    450                 455                 460
Thr Ile Val Gly Phe Leu Leu Leu His His Leu Met Arg Lys Ala Pro
465                 470                 475                 480
Gln Asp Val Lys Leu Leu Asp Leu Asp Asp Val Gly Pro Leu Arg Leu
                485                 490                 495
Ser Phe Gln Asp Gln His Glu Lys Ser Ser Thr Asp Glu Arg Lys Ser
            500                 505                 510
Phe Leu Lys Asn Tyr
        515
```

<210> 306
<211> 1021
<212> PRT
<213> Proteus vulgaris

<220>
<223> condroitina-sulfato-ABC endoliasa

<400> 306

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

935

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

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

```
Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile
            900                 905                 910
Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala
        915                 920                 925
Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val
    930                 935                 940
Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro
945                 950                 955                 960
Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn
                965                 970                 975
Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val
            980                 985                 990
Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr
        995                 1000                1005
Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys Leu Ser Pro Leu Pro
    1010                1015                1020
```

<210> 307
<211> 700
<212> PRT
<213> Pedobacter heparinus

<220>
<223> condroitina AC liasa

<400> 307

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

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

```
Gln Gln Glu Phe Ala Gly Ala Thr Val Glu Leu Lys
    690                 695                 700


<210> 308
<211> 844
<212> PRT
<213> Victivallis vadensis ATCC BAA-548

<220>
<223> condroitina AC liasa

<400> 308
Met His Arg Lys Ile Val Phe Pro Leu Phe Val Leu Leu Phe Thr Ala
 1               5                  10                  15
Phe Ala Ala Phe Ala Ala Ser Gln Pro Gln Trp Lys Trp Arg Gln Ser
            20                  25                  30
Lys Tyr Cys Arg Ile Thr Glu His Ala Gly Lys Lys Leu Leu Thr Val
        35                  40                  45
Ala Ile Pro Ala Asp Ala Pro Glu Ile Ser Arg Arg Asn Thr Ala Asp
    50                  55                  60
Thr Pro Val Gly Leu Thr Cys Phe Glu Gly Gln Pro Ile Glu Phe Ser
65                  70                  75                  80
Ile Arg Leu Arg Asn Ser Gly Ile Ser Arg Pro Asp Asn Leu His Asn
                85                  90                  95
Gly Ile Lys Phe Gln Leu Tyr Phe Arg Asp Gly Asn Gly Thr Glu Arg
            100                 105                 110
Trp Thr Gln Ala Glu Ile Pro His Glu Pro Phe Pro Trp Arg Arg Phe
        115                 120                 125
Arg Phe Ser Glu Arg Ile Pro Ala Asp Ala Thr Ser Gly Thr Leu Arg
    130                 135                 140
Leu Gly Leu Gln Gly Ser Ser Gly Asn Val Glu Phe Asp Leu Asp Ser
145                 150                 155                 160
Leu Gln Ile Arg Pro Leu Asp Pro Glu Leu Ser Pro Val Pro Pro Thr
                165                 170                 175
Pro Glu Gln Ile Arg Glu Cys Glu Leu Ile Glu Ser Arg Leu Arg Ala
            180                 185                 190
Gly Leu Pro Ala Gln Gln Pro Pro Pro Gly Pro Glu Val Lys Lys Leu
        195                 200                 205
Leu Glu Arg Gln Asn Gly Asp Gly Thr Phe Arg Asp Leu Asp Tyr Ser
    210                 215                 220
Ala Arg Asn Arg Ser Ile Trp Pro Ala Ala Arg His Leu Lys Arg Thr
225                 230                 235                 240
Phe Glu Leu Ala Leu Ala Arg Ala Thr Pro Gly His Ala Leu Tyr Arg
                245                 250                 255
Asp Pro Ala Ala Gly Glu Ala Val Arg Lys Ala Val Ala Trp Trp Ala
            260                 265                 270
Glu Arg Gln Pro Gln Asn Gly Asn Trp Trp Trp Asn Asp Met Tyr Val
        275                 280                 285
Pro Lys Ile Leu Gly Asn Ile Leu Leu Leu Ser Pro Glu Leu Phe Pro

    290                 295                 300
Asp Gly Pro Arg Arg Arg Ala Ala Leu Asn Val Cys Arg Gln Ala Cys
305                 310                 315                 320
Phe Leu Ser Arg Tyr Thr Gly Asn Asn Arg Val Phe Ile Ala Ala Asn
                325                 330                 335
```

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

940

```
Arg Leu Asp Asp Phe Glu Thr Asp Thr Pro Gly Val Phe Leu Ile Gly
785                 790                 795                 800
Lys Gly Thr Val His Ala Ala Asp Pro Thr Gly Arg His Ser Ser Phe
                805                 810                 815
Thr Leu Lys Leu Asn Gly Val Ser Arg Lys Val Pro Leu Pro Ala Gly
            820                 825                 830
Glu Phe Ala Gly Gln Ser Val Lys Ile Val Leu Lys
        835                 840
```

<210> 309
<211> 4344
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-24

<400> 309

```
gggatgccga ggagccgggg cggccgcgcc gcgccggggc cgccgccgcc gccgccgccg 60
ccgggccagg ccccgcgctg gagccgctgg cgggtccctg ggcggctgct gctgctgctg 120
ctgcccgcgc tctgctgcct cccgggcgcc gcgcgggcgg cggcggcggc ggcgggggca 180
gggaaccggg cagcggtggc ggtggcggtg gcgcgggcgg acgaggcgga ggcgcccttc 240
gccgggcaga actggttaaa gtcctatggc tatctgcttc cctatgactc acgggcatct 300
gcgctgcact cagcgaaggc cttgcagtcg gcagtctcca ctatgcagca gttttacggg 360
atcccggtca ccggtgtgtt ggatcagaca acgatcgagt ggatgaagaa accccgatgt 420
ggtgtccctg atcaccccca cttaagccgt aggcggagaa acaagcgcta tgccctgact 480
ggacagaagt ggaggcaaaa acacatcacc tacagcattc acaactatac cccaaaagtg 540
ggtgagctag acacgcggaa agctattcgc caggctttcg atgtgtggca gaaggtgacc 600
ccactgacct ttgaagaggt gccataccat gagatcaaaa gtgaccggaa ggaggcagac 660
atcatgatct tttttgcttc tggtttccat ggcgacagct ccccatttga tggagaaggg 720
ggattcctgg cccatgccta cttccctggc ccagggattg gaggagacac ccactttgac 780
tccgatgagc catggacgct aggaaatgcc aaccatgacg ggaacgacct cttcctggtg 840
gctgtgcatg agctgggcca cgcgctggga ctggagcact ccagcgaccc cagcgccatc 900
atggcgccct tctaccagta catggagacg cacaacttca agctgcccca ggacgatctc 960
cagggcatcc agaagatcta tggaccccca gccgagcctc tggagcccac aaggccactc 1020
cctacactcc ccgtccgcag gatccactca ccatcggaga ggaaacacga gcgccagccc 1080
aggccccctc ggccgccccc cggggaccgg ccatccacac caggcaccaa acccaacatc 1140
tgtgacggca acttcaacac agtggccctc ttccggggcg agatgtttgt ctttaaggat 1200
cgctggttct ggcgtctgcg caataaccga gtgcaggagg gctaccccat gcagatcgag 1260
cagttctgga agggcctgcc tgcccgcatc gacgcagcct atgaaagggc cgatgggaga 1320
tttgtcttct tcaaaggtga caagtattgg gtgtttaagg aggtgacggt ggagcctggg 1380
taccccaca gcctgggga gctgggcagc tgtttgcccc gtgaaggcat tgacacagct 1440
ctgcgctggg aacctgtggg caagacctac tttttcaaag gcgagcggta ctggcgctac 1500
agcgaggagc ggcgggccac ggaccctggc taccctaagc ccatcaccgt gtggaagggc 1560
atcccacagg ctccccaagg agccttcatc agcaaggaag gatattacac ctatttctac 1620
aagggccggg actactggaa gtttgacaac cagaaactga gcgtggagcc aggctacccg 1680
cgcaacatcc tgcgtgactg gatgggctgc aaccagaagg aggtggagcg gcggaaggag 1740
cggcggctgc cccaggacga cgtggacatc atggtgacca tcaacgatgt gccgggctcc 1800
gtgaacgccg tggccgtggt catcccctgc atcctgtccc tctgcatcct ggtgctggtc 1860
tacaccatct tccagttcaa gaacaagaca ggccctcagc ctgtcaccta ctataagcgg 1920
ccagtccagg aatgggtgtg agcagcccag agccctctct atccacttgg tctggccagc 1980
caggcccttc ctcaccaggg tctgaggggc agctctggcc agtgctcacc agggccagca 2040
gggccctagg ctggggtcgt acagctgaag tggtgggtgc attggcctag gctgagcgtg 2100
gggcagggaa ttatgggggc tgtgccccag ggtgggtgtc tggcacccag ctgccagcct 2160
tctgtcctgg gcaaactact ccctacttaa gggaataggc caggctccat ccggaggcag 2220
ggaccatgcc aggaggagcc cctgtggtca cggcatcctg tggtgtccat gaggtaccac 2280
```

941

agctccactc ctggctggaa cccagcaccc tctgtgggaa gccagcacta gctctcatcc 2340
cccatccggg agataccacc agtcctggtc ccctttgcc aacacctgct ggtcagatgt 2400
ccccctaccc ccaccccact gtcctccaag gctacaggac ccctgcttct gacacagtga 2460
gcaacaagcc tgggtttccc tgctggcaga cggcagatcc ctcaggaaac ctgctccact 2520
tgtcagggtc tcttcggaga cccaggattt agggtcacat gctgcaggca gggctgtggc 2580
ccagctgggt ctgacaagga cccagctgtc acatcgtgaa tatttaaatg tcctgtcact 2640
actgtcccat tttgcaaagg ctgcttgagg ctttaggtga actagaggtg actgtcttgg 2700
tgatgaggcc agcatagcgg ccctccccca ggcgacaagg accaaggtgc tgctaaggcc 2760
actctagcgc ccagacaccc cagtagctga gctctgctcc tatggctaca gagctggggc 2820
agaagctgac cccatttctg gaggaagatc cgagtttgtg accgtcctcc actcccctct 2880
attgtcactg tccccagctt tgctccagtc tgtcacttgc agcctggagc tcagcctcac 2940
cagttaggtg aggcagagat ggctgcaggg ccaacactgg cagagcctgg gagtccttcg 3000
gaaggggacc agggcgtctg aagtgctcag tgcccccact actctgaggc cgactccagc 3060
tactctgagg ccgactcaat ctctcggctg gaagcagtgt tttcccagag cttggccctt 3120
gctgacctcg ctcactgggc ccatcttccc acactgctct tagaaggaca cccctaccgg 3180
tagcagcccc aagctgaggg ggctcccttt ttgaccttca ctggcccgcc cttcactgtc 3240
tccagcagga gttcctaggg cttggcctgc cttgctccac agtacggcgg aggcagccct 3300
gcttgtcact gaggagccct agacaaggcc aatgggttca tcaatgccca ctggctctct 3360
gccaaagcca aaaaggtgtc aggcagtctc cagcgtgctg gccgggtctc ggatgccacc 3420
cctgctcact gagcctgcat gggccttgcc cccgaccctg tggtctctgg gattggggtc 3480
ggcttaccct gtagcacaga cagggactcc tgctgccctg ggagctgtct caagcaaaat 3540
ctcttgtccc agaggtgccc atgtgggtcc gctgtgtccc ctgtcatcat ccttgttttt 3600
tctcattttg gccaagggca ggctccctgg gacaggcagg gaacaactgc ggagatatta 3660
gtgattcata ggtttgtaca gtgttttata ctttgcaaag cactttatta gctcacacct 3720
gtccactcac atgaaactcg tgttaggccc tgggaggccg acggtaactc tcaccgtgcc 3780
ctcagatgaa gcacagagag gttgttactt gcccgggcca tccagtgggc tggctgggtc 3840
ttgtgtcccc atctgtggac ccctctaggg tctgagatga gatgagaagt gtctcctgta 3900
tccacctctt cctggcctcc cttcccccac ttcctggtcc ctgtccactc ctcaggttgg 3960
tgctctcact tcttgaaagc tctaggcacc cccgcctccc gccaggctcc ccattggctc 4020
ctggcaggcc agctgagaat gaacaggaga tggaggcagg cagcccaggc tgcagaggtg 4080
agggatgtgg ggccaggccc agagggctca gcctagaggc ttccaatctc agattctcct 4140
gcctgtggtc atctgtttgt ccatcacccc aggacagggc agacagaggg gcaaagcact 4200
gggggcccca gagcctagct tcccctcagc ctgggggaca tcacagcatt tcagtgtcag 4260
tcacatttta aactgatcag cctttgtata atgtttttta aatcatttct aaataaaaca 4320
gaaatacaga gtgaaaaaaa aaaa 4344

<210> 310
<211> 645
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-24 precursor

<400> 310
Met Pro Arg Ser Arg Gly Gly Arg Ala Ala Pro Gly Pro Pro Pro Pro
 1   5   10   15
Pro Pro Pro Pro Gly Gln Ala Pro Arg Trp Ser Arg Trp Arg Val Pro
            20   25   30
Gly Arg Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Ala Leu Cys Cys Leu Pro Gly
        35   40   45
Ala Ala Arg Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Gly Asn Arg Ala Ala
    50   55   60
Val Ala Val Ala Val Ala Arg Ala Asp Glu Ala Glu Ala Pro Phe Ala
65   70   75   80
Gly Gln Asn Trp Leu Lys Ser Tyr Gly Tyr Leu Leu Pro Tyr Asp Ser
                85   90   95

942

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

```
Trp Lys Phe Asp Asn Gln Lys Leu Ser Val Glu Pro Gly Tyr Pro Arg
545                 550                 555                 560
Asn Ile Leu Arg Asp Trp Met Gly Cys Asn Gln Lys Glu Val Glu Arg
                565                 570                 575
Arg Lys Glu Arg Arg Leu Pro Gln Asp Asp Val Asp Ile Met Val Thr
            580                 585                 590
Ile Asn Asp Val Pro Gly Ser Val Asn Ala Val Ala Val Val Ile Pro
        595                 600                 605
Cys Ile Leu Ser Leu Cys Ile Leu Val Leu Val Tyr Thr Ile Phe Gln
    610                 615                 620
Phe Lys Asn Lys Thr Gly Pro Gln Pro Val Thr Tyr Tyr Lys Arg Pro
625                 630                 635                 640
Val Gln Glu Trp Val
                645
```

<210> 311
<211> 490
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-24 maduro

<400> 311

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

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

<210> 312
<211> 3565
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-25

<400> 312

```
gattcccggg cccacccgac ccagcggcgc gaccctggcc ctccgggacc ctccgctgac 60
tccaccgcgc acttcccggg acccccacac acatcccagc cctccggccg atccctccct 120
actcggtgcc gggtgccccc cgccctctcc aggcccggat ctcctccccc aggtccccgg 180
ggcggcccca gccaggcccc cttcgaaccc cgccggcggc ccgggctggg gcgcaccatg 240
cggctgcggc tccggcttct ggcgctgctg cttctgctgc tggcaccgcc cgcgcgcgcc 300
ccgaagccct cggcgcagga cgtgagcctg ggcgtggact ggctgactcg ctatggttac 360
ctgccgccac cccaccctgc ccaggcccag ctgcagagcc ctgagaagtt gcgcgatgcc 420
atcaaagtca tgcagaggtt cgcggggctg ccggagaccg gccgcatgga cccagggaca 480
gtggccacca tgcgtaagcc ccgctgctcc ctgcctgacg tgctgggggt ggcggggctg 540
gtcaggcggc gtcgccggta cgctctgagc ggcagcgtgt ggaagaagcg aaccctgaca 600
tggagggtac gttccttccc ccagagctcc cagctgagcc aggagaccgt gcgggtcctc 660
atgagctatg ccctgatggc ctggggcatg gagtcaggcc tcacatttca tgaggtggat 720
tccccccagg gccaggagcc cgacatcctc atcgactttg cccgcgcctt ccaccaggac 780
agctaccccct tcgacgggtt ggggggcacc ctagcccatg ccttcttccc tggggagcac 840
cccatctccg gggacactca ctttgacgat gaggagacct ggacttttgg gtcaaaagac 900
ggcgagggga ccgacctgtt tgccgtggct gtccatgagt ttggccacgc cctgggcctg 960
```

945

ggccactcct cagcccccaa ctccattatg aggcccttct accagggtcc ggtgggcgac 1020
cctgacaagt accgcctgtc tcaggatgac cgcgatggcc tgcagcaact ctatgggaag 1080
gcgccccaaa ccccatatga caagcccaca aggaaacccc tggctcctcc gccccagccc 1140
ccggcctcgc ccacacacag cccatccttc cccatccctg atcgatgtga gggcaatttt 1200
gacgccatcg ccaacatccg aggggaaact ttcttcttca aaggcccctg gttctggcgc 1260
ctccagccct ccggacagct ggtgtccccg cgacccgcac ggctgcaccg cttctgggag 1320
gggctgcccg cccaggtgag ggtggtgcag gccgcctatg ctcggcaccg agacggccga 1380
atcctcctct ttagcgggcc ccagttctgg gtgttccagg accggcagct ggagggcggg 1440
gcgcggccgc tcacggagct ggggctgccc ccgggagagg aggtggacgc cgtgttctcg 1500
tggccacaga acgggaagac ctacctggtc cgcggccggc agtactggcg ctacgacgag 1560
gcggcggcgc gcccggaccc cggctaccct cgcgacctga gcctctggga aggcgcgccc 1620
ccctcccctg acgatgtcac cgtcagcaac gcaggtgaca cctacttctt caagggcgcc 1680
cactactggc gcttccccaa gaacagcatc aagaccgagc cggacgcccc ccagcccatg 1740
gggcccaact ggctggactg ccccgccccg agctctggtc cccgcgcccc caggcccccc 1800
aaagcgaccc ccgtgtccga aacctgcgat tgtcagtgcg agctcaacca ggccgcagga 1860
cgttggcctg ctcccatccc gctgctcctc ttgcccctgc tggtgggggg tgtagcctcc 1920
cgctgatggg gggagccatc cagaccgaac agcgccctcc acggccgagt cccccgccgc 1980
tggacctggt cgggggttgt gaggcgctgc ggaggcccct tgtctgttcc cacggacggg 2040
ggctcgggcg cggactaagc agggggggatc tcccgcgcag gggcggcggc ggcggggacc 2100
ggtcgcctgg cgctgggctc agtctcctca gggtctgaga ccccggcgct gccaccggaa 2160
cccgccttca ggggcgcacg cgcgctggga ccatgcgtcg gtcgtcgccc ccgtcgttcc 2220
ctcccggctg ccgccagggg gcggtcggac cccgcctccc gagcccgggg aggggcgggg 2280
aggacaaggg gcgggcccgc ggcctcaccc ggagggacgg cagccccggt cgcgcgctgg 2340
ccccgcagga ccttcctttt ccaggaagag ccagctttc tcggagcgca gtcctgggac 2400
tctccgcagc cccgccccgc ctggccactg cgtctggcat tcctgggtcg ttagaggaca 2460
ggcctgactg cgaagctgtg ccttgcccct ctcccacccg cagtttctca ccccgttctg 2520
ctcccacaag gccccccctac agtcactgcc acactggtgg ggacctggga cccagacccg 2580
gaaccagccc agatatcacc cctgaggacc catgcgccac gtcctgggtg gtggaatcag 2640
tggctggagg gacgaccctt gctctccagg ctgttaacct tttccgttgc tcccccgcca 2700
cccacctcct cctccccagg ccacccaact tgggcacctc cctgggccca gaactgcctt 2760
ccattcaatg gggaaccctt ctatccccaa gaacccttc cctgcttgca ccctggagag 2820
aacagcttga ctcccatcaa ctcaacgctg gtggaaagac agggaccgaa ccctggctca 2880
ggcctggtca ttgcctcctc agcactccct cctgggaggc cttagctcta gagtgagggg 2940
tgggtggaac ctgggggcac ctcgttcacc ctgtccccac tccccacagt tttaggatct 3000
aaatgattgc ctctggaact attcttctag actatcccac atcagaatca ctgggaaatt 3060
taagtttgca gatcccacac tcaccctgaa tcctcactca gggtggggtc aggaatctgc 3120
attttaacta gtcgcgggga ttgtgggggg cagtagctgg ctgtttcgtg gcatttctgt 3180
ggctctgcag tgttcctcca ccccaggacc aatatgttca ggccacaccg atggcctgaa 3240
ccccatgggt agagtcactt aggggccact tcctaagttg ctgtccagcc tcagtgaccc 3300
cctagtgctt cctggagctg aggctgtggg cggctgtccc agcaaccatg cgaggggttg 3360
ccccagttgc tcatacaaac agatcagcat gaggacagaa ggcaggagac tttggtcagt 3420
tacctgggaa ttctgggctg ccaggaaacg atttgggcct ctgtcagttt cttttccatg 3480
tatgaggagg gggaaatttg tatattagaa acttattcat cccactcagg acaataaaaa 3540
cgaatgtaca aaaaaaaaaa aaaaa 3565

<210> 313
<211> 562
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-25 precursor

<400> 313
Met Arg Leu Arg Leu Arg Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala
 1   5   10   15

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

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

<210> 314
<211> 455
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-25 maduro

<400> 314

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

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

<210> 315
<211> 1919
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-21

<400> 315

```
atgctcgccg cctccatctt ccgtccgaca ctgctgctct gctggctggc tgctccctgg 60
cccacccagc ccgagagtct cttccacagc cgggaccgct cggacctgga gccgtcccca 120
ctgcgccagg ccaagcccat tgccgacctc cacgctgctc agcggttcct gtccagatac 180
ggctggtcag gggtgtgggc ggcctggggg cccagtcccg aggggccgcc ggagaccccc 240
aagggcgccg ccctggccga ggcggtgcgc aggttccagc gggcgaacgc gctgccggcc 300
agcggggagc tggacgcggc caccctagcg gccatgaacc ggccgcgctg cggggtcccg 360
gacatgcgcc caccgccccc ctccgccccg ccttcgcccc cgggcccgcc ccccagagcc 420
cgctccaggc gctccccgcg ggcgccgctg tccttgtccc ggcggggttg gcagccccgg 480
ggctaccccg acggcggagc tgcccaggcc ttctccaaga ggacgctgag ctggcggctg 540
ctgggcgagg ccctgagcag ccaactgtcc gtggccgacc agcggcgcat tgtggcgctg 600
gccttcagga tgtggagcga ggtgacgccg ctggacttcc gcgaggacct ggccgccccc 660
ggggccgcgg tcgacatcaa gctgggcttt gggagaggcc ggcacctggg ctgtccgcgg 720
gccttcgatg ggagcgggca ggagtttgca cacgcctggc gcctaggtga cattcacttt 780
gacgacgacg agcacttcac acctcccacc agtgacacgg gcatcagcct tctcaaggtg 840
gccgtccatg aaattggcca tgtcctgggc ttgcctcaca cctacaggac gggatccata 900
atgcaaccaa attacattcc ccaggagcct gcctttgagt tggactggtc agacaggaaa 960
gcaattcaaa agctgtatgg ctcctgtgag ggatcatttg atactgcgtt tgactggatt 1020
cgcaaagaga gaaaccaata tggagaggtg atggtgagat ttagcacata tttcttccgt 1080
aacagctggt actggcttta tgaaaatcga aacaatagga cacgctatgg ggaccctatc 1140
caaatcctca ctggctggcc tggaatccca acacacaaca tagatgcctt tgttcacatc 1200
```

949

tggacatgga aaagagatga acgttatttt tttcaaggaa atcaatactg gagatatgac 1260
agtgacaagg atcaggccct cacagaagat gaacaaggaa aaagctatcc caaattgatt 1320
tcagaaggat ttcctggcat cccaagtccc ctagacacgg cgttttatga ccgaagacag 1380
aagttaattt acttcttcaa ggagtccctt gtatttgcat ttgatgtcaa cagaaatcga 1440
gtacttaatt cttatccaaa gaggattact gaagtttttc cagcagtaat accacaaaat 1500
catcctttca gaaatataga ttccgcttat tactcctatg catacaactc cattttcttt 1560
ttcaaaggca atgcatactg gaaggtagtt aatgacaagg acaaacaaca gaattcctgg 1620
cttcctgcta atggcttatt tccaaaaaag tttatttcag agaagtggtt tgatgtttgt 1680
gacgtccata tctccacact gaacatgtaa taagaaaaag taggaaatgg agggtcatag 1740
gacttcgcta aaattctgat actgtttaca aagaaaaccg gattttcagt agctgaagaa 1800
aatatggcac tgtaagttaa aacccaatgg gaaaagcctt agttgaactt ttaaaatact 1860
tgatttaaaa acaattgctc aggcaaaaca taattcataa actaaaaggt ttaaaaaaa 1919

<210> 316
<211> 569
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-21 precursor

<400> 316

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

```
Thr Gly Ile Ser Leu Leu Lys Val Ala Val His Glu Ile Gly His Val
        275                 280                 285
Leu Gly Leu Pro His Thr Tyr Arg Thr Gly Ser Ile Met Gln Pro Asn
    290                 295                 300
Tyr Ile Pro Gln Glu Pro Ala Phe Glu Leu Asp Trp Ser Asp Arg Lys
305                 310                 315                 320
Ala Ile Gln Lys Leu Tyr Gly Ser Cys Glu Gly Ser Phe Asp Thr Ala
                325                 330                 335
Phe Asp Trp Ile Arg Lys Glu Arg Asn Gln Tyr Gly Glu Val Met Val
            340                 345                 350
Arg Phe Ser Thr Tyr Phe Phe Arg Asn Ser Trp Tyr Trp Leu Tyr Glu
        355                 360                 365
Asn Arg Asn Asn Arg Thr Arg Tyr Gly Asp Pro Ile Gln Ile Leu Thr
    370                 375                 380
Gly Trp Pro Gly Ile Pro Thr His Asn Ile Asp Ala Phe Val His Ile
385                 390                 395                 400
Trp Thr Trp Lys Arg Asp Glu Arg Tyr Phe Phe Gln Gly Asn Gln Tyr
                405                 410                 415
Trp Arg Tyr Asp Ser Asp Lys Asp Gln Ala Leu Thr Glu Asp Glu Gln
            420                 425                 430
Gly Lys Ser Tyr Pro Lys Leu Ile Ser Glu Gly Phe Pro Gly Ile Pro
        435                 440                 445
Ser Pro Leu Asp Thr Ala Phe Tyr Asp Arg Arg Gln Lys Leu Ile Tyr
    450                 455                 460
Phe Phe Lys Glu Ser Leu Val Phe Ala Phe Asp Val Asn Arg Asn Arg
465                 470                 475                 480
Val Leu Asn Ser Tyr Pro Lys Arg Ile Thr Glu Val Phe Pro Ala Val
                485                 490                 495
Ile Pro Gln Asn His Pro Phe Arg Asn Ile Asp Ser Ala Tyr Tyr Ser
            500                 505                 510
Tyr Ala Tyr Asn Ser Ile Phe Phe Phe Lys Gly Asn Ala Tyr Trp Lys
        515                 520                 525
Val Val Asn Asp Lys Asp Lys Gln Gln Asn Ser Trp Leu Pro Ala Asn
    530                 535                 540
Gly Leu Phe Pro Lys Lys Phe Ile Ser Glu Lys Trp Phe Asp Val Cys
545                 550                 555                 560
Asp Val His Ile Ser Thr Leu Asn Met
                565
```

<210> 317
<211> 425
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-21 maduro

<400> 317

```
Ser Pro Arg Ala Pro Leu Ser Leu Ser Arg Arg Gly Trp Gln Pro Arg
 1               5                  10                  15
Gly Tyr Pro Asp Gly Gly Ala Ala Gln Ala Phe Ser Lys Arg Thr Leu
            20                  25                  30
Ser Trp Arg Leu Leu Gly Glu Ala Leu Ser Ser Gln Leu Ser Ala Ala
        35                  40                  45
Asp Gln Arg Arg Ile Val Ala Leu Ala Phe Arg Met Trp Ser Glu Val
    50                  55                  60
```

951

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

<210> 318
<211> 1246
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-23

<400> 318

952

```
ctgccccatg cagccctgag ccccacagca agtctgccat gggccgcggg gcccgtgtcc 60
cctcggaggc cccgggggca ggcgtcgagc gccgctggct tggagccgcg ctggtcgccc 120
tgtgcctcct ccccgcgctg gtgctgctgg cccggctggg ggccccggcg gtgccggcct 180
ggagcgcagc gcagggagac gtcgctgcgc tgggcctctc ggcggtcccc cccacccggg 240
tcccgggccc actggccccc cgcagacgcc gctacacgct gactccagcc aggctgcgct 300
gggaccactt caacctcacc tacaggatcc tctccttccc gcggaacctg ctgagcccgc 360
gggagacgcg gcgggcccta gctgccgcct tccgcatgtg gagcgacgtg tccccttca 420
gcttccgcga ggtggccccc gagcagccca gcgacctccg gataggcttc tacccgatca 480
accacacgga ctgcctggtc tccgcgctgc accactgctt cgacggcccc acgggggagc 540
tggcccacgc cttcttcccc ccgcacggcg gcatccactt cgacgacagc gagtactggg 600
tcctgggccc cacgcgctac agctggaaga aaggcgtgtg gctcacggac ctggtgcacg 660
tggcggccca cgagatcggc cacgcgctgg gcctgatgca ctcacaacac ggccgggcgc 720
tcatgcacct gaacgccacg ctgcgcggct ggaaggcgtt gtcccaggac gagctgtggg 780
ggctgcaccg gctctacgga tgcctcgaca ggctgttcgt gtgcgcgtcc tgggcgcgga 840
ggggcttctg cgacgctcgc cggcggctca tgaagaggct ctgccccagc agctgcgact 900
tctgctacga attcccttc cccacggtgg ccaccacccc accgcccccc aggaccaaaa 960
ccaggctggt gcccgagggc aggaacgtga ccttccgctg cggccagaag atcctccaca 1020
agaaagggaa agtgtactgg tacaaggacc aggagcccct ggagttctcc taccccggct 1080
acctggccct gggcgaggcg cacctgagca tcatcgccaa cgccgtcaat gagggcacct 1140
acacctgcgt ggtgcgccgc cagcagcgcg tgctgaccac ctactcctgg cgagtccgtg 1200
tgcggggctg agcccggctg ataaagcact ttctctctga aaaaaa                 1246
```

<210> 319
<211> 390
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-23 precursor

<400> 319

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

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

<210> 320
<211> 312
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-23 maduro

<400> 320

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

```
Cys Leu Asp Arg Leu Phe Val Cys Ala Ser Trp Ala Arg Arg Gly Phe
            180                 185                 190
Cys Asp Ala Arg Arg Arg Leu Met Lys Arg Leu Cys Pro Ser Ser Cys
        195                 200                 205
Asp Phe Cys Tyr Glu Phe Pro Phe Pro Thr Val Ala Thr Thr Pro Pro
    210                 215                 220
Pro Pro Arg Thr Lys Thr Arg Leu Val Pro Glu Gly Arg Asn Val Thr
225                 230                 235                 240
Phe Arg Cys Gly Gln Lys Ile Leu His Lys Lys Gly Lys Val Tyr Trp
                245                 250                 255
Tyr Lys Asp Gln Glu Pro Leu Glu Phe Ser Tyr Pro Gly Tyr Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Glu Ala His Leu Ser Ile Ile Ala Asn Ala Val Asn Glu Gly
        275                 280                 285
Thr Tyr Thr Cys Val Val Arg Arg Gln Gln Arg Val Leu Thr Thr Tyr
    290                 295                 300
Ser Trp Arg Val Arg Val Arg Gly
305                 310
```

<210> 321
<211> 1647
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-27

<400> 321

```
gcttcagctg aagaaagaga ggaatgaagc gccttctgct tctgtttttg ttctttataa 60
cattttcttc tgcatttccc ttagtccgga tgacggaaaa tgaagaaaat atgcaactgg 120
ctcaggcata tctcaaccag ttctactctc ttgaaataga agggaatcat cttgttcaaa 180
gcaagaatag gagtctcata gatgacaaaa ttcgggaaat gcaagcattt tttggattga 240
cagtgactgg aaaactggac tcaaacaccc ttgagatcat gaagacaccc aggtgtgggg 300
tgcctgatgt gggccagtat ggctacaccc tccctgggtg gagaaaatac aacctcacct 360
acagaataat aaactatact ccggatatgg cacgagctgc tgtggatgag gctatccaag 420
aaggtttaga agtgtggagc aaagtcactc cactaaaatt caccaagatt tcaaagggga 480
ttgcagacat catgattgcc tttaggactc gagtccatgg tcggtgtcct cgctattttg 540
atggtccctt gggagtgctt ggccatgcct ttcctcctgg tccgggtctg ggtggtgaca 600
ctcattttga tgaggatgaa aactggacca aggatggagc aggattcaac ttgtttcttg 660
tggctgctca tgaatttggt catgcactgg ggctctctca ctccaatgat caaacagcct 720
tgatgttccc aaattatgtc tccctggatc ccagaaaata cccactttct caggatgata 780
tcaatggaat ccagtccatc tatggaggtc tgcctaagga acctgctaag ccaaaggaac 840
ccactatacc ccatgcctgt gaccctgact tgacttttga cgctatcaca actttccgca 900
gagaagtaat gttctttaaa ggcaggcacc tatggaggat ctattatgat atcacggatg 960
ttgagtttga attaattgct tcattctggc catctctgcc agctgatctg caagctgcat 1020
acgagaaccc cagagataag attctggttt ttaaagatga aaacttctgg atgatcagag 1080
gatatgctgt cttgccagat tatcccaaat ccatccatac attaggtttt ccaggacgtg 1140
tgaagaaaat agatgcagcc gtctgtgata agaccacaag aaaaacctac ttctttgtgg 1200
gcatttggtg ctggaggttt gatgaaatga cccaaaccat ggacaaaggg ttcccgcaga 1260
gagtggtaaa acactttcct ggaatcagta tccgtgttga tgctgctttc cagtacaaag 1320
gattcttctt tttcagccgt ggatcaaagc aatttgaata cgacattaag acaaagaata 1380
ttacccgaat catgagaact aatacttggt ttcaatgcaa agaaccaaag aactcctcat 1440
ttggttttga tatcaacaag gaaaaagcac attcaggagg cataaagata ttgtatcata 1500
agagtttaag cttgtttatt tttggtattg ttcatttgct gaaaaacact tctatttatc 1560
aataaattca tagacctaaa ataaacctca acaggtcttt taatataaat tctgcttcaa 1620
aatagaataa aaccattctt taacaac                                    1647
```

955

<210> 322
<211> 513
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-27 precursor

<400> 322

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

```
Thr Arg Lys Thr Tyr Phe Phe Val Gly Ile Trp Cys Trp Arg Phe Asp
385                 390                 395                 400
Glu Met Thr Gln Thr Met Asp Lys Gly Phe Pro Gln Arg Val Val Lys
                405                 410                 415
His Phe Pro Gly Ile Ser Ile Arg Val Asp Ala Ala Phe Gln Tyr Lys
            420                 425                 430
Gly Phe Phe Phe Phe Ser Arg Gly Ser Lys Gln Phe Glu Tyr Asp Ile
        435                 440                 445
Lys Thr Lys Asn Ile Thr Arg Ile Met Arg Thr Asn Thr Trp Phe Gln
    450                 455                 460
Cys Lys Glu Pro Lys Asn Ser Ser Phe Gly Phe Asp Ile Asn Lys Glu
465                 470                 475                 480
Lys Ala His Ser Gly Gly Ile Lys Ile Leu Tyr His Lys Ser Leu Ser
                485                 490                 495
Leu Phe Ile Phe Gly Ile Val His Leu Leu Lys Asn Thr Ser Ile Tyr
            500                 505                 510
Gln
```

<210> 323
<211> 415
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-27 maduro

```
<400> 323
Tyr Gly Tyr Thr Leu Pro Gly Trp Arg Lys Tyr Asn Leu Thr Tyr Arg
 1               5                  10                  15
Ile Ile Asn Tyr Thr Pro Asp Met Ala Arg Ala Ala Val Asp Glu Ala
            20                  25                  30
Ile Gln Glu Gly Leu Glu Val Trp Ser Lys Val Thr Pro Leu Lys Phe
        35                  40                  45
Thr Lys Ile Ser Lys Gly Ile Ala Asp Ile Met Ile Ala Phe Arg Thr
    50                  55                  60
Arg Val His Gly Arg Cys Pro Arg Tyr Phe Asp Gly Pro Leu Gly Val
65                  70                  75                  80
Leu Gly His Ala Phe Pro Pro Gly Pro Gly Leu Gly Gly Asp Thr His
                85                  90                  95
Phe Asp Glu Asp Glu Asn Trp Thr Lys Asp Gly Ala Gly Phe Asn Leu
            100                 105                 110
Phe Leu Val Ala Ala His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Ser His
        115                 120                 125
Ser Asn Asp Gln Thr Ala Leu Met Phe Pro Asn Tyr Val Ser Leu Asp
    130                 135                 140
Pro Arg Lys Tyr Pro Leu Ser Gln Asp Asp Ile Asn Gly Ile Gln Ser
145                 150                 155                 160
Ile Tyr Gly Gly Leu Pro Lys Glu Pro Ala Lys Pro Lys Glu Pro Thr
                165                 170                 175
Ile Pro His Ala Cys Asp Pro Asp Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr
            180                 185                 190
Phe Arg Arg Glu Val Met Phe Phe Lys Gly Arg His Leu Trp Arg Ile
        195                 200                 205
Tyr Tyr Asp Ile Thr Asp Val Glu Phe Glu Leu Ile Ala Ser Phe Trp
    210                 215                 220
```

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

<210> 324
<211> 2480
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-28

<400> 324

```
tccctcggtc cccggggccg gcggacccgc gggcaggcac tgcccgggct ggacgacgtc 60
tggccggctc ccggcgaagg gcagcggagg agcggcccag agcgcgcagc tagggcactg 120
gcgaaacccc gggacagtcc ctctccgtgc gggggcggcg cagagcagtc ccatccccgg 180
ggtcccgggc gcggctgact gccggctggt tccctgcgcg cagtagctcc ccgagccggg 240
ctgcaccgga ggcggcgaga tggtcgcgcg cgtcggcctc ctgctgcgcg ccctgcagct 300
gctactgtgg ggccacctgg acgcccagcc cgcggagcgc ggaggccagg agctgcgcaa 360
ggaggcggag gcattcctag agaagtacgg atacctcaat gaacaggtcc ccaaagctcc 420
cacctccact cgattcagcg atgccatcag agcgtttcag tgggtgtccc agctacctgt 480
cagcggcgtg ttggaccgcg ccaccctgcg ccagatgact cgtccccgct gcggggttac 540
agataccaac agttatgcgg cctgggctga gaggatcagt gacttgtttg ctagacaccg 600
gaccaaaatg aggcgtaaga aacgctttgc aaagcaaggt aacaaatggt acaagcagca 660
cctctcctac cgcctggtga actggcctga gcatctgccg gagccggcag ttcggggcgc 720
cgtgcgcgcc gccttccagt tgtggagcaa cgtctcagcg ctggagttct gggaggcccc 780
agccacaggc cccgctgaca tccggctcac cttcttccaa ggggaccaca acgatgggct 840
gggcaatgcc tttgatggcc caggggcgc cctggcgcac gccttcctgc cccgccgcgg 900
cgaagcgcac ttcgaccaag atgagcgctg gtccctgagc cgccgccgcg ggcgcaacct 960
gttcgtggtg ctggcgcacg agatcggtca cacgcttggc ctcacccact cgcccgcgcc 1020
gcgcgcgctc atggcgccct actacaagag gctgggccgc gacgcgctgc tcagctggga 1080
cgacgtgctg gccgtgcaga gcctgtatgg gaagccccta gggggctcag tggccgtcca 1140
gctcccagga aagctgttca ctgactttga gacctgggac tcctacagcc cccaaggaag 1200
gcgccctgaa acgcagggcc ctaaatactg ccactcttcc ttcgatgcca tcactgtaga 1260
caggcaacag caactgtaca tttttaaagg gagccatttc tgggaggtgg cagctgatgg 1320
```

caacgtctca gagccccgtc cactgcagga aagatgggtc gggctgcccc ccaacattga 1380
ggctgcggca gtgtcattga atgatggaga tttctacttc ttcaaagggg gtcgatgctg 1440
gaggttccgg ggccccaagc cagtgtgggg tctcccacag ctgtgccggg caggggcct 1500
gccccgccat cctgacgccg ccctcttctt ccctcctctg cgccgcctca tcctcttcaa 1560
gggtgcccgc tactacgtgc tggcccgagg gggactgcaa gtggagccct actacccccg 1620
aagtctgcag gactggggag gcatccctga ggaggtcagc ggcgccctgc cgaggcccga 1680
tggctccatc atcttcttcc gagatgaccg ctactggcgc ctcgaccagg ccaaactgca 1740
ggcaaccacc tcgggccgct gggccaccga gctgccctgg atgggctgct ggcatgccaa 1800
ctcggggagc gccctgttct gaaggcacct cctcacctca gaaactggtg gtgctctcag 1860
ggcaaaatca tgttccccac ccccggggca gaacccctct tagaagcctc tgagtccctc 1920
tgcagaagac cgggcagcaa agcctccatc tggaagtctg tctgcctttg ttccttgaag 1980
aatgcagcat tgtctttgtc tgtccccacc acatggaggt gggggtggga tcaatcttag 2040
gaaaagcaaa aaagggtccc agatcccttg gccctttcct ccgaggactt ctatcctccc 2100
caggcctttg tttcttcggc taaaggtaca gttcctttca agaggtaaca gcactgggat 2160
ccaagcaggg ggatgaaaaa ctcagcagag aaattcgaga ccattttgca agactgtgcc 2220
cttctcctca ggacccccctg gctcagttct tgaaaaacgg tgtcatattt agtcagaggc 2280
cccaccccca ggaagcatgg atggggatga aggcacaggc gtctccaacc tcagaggccc 2340
tttgtggggt caggacacag agtgggaggg agactgatgc aggcctacca gtccctggct 2400
ttttgtctgg ggctggaata aagaggtgcc ttcagctggt gggccgagag gcaggaagca 2460
gccttaaaaa aaaaaaaaaa 2480

<210> 325
<211> 520
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-28 precursor

<400> 325

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

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

<210> 326
<211> 398
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> MMP-28 maduro

<400> 326

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

960

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

<210> 327
<211> 450
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Maduro MMP-1 con prodomain

<400> 327

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
```

961

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

962

<210> 328
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L95K

<400> 328

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 329
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L95I

<400> 329

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 330
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105E

<400> 330

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

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

<210> 331
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105R

<400> 331

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

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Arg Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 332
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105N

<400> 332

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

Lys Asn
450

<210> 333
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105T

<400> 333
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Thr Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 334
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105S

<400> 334

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

970

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

<210> 335
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105G

<400> 335

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 336
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105F

<400> 336

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 337
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105W

<400> 337

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

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 338
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105I

<400> 338

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 339
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105L

<400> 339

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

926

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

<210> 340
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D105A

<400> 340
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Ala Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 341
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R150D

<400> 341

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 342

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R150H

<400> 342

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

980

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 343
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R150I

<400> 343

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 344
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R150V

<400> 344

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

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

<210> 345
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R150P

<400> 345

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

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Pro Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 346
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D151G

<400> 346

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

Lys Asn
450

<210> 347
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F155L

<400> 347
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Leu Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 348
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F155A

<400> 348

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

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

<210> 349
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156H

<400> 349

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 350
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156K

<400> 350

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 351
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

990

<220>
<223> MMP-1 variante D156R

<400> 351

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

991

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 352
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156T

<400> 352

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 353
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156M

<400> 353

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

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

<210> 354
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156W

<400> 354

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

994

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Trp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 355
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156V

<400> 355

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 356

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156L

<400> 356

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

997

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 357
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D156A

<400> 357

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 358
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159C

<400> 358

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

999

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

<210> 359
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159T

<400> 359

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

1000

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Thr Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 360
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159M

<400> 360

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

Lys Asn
450

<210> 361
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159W

<400> 361
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Trp Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 362
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159I

<400> 362

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

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

<210> 363
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159V

<400> 363

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

1005

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 364
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G159L

<400> 364

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

1006

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

<210> 365
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A176F

<400> 365

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

Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
420 425 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
435 440 445
Lys Asn
450

<210> 366
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A176W

<400> 366
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Trp
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 367
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D179C

<400> 367

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

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

<210> 368
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D179N

<400> 368

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

1011

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asn Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 369
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D179V

<400> 369

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

1012

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

<210> 370

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180D

<400> 370

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 371
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180R

<400> 371

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 372
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180N

<400> 372

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

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

<210> 373
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180T

<400> 373

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

1012

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Thr Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 374
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180Y

<400> 374

JC18

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

J019

Lys Asn
450

<210> 375
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180S

<400> 375

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

J020

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 376
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180G

<400> 376

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

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

<210> 377
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E180F

<400> 377

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

1022

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Phe Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 378
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D181K

<400> 378

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 379
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

J024

<220>
<223> MMP-1 variante D181C

<400> 379

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

Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
420 425 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
435 440 445
Lys Asn
450

<210> 380
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D181T

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 381
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D181G

```
<400> 381
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Gly Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
```

1027

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

<210> 382
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D181L

<400> 382

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

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Leu Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 383
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E182Q

<400> 383

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 384

J030

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E182T

<400> 384

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 385
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E182G

<400> 385

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 386
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E182M

<400> 386

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

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

<210> 387
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185D

<400> 387

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

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Asp Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 388
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185E

<400> 388

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

Lys Asn
450

<210> 389
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185H

<400> 389
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp His Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

1037

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 390
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185R

<400> 390

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

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

<210> 391
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185Q

<400> 391

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Gln Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 392
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185Y

<400> 392

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

1040

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

<210> 393
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

1041

<220>
<223> MMP-1 variante T185G

<400> 393

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

1042

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 394
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185V

<400> 394

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 395
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T185A

<400> 395

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

1048

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

<210> 396
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187H

<400> 396

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

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn His Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 397
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187K

<400> 397

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 398

1047

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187R

<400> 398

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 399
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187C

<400> 399

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 400
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187G

<400> 400

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

1050

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

<210> 401
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187F

<400> 401

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

1051

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Phe Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 402
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187M

<400> 402

1052

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

1053

Lys Asn
450

<210> 403
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187W

<400> 403
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Trp Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

1054

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 404
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187I

<400> 404

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

1055

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

<210> 405
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N187A

<400> 405

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

1056

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Ala Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 406
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195D

<400> 406

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

1057

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

<210> 407
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195C

<400> 407

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

1059

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 408
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195Q

<400> 408

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

1060

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 409
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195G

<400> 409

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

1061

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

<210> 410
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195W

<400> 410

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

1062

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Trp Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 411
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195V

<400> 411

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

1063

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

<210> 412

1064

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195L

<400> 412

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 413
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R195A

<400> 413

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 414
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A198G

<400> 414

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

1067

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

<210> 415
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A198M

<400> 415

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

1068

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Met His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 416
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A198L

<400> 416

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

1020

Lys Asn
450

<210> 417
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G206S

<400> 417

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

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 418
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G206A

<400> 418

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

1072

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

<210> 419
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante S210V

<400> 419

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

1073

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Val Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 420
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante S210A

<400> 420

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 421
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

1075

<220>
<223> MMP-1 variante Y218S

<400> 421

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

1076

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 422
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223E

<400> 422

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 423
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223K

<400> 423

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

1078

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

<210> 424
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223C

```
<400> 424
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
```

1029

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Cys Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 425
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223S

<400> 425

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

1080

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

<210> 426

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223G

<400> 426

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

1082

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 427
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223M

<400> 427

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 428
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F223A

<400> 428

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

1084

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

<210> 429
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227D

<400> 429

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

1083

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Asp Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 430
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227E

<400> 430

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

1082

Lys Asn
450

<210> 431
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227H

<400> 431
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp His Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 432
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227R

<400> 432

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

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

<210> 433
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227C

<400> 433

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

1090

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Cys Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 434
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227Q

<400> 434

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 435
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

1092

<220>
<223> MMP-1 variante V227S

<400> 435

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

1093

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 436
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227G

<400> 436

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

1094

Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
355 360 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
370 375 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385 390 395 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
405 410 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
420 425 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
435 440 445
Lys Asn
450

<210> 437
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227W

<400> 437
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220

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

<210> 438
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V227L

<400> 438

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

1096

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Leu Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 439
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante Q228P

<400> 439

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 440

1098

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L229T

<400> 440

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 441
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L229I

<400> 441

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

1100

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 442
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L229A

<400> 442

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

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

<210> 443
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D233E

<400> 443

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

1102

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Glu Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 444
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I234E

<400> 444

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

Lys Asn
450

<210> 445
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I234Q

<400> 445

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

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 446
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I234T

<400> 446

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

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

<210> 447
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I234A

<400> 447

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

1102

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ala Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 448
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I240C

<400> 448

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1                5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 449
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I240S

<400> 449

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

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 450
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I240A

<400> 450

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 451
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100R

<400> 451

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

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

<210> 452
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100N

<400> 452

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

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 453
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100T

<400> 453

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 454

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100S

<400> 454

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

1116

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 455
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100F

<400> 455

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 456
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100I

<400> 456

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

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

<210> 457
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E100V

<400> 457

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

1119

```
Tyr Arg Ile Val Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 458
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T103Y

<400> 458

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

1121

Lys Asn
450

<210> 459
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante S153T

<400> 459
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Thr Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 460
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G171D

<400> 460

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

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

<210> 461
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G171E

<400> 461

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Glu Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 462
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G171P

<400> 462

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 463
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E190D

<400> 463

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

1122

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 464
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E190Y

<400> 464

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 465
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E190G

<400> 465

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

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

<210> 466
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante Y191V

<400> 466

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

1130

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Val Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 467
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N192D

<400> 467

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 468

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N192H

<400> 468

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

1133

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 469
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N192C

<400> 469

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 470
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N192S

<400> 470

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

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

<210> 471
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante H194P

```
<400> 471
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
```

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu Pro Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 472
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L207R

<400> 472

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

Lys Asn
450

<210> 473
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L207G

<400> 473
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
1 5 10 15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
20 25 30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
35 40 45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
50 55 60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65 70 75 80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
85 90 95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
100 105 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
115 120 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
130 135 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145 150 155 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
165 170 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
180 185 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Gly Ser
195 200 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
210 215 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225 230 235 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
245 250 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
260 265 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
275 280 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
290 295 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305 310 315 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
325 330 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
340 345 350

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 474
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L207I

<400> 474

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

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

<210> 475
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L207V

<400> 475

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

1141

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Val Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 476
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D212H

<400> 476

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

1142

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

<210> 477
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D212G

<400> 477

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

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 478
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A230V

<400> 478

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 479
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T84F

<400> 479

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

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

<210> 480
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante E85F

<400> 480

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

1142

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 481
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R98D

<400> 481

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 482

1149

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I99Q

<400> 482

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

1180

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 483
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P104M

<400> 483

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

1151

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 484
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P104A

```
<400> 484
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45.
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Ala Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
```

1152

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

<210> 485
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L106C

```
<400> 485
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1                5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
```

1153

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Cys Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 486
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante L106S

<400> 486

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

1155

Lys Asn
450

<210> 487
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A109H

<400> 487

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

1156

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 488
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D110A

```
<400> 488
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Ala Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
```

1152

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

<210> 489
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante V111R

<400> 489

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 490
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante D112S

<400> 490

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

1159

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

<210> 491
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

1160

<220>
<223> MMP-1 variante A118T

<400> 491

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

1161

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 492
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante S123V

<400> 492

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

1162

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 493
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N124D

<400> 493

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

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

<210> 494
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T126S

<400> 494

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

1164

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 495
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante G147P

<400> 495

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

1165

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

<210> 496

1166

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N152S

<400> 496

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

1162

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 497
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante N152A

<400> 497

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 498
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P158K

<400> 498

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

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

<210> 499
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P158N

<400> 499

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

1170

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Asn Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 500
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P158T

<400> 500

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

1172

Lys Asn
450

<210> 501
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P158G

<400> 501

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

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 502
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P170D

<400> 502

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

1774

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

<210> 503
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P170A

<400> 503

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Ala Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 504
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F178T

<400> 504

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

1176

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

<210> 505
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

1172

<220>
<223> MMP-1 variante F178L

<400> 505

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

1178

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 506
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R183S

<400> 506

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 507
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R183G

<400> 507

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

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

<210> 508
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante F188V

<400> 508

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

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Val Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 509
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R189N

<400> 509

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 510

1183

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R189Q

<400> 510

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

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 511
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante R189T

<400> 511

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 512
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A197C

```
<400> 512
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
```

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

<210> 513
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante S208R

<400> 513

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

1182

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Arg
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 514
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante S208L

<400> 514

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

Lys Asn
450

<210> 515
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T211L

<400> 515

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

1190

```
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 516
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I237N

<400> 516

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

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

<210> 517
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I237W

<400> 517

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

```
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Trp Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 518
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I237W

<400> 518

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60
```

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

<210> 519
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I251S

<400> 519

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

```
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 520
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante I251W

<400> 520

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

```
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 521
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante Q254S

<400> 521

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

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

<210> 522
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante T255H

<400> 522

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

```
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Ser Tyr Thr Phe Ser
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln His Pro
                245                 250                 255
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 523
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P256C

<400> 523

```
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30
```

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

<210> 524

<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P256C

<400> 524

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

J201

```
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 525
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante P256C

<400> 525

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

```
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 526
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MMP-1 variante A258P

<400> 526

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

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

<210> 527
<211> 450
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> Zimógeno MMP-1 de cerdo

<400> 527

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

1204

```
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Ser Arg Glu Asp Val Asp
            100                 105                 110
Arg Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Ser Pro Leu
        115                 120                 125
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Lys Asn Phe Arg Asp Tyr Asn
            180                 185                 190
Leu Tyr Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205
His Ser Thr Asp Ile Gly Ala Leu Met Tyr Pro Asn Tyr Ile Tyr Thr
    210                 215                 220
Gly Asp Val Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Pro Ser Glu Asn Pro Val Gln Pro Ser Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255
Gln Val Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Leu Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Leu Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Ser
        275                 280                 285
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300
Val Pro Asn Gly Leu Gln Ala Ala Tyr Glu Ile Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Arg Gly Gln Asp
                325                 330                 335
Val Leu Tyr Gly Tyr Pro Lys Asp Ile His Arg Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Ser Thr Val Lys Asn Ile Asp Ala Ala Val Phe Glu Glu Asp Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala His Glu Cys Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380
Lys Gln Ser Met Asp Thr Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala Glu Glu Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Gly Asn Lys Val Asp Ala Val Phe Gln Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415
Leu Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Gln Phe Asp Phe Lys Thr
            420                 425                 430
Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
        435                 440                 445
Lys Asn
    450
```

<210> 528
<211> 450
<212> PRT
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>
<223> Zimógeno MMP-1 de conejo

<400> 528

1205

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

1206

Lys Asn
450

<210> 529
<211> 451
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> MMP-1 de vaca

<400> 529

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

```
Pro Arg Thr Val Lys Ser Ile Asp Ala Ala Val Ser Glu Glu Asp Thr
        355                 360                 365
Gly Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Cys Trp Arg Tyr Asp Glu
    370                 375                 380
Tyr Lys Gln Ser Met Asp Ala Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala Glu Asp
385                 390                 395                 400
Phe Pro Gly Ile Gly Asn Lys Val Asp Ala Val Phe Gln Lys Gly Gly
                405                 410                 415
Phe Phe Tyr Phe Phe His Gly Arg Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Gln
            420                 425                 430
Thr Lys Arg Ile Leu Thr Leu Leu Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys
        435                 440                 445
Arg Lys Asn
    450
```

<210> 530
<211> 451
<212> PRT
<213> Equus caballus

<220>
<223> MMP-1 de caballo

<400> 530

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

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

<210> 531
<211> 447
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> MMP-1a de rata

<400> 531

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

```
Leu Ala His Thr Phe Pro Pro Gly Pro Arg Leu Gly Gly Asp Val His
                165                 170                 175
Tyr Asp Leu Asp Glu Thr Trp Thr Asp Asn Ser Asp Asn Phe Asn Leu
            180                 185                 190
Phe Tyr Val Thr Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Thr His
        195                 200                 205
Ser Arg Asp Val Gly Ala Leu Met Phe Pro Ser Tyr Thr Trp Tyr Thr
    210                 215                 220
Glu Asp Phe Val Leu Asn Gln Glu Asp Ile Asn Arg Ile Gln Ala Leu
225                 230                 235                 240
Tyr Gly Pro Ser Pro Asn Pro Ile Gln Pro Thr Gly Ala Thr Thr Pro
                245                 250                 255
His Pro Cys Asp Gly Asp Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Phe Arg
            260                 265                 270
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Gly Arg Phe Tyr Ile Arg Val Asn Lys
        275                 280                 285
Phe Met Pro Glu Ala Glu Leu Asn Leu Ile Gly Ile Ile Trp Pro Asn
    290                 295                 300
Leu Pro Gly Lys Leu Asp Ala Ala Tyr Glu Val Ser Met Ile Asp Gln
305                 310                 315                 320
Val Arg Tyr Phe Lys Gly Asn Lys Val Trp Val Val Arg Glu His Thr
                325                 330                 335
Val Leu Arg Gly Phe Pro Thr Asp Ile His Ser Phe Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350
Ser Ser Val Thr His Ile Asp Ala Ala Val Cys Glu Glu Glu Thr Gly
        355                 360                 365
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Asp Asn Met Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Asn
    370                 375                 380
Thr Gln Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Arg Leu Thr Ala Glu Asp Phe
385                 390                 395                 400
Pro Gly Ile Asp Asp Lys Val Asp Asp Val Phe Gln Lys Gly Glu Asn
                405                 410                 415
Phe Tyr Phe Phe His Gln Ser Val Gln Arg Arg Phe Ser Leu Arg Ile
            420                 425                 430
Arg Arg Val Asp Asp Ser Arg Asp Ser Ser Thr Trp Phe Asn Cys
        435                 440                 445
```

<210> 532
<211> 447
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> MMP-1a de ratón

<400> 532

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

1210

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

<210> 533
<211> 5369
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> vector pET303CTHis

<400> 533

```
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actatagggg aattgtgagc ggataacaat 60
tcccctctag taataatttt gtttaacttt aagaaggagg tctagaatgc atctcgagca 120
ccaccaccac caccactgag atccggctgc taacaaagcc cgaaaggaag ctgagttggc 180
tgctgccacc gctgagcaat aactagcata acccccttggg gcctctaaac gggtcttgag 240
gggttttttg ctgaaaggag gaactatatc cggattggcg aatgggacgc gccctgtagc 300
ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc 360
gccctagcgc ccgctccttt cgctttcttc ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt 420
ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac 480
ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag 540
acggtttttc gccctttgac gttggagtcc acgttcttta atagtggact cttgttccaa 600
actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc tattcttttg atttataagg gattttgccg 660
atttcggcct attggttaaa aaatgagctg atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac 720
aaaatattaa cgtttacaat ttcaggtggc acttttcggg gaaatgtgcg cggaacccct 780
atttgtttat ttttctaaat acattcaaat atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga 840
taaatgcttc aataatattg aaaaaggaag agtatgagta ttcaacattt ccgtgtcgcc 900
cttattccct tttttgcggc attttgcctt cctgtttttg ctcacccaga aacgctggtg 960
aaagtaaaag atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtgg gttacatcga actggatctc 1020
aacagcggta agatccttga gagttttcgc cccgaagaac gttttccaat gatgagcact 1080
tttaaagttc tgctatgtgg cgcggtatta tcccgtattg acgccgggca agagcaactc 1140
ggtcgccgca tacactattc tcagaatgac ttggttgagt actcaccagt cacagaaaag 1200
catcttacgg atggcatgac agtaagagaa ttatgcagtg ctgccataac catgagtgat 1260
aacactgcgg ccaacttact tctgacaacg atcggaggac cgaaggagct aaccgctttt 1320
ttgcacaaca tgggggatca tgtaactcgc cttgatcgtt gggaaccgga gctgaatgaa 1380
gccataccaa acgacgagcg tgacaccacg atgcctgcag caatggcaac aacgttgcgc 1440
aaactattaa ctggcgaact acttactcta gcttcccggc aacaattaat agactggatg 1500
gaggcggata aagttgcagg accacttctg cgctcggccc ttccggctgg ctggtttatt 1560
gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgcggta tcattgcagc actggggcca 1620
gatggtaagc cctcccgtat cgtagttatc tacacgacgg ggagtcaggc aactatggat 1680
gaacgaaata gacagatcgc tgagataggt gcctcactga ttaagcattg gtaactgtca 1740
gaccaagttt actcatatat actttagatt gatttaaaac ttcattttta atttaaaagg 1800
atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgaccaaaa tcccttaacg tgagttttcg 1860
ttccactgag cgtcagaccc cgtagaaaag atcaaaggat cttcttgaga tccttttttt 1920
ctgcgcgtaa tctgctgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc taccagcggt ggtttgtttg 1980
ccggatcaag agctaccaac tctttttccg aaggtaactg gcttcagcag agcgcagata 2040
ccaaatactg tccttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa ctctgtagca 2100
ccgcctacat acctcgctct gctaatcctg ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag 2160
tcgtgtctta ccgggttgga ctcaagacga tagttaccgg ataaggcgca gcggtcgggc 2220
tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga 2280
tacctacagc gtgagctatg agaaagcgcc acgcttcccg aagggagaaa ggcggacagg 2340
tatccggtaa gcggcagggt cggaacagga gagcgcacga gggagcttcc agggggaaac 2400
gcctggtatc tttatagtcc tgtcgggttt cgccacctct gacttgagcg tcgatttttg 2460
tgatgctcgt caggggggcg gagcctatgg aaaaacgcca gcaacgcggc ctttttacgg 2520
ttcctggcct tttgctggcc ttttgctcac atgttctttc ctgcgttatc ccctgattct 2580
gtggataacc gtattaccgc ctttgagtga gctgataccg ctcgccgcag ccgaacgacc 2640
gagcgcagcg agtcagtgag cgaggaagcg gaagagcgcc tgatgcggta ttttctcctt 2700
acgcatctgt gcggtatttc acaccgcaat ggtgcactct cagtacaatc tgctctgatg 2760
ccgcatagtt aagccagtat acactccgct atcgctacgt gactgggtca tggctgcgcc 2820
ccgacacccg ccaacacccg ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc cggcatccgc 2880
ttacagacaa gctgtgaccg tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc 2940
accgaaacgc gcgaggcagc tgcggtaaag ctcatcagcg tggtcgtgaa gcgattcaca 3000
gatgtctgcc tgttcatccg cgtccagctc gttgagtttc tccagaagcg ttaatgtctg 3060
gcttctgata aagcgggcca tgttaagggc ggttttttcc tgtttggtca ctgatgcctc 3120
cgtgtaaggg ggatttctgt tcatgggggt aatgataccg atgaaacgag agaggatgct 3180
cacgatacgg gttactgatg atgaacatgc ccggttactg gaacgttgtg agggtaaaca 3240
actggcggta tggatgcggc gggaccagag aaaaatcact cagggtcaat gccagcgctt 3300
cgttaataca gatgtaggtg ttccacaggg tagccagcag catcctgcga tgcagatccg 3360
gaacataatg gtgcagggcg ctgacttccg cgtttccaga ctttacgaaa cacggaaacc 3420
```

1212

gaagaccatt catgttgttg ctcaggtcgc agacgttttg cagcagcagt cgcttcacgt 3480
tcgctcgcgt atcggtgatt cattctgcta accagtaagg caaccccgcc agcctagccg 3540
ggtcctcaac gacaggagca cgatcatgcg cacccgtggg gccgccatgc cggcgataat 3600
ggcctgcttc tcgccgaaac gtttggtggc gggaccagtg acgaaggctt gagcgagggc 3660
gtgcaagatt ccgaataccg caagcgacag gccgatcatc gtcgcgctcc agcgaaagcg 3720
gtcctcgccg aaaatgaccc agagcgctgc cggcacctgt cctacgagtt gcatgataaa 3780
gaagacagtc ataagtgcgg cgacgatagt catgccccgc gcccaccgga aggagctgac 3840
tgggttgaag gctctcaagg gcatcggtcg agatcccggt gcctaatgag tgagctaact 3900
tacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct 3960
gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gccagggtgg 4020
ttttttcttt caccagtgag acgggcaaca gctgattgcc cttcaccgcc tggccctgag 4080
agagttgcag caagcggtcc acgctggttt gccccagcag gcgaaaatcc tgtttgatgg 4140
tggttaacgg cgggatataa catgagctgt cttcggtatc gtcgtatccc actaccgaga 4200
tatccgcacc aacgcgcagc ccggactcgg taatggcgcg cattgcgccc agcgccatct 4260
gatcgttggc aaccagcatc gcagtgggaa cgatgccctc attcagcatt tgcatggttt 4320
gttgaaaacc ggacatggca ctccagtcgc cttcccgttc cgctatcggc tgaatttgat 4380
tgcgagtgag atatttatgc cagccagcca gacgcagacg cgccgagaca gaacttaatg 4440
ggcccgctaa cagcgcgatt tgctggtgac ccaatgcgac cagatgctcc acgcccagtc 4500
gcgtaccgtc ttcatgggag aaaataatac tgttgatggg tgtctggtca gagacatcaa 4560
gaaataacgc cggaacatta gtgcaggcag cttccacagc aatggcatcc tggtcatcca 4620
gcggatagtt aatgatcagc ccactgacgc gttgcgcgag aagattgtgc accgccgctt 4680
tacaggcttc gacgccgctt cgttctacca tcgacaccac cacgctggca cccagttgat 4740
cggcgcgaga tttaatcgcc gcgacaattt gcgacggcgc gtgcagggcc agactggagg 4800
tggcaacgcc aatcagcaac gactgtttgc ccgccagttg ttgtgccacg cggttgggaa 4860
tgtaattcag ctccgccatc gccgcttcca ctttttcccg cgttttcgca gaaacgtggc 4920
tggcctggtt caccacgcgg gaaacggtct gataagagac accggcatac tctgcgacat 4980
cgtataacgt tactggtttc acattcacca ccctgaattg actctcttcc gggcgctatc 5040
atgccatacc gcgaaaggtt ttgcgccatt cgatggtgtc cgggatctcg acgctctccc 5100
ttatgcgact cctgcattag gaagcagccc agtagtaggt tgaggccgtt gagcaccgcc 5160
gccgcaagga atggtgcatg caaggagatg gcgcccaaca gtccccggc cacggggcct 5220
gccaccatac ccacgccgaa acaagcgctc atgagcccga agtggcgagc ccgatcttcc 5280
ccatcggtga tgtcggcgat ataggcgcca gcaaccgcac ctgtggcgcc ggtgatgccg 5340
gccacgatgc gtccggcgta gaggatcga 5369

<210> 534
<211> 1353
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> hMMP-1

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(1353)
<223> Pro MMP-1

<220>
<221> CDS
<222> (241)...(726)
<223> Dominio Catalítico

<220>
<221> CDS
<222> (727)...(774)

<223> Región Ligadora

<400> 534

```
ttc cca gcg act cta gaa aca caa gag caa gat gtg gac tta gtc cag   48
Phe Pro Ala Thr Leu Glu Thr Gln Glu Gln Asp Val Asp Leu Val Gln
 1               5                  10                  15

aaa tac ctg gaa aaa tac tac aac ctg aag aat gat ggg agg caa gtt   96
Lys Tyr Leu Glu Lys Tyr Tyr Asn Leu Lys Asn Asp Gly Arg Gln Val
            20                  25                  30

gaa aag cgg aga aat agt ggc cca gtg gtt gaa aaa ttg aag caa atg   144
Glu Lys Arg Arg Asn Ser Gly Pro Val Val Glu Lys Leu Lys Gln Met
        35                  40                  45

cag gaa ttc ttt ggg ctg aaa gtg act ggg aaa cca gat gct gaa acc   192
Gln Glu Phe Phe Gly Leu Lys Val Thr Gly Lys Pro Asp Ala Glu Thr
    50                  55                  60

ctg aag gtg atg aag cag ccc aga tgt gga gtg cct gat gtg gct cag   240
Leu Lys Val Met Lys Gln Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Val Ala Gln
65                  70                  75                  80

ttt gtc ctc act gag ggg aac cct cgc tgg gag caa aca cat ctg acc   288
Phe Val Leu Thr Glu Gly Asn Pro Arg Trp Glu Gln Thr His Leu Thr
                85                  90                  95

tac agg att gaa aat tac acg cca gat ttg cca aga gca gat gtg gac   336
Tyr Arg Ile Glu Asn Tyr Thr Pro Asp Leu Pro Arg Ala Asp Val Asp
            100                 105                 110

cat gcc att gag aaa gcc ttc caa ctc tgg agt aat gtc aca cct ctg   384
His Ala Ile Glu Lys Ala Phe Gln Leu Trp Ser Asn Val Thr Pro Leu
        115                 120                 125

aca ttc acc aag gtc tct gag ggt caa gca gac atc atg ata tct ttt   432
Thr Phe Thr Lys Val Ser Glu Gly Gln Ala Asp Ile Met Ile Ser Phe
    130                 135                 140

gtc agg gga gat cat cgg gac aac tct cct ttt gat gga cct gga gga   480
Val Arg Gly Asp His Arg Asp Asn Ser Pro Phe Asp Gly Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160

aat ctt gct cat gct ttt caa cca ggc cca ggt att gga ggg gat gct   528
Asn Leu Ala His Ala Phe Gln Pro Gly Pro Gly Ile Gly Gly Asp Ala
                165                 170                 175

cat ttt gat gaa gat gaa agg tgg acc aac aat ttc aga gag tac aac   576
His Phe Asp Glu Asp Glu Arg Trp Thr Asn Asn Phe Arg Glu Tyr Asn
            180                 185                 190

tta cat cgt gtt gcg gct cat gaa ctc ggc cat tct ctt gga ctc tcc   624
Leu His Arg Val Ala Ala His Glu Leu Gly His Ser Leu Gly Leu Ser
        195                 200                 205

cat tct act gat atc ggg gct ttg atg tac cct agc tac acc ttc agt   672
```

1214

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

ggt gat gtt cag cta gct cag gat gac att gat ggc atc caa gcc ata   720
Gly Asp Val Gln Leu Ala Gln Asp Asp Ile Asp Gly Ile Gln Ala Ile
225                 230                 235                 240

tat gga cgt tcc caa aat cct gtc cag ccc atc ggc cca caa acc cca   768
Tyr Gly Arg Ser Gln Asn Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln Thr Pro
                245                 250                 255

aaa gcg tgt gac agt aag cta acc ttt gat gct ata act acg att cgg   816
Lys Ala Cys Asp Ser Lys Leu Thr Phe Asp Ala Ile Thr Thr Ile Arg
            260                 265                 270

gga gaa gtg atg ttc ttt aaa gac aga ttc tac atg cgc aca aat ccc   864
Gly Glu Val Met Phe Phe Lys Asp Arg Phe Tyr Met Arg Thr Asn Pro
        275                 280                 285

ttc tac ccg gaa gtt gag ctc aat ttc att tct gtt ttc tgg cca caa   912
Phe Tyr Pro Glu Val Glu Leu Asn Phe Ile Ser Val Phe Trp Pro Gln
    290                 295                 300

ctg cca aat ggg ctt gaa gct gct tac gaa ttt gcc gac aga gat gaa   960
Leu Pro Asn Gly Leu Glu Ala Ala Tyr Glu Phe Ala Asp Arg Asp Glu
305                 310                 315                 320

gtc cgg ttt ttc aaa ggg aat aag tac tgg gct gtt cag gga cag aat  1008
Val Arg Phe Phe Lys Gly Asn Lys Tyr Trp Ala Val Gln Gly Gln Asn
                325                 330                 335

gtg cta cac gga tac ccc aag gac atc tac agc tcc ttt ggc ttc cct  1056
Val Leu His Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Tyr Ser Ser Phe Gly Phe Pro
            340                 345                 350

aga act gtg aag cat atc gat gct gct ctt tct gag gaa aac act gga  1104
Arg Thr Val Lys His Ile Asp Ala Ala Leu Ser Glu Glu Asn Thr Gly
        355                 360                 365

aaa acc tac ttc ttt gtt gct aac aaa tac tgg agg tat gat gaa tat  1152
Lys Thr Tyr Phe Phe Val Ala Asn Lys Tyr Trp Arg Tyr Asp Glu Tyr
    370                 375                 380

aaa cga tct atg gat cca ggt tat ccc aaa atg ata gca cat gac ttt  1200
Lys Arg Ser Met Asp Pro Gly Tyr Pro Lys Met Ile Ala His Asp Phe
385                 390                 395                 400

cct gga att ggc cac aaa gtt gat gca gtt ttc atg aaa gat gga ttt  1248
Pro Gly Ile Gly His Lys Val Asp Ala Val Phe Met Lys Asp Gly Phe
                405                 410                 415

ttc tat ttc ttt cat gga aca aga caa tac aaa ttt gat cct aaa acg  1296
Phe Tyr Phe Phe His Gly Thr Arg Gln Tyr Lys Phe Asp Pro Lys Thr
            420                 425                 430

aag aga att ttg act ctc cag aaa gct aat agc tgg ttc aac tgc agg  1344
```

J215

Lys Arg Ile Leu Thr Leu Gln Lys Ala Asn Ser Trp Phe Asn Cys Arg
435 440 445

aaa aat tga 1353
Lys Asn
450

<210> 535
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> sustrato fluorescente

<220>
<221> MOD_RES
<222> 1
<223> 7-Metoxicoumarin-4-il)acetil

<220>
<221> MOD_RES
<222> 7
<223> 2,4,-Dinitrofenil)-L-2,3-diaminopropionil

<400> 535
Xaa Lys Pro Leu Gly Leu Xaa Ala Arg
1 5

<210> 536
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> sustrato fluorescente

<220>
<221> MOD_RES
<222> 1
<223> Xaa en la posición 1 es N-carbobenciloxi

<220>
<221> MOD_RES
<222> 6
<223> Xaa en la posición 6 es 7-Amino-4-Metil Coumarina

<400> 536
Xaa His Arg Tyr Arg Xaa
1 5

<210> 537
<211> 450
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>
<223> variantes alélicas de MMP-1

<220>
<221> VARIANTE
<222> 4, 10, 254
<223> Xaa = Pro

<220>
<221> VARIANTE
<222> 30
<223> Xaa = Met o Ser

<220>
<221> VARIANTE
<222> 96
<223> Xaa = Arg

<220>
<221> VARIANTE
<222> 114, 172
<223> Xaa = Val

<220>
<221> VARIANTE
<222> 166
<223> Xaa = Cys

<220>
<221> VARIANTE
<222> 181,
<223> Xaa = His

<220>
<221> VARIANTE
<222> 189, 298, 387
<223> Xaa = Thr

<220>
<221> VARIANTE
<222> 200, 286, 432
<223> Xaa = Ala

<220>
<221> VARIANTE
<222> 214
<223> Xaa = Glu

<220>

<221> VARIANTE
<222> 232
<223> Xaa = Asn

<220>
<221> VARIANTE
<222> 233, 314
<223> Xaa = Gly

<220>
<221> VARIANTE
<222> 315, 391
<223> Xaa = Ser

<220>
<221> VARIANTE
<222> 374
<223> Xaa = Met

<220>
<221> VARIANTE
<222> 386
<223> Xaa = Gln

<400> 537

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

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

PCT/US2009/001486

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

PCT/US 09/01486
International Application No.

06 MAR 2009 (06.03.09)
International Filing Date

PCT INTERNATIONAL APPLICATION RO/US
Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference *(if desired) (12 characters maximum)*: 0119374-093 (3056PC)

Box No. I TITLE OF INVENTION

IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF ACTIVATABLE MATRIX-DEGRADING ENZYMES

Box No. II APPLICANT ☐ This person is also inventor

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

HALOZYME, INC.
11388 Sorrento Valley Road
San Diego, Califonria 92121
United States of America

Telephone No.: (858) 794-8889
Facsimile No.:
Teleprinter No.:
Applicant's registration No. with the Office:

State *(that is, country)* of nationality: US

State *(that is, country)* of residence: US

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

KELLER, Gilbert A.
2523 Carmelita Avenue
Belmont, California 94002
United States of America

This person is:
☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below)*

Applicant's registration No. with the Office:

State *(that is, country)* of nationality: US

State *(that is, country)* of residence: US

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as: ☒ agent ☐ common representative

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

SEIDMAN, Stephanie L.
K&L GATES LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
United States of America

Telephone No.: (858) 509-7400
Facsimile No.: (858) 509-7460
Teleprinter No.:
Applicant's registration No. with the Office: 33,779

☐ **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

J219 .

Sheet No. 2

Continuation of Box No. III **FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)**

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included the request.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

FROST, Gregory I.
13662 Mercado Drive
Del Mar, California 92014
United States of America

This person is:
☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality: US

State *(that is, country)* of residence: US

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

This person is:
☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:

State *(that is, country)* of residence:

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

This person is:
☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:

State *(that is, country)* of residence:

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

This person is:
☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:

State *(that is, country)* of residence:

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Supplemental Box *If the Supplemental Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

1. *If, in any of the Boxes, except Boxes Nos. VIII(i) to (v) for which a special continuation box is provided, the space is insufficient to furnish all the information: in such case, write "Continuation of Box No ..." (indicate the number of the Box) and furnish the information in the same manner as required according to the captions of the Box in which the space was insufficient, in particular:*

(i) ***if more than two persons are to be indicated as applicants and/or inventors*** *and no "continuation sheet" is available: in such case, write "Continuation of Box No. III" and indicate for each additional person the same type of information as required in Box No. III. The country of the address indicated in thisBox is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below;*

(ii) *if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the indication* ***"the States indicated in the Supplemental Box"*** *is checked: in such case, write "Continuation of Box No. II or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the applicant(s) involved and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is applicant;*

(iii) *if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III,* ***the inventor or the inventor/applicant is not inventor for the purposes of all designated States or for the purposes of the United States of America:*** *in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the inventor(s) and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is inventor;*

(iv) *if, in addition to the agent(s) indicated in Box No. IV, there are* ***further agents****: in such case, write "Continuation of Box No. IV" and indicate for each further agent the same type of information as required in Box No. IV;*

(v) *if, in Box No. VI, there are* ***more than three earlier applications whose priority is claimed:*** *in such case, write "Continuation of Box No. VI" and indicate for each additional earlier application the same type of information as required in Box No. VI.*

2. *If the applicant intends to make an indication of the wish that the international application be treated, in certain designated States, as an application for addition, certificate of addition, inventor's certificate of addition or utility certificate of addition: in such case, write the name or two-letter code of each designated State concerned and the indication* ***"patent of addition" or "certificate of addition," "inventor's certificate of addition" or "utility certificate of addition,"*** *the number of the parent application or parent patent or other parent grant and the date of grant of the parent patent or other patent grant or the date of filing of the parent application (Rules 4.11(a)(iii) and 49bis.1(a) or (b)).*

3. *If the applicant intends to make an indication of the wish that the international application be treated, in the United States of America, as a continuation or continuation-in-part of an earlier application: in such a case, write "United States of America" or "US" and the indication "continuation" or "continuation-in-part" and the number and the filing date of the parent application (Rules 4.11(a)(iv) and 49bis.1(d)).*

Continuation of Box No. IV

Attorney Names	U.S. Registration Nos.
MISKIEL, Frank J.	53,332
POTTER, Karen G.	57,254

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request **constitutes under Rule 4.9(a), the designation** of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.

However,

☐ DE Germany **is not designated** for any kind of national protection

☐ JP Japan **is not designated** for any kind of national protection

☐ KR Republic of Korea **is not designated** for any kind of national protection

☐ RU Russian Federation **is not designated** for any kind of national protection

(The check-boxes above may be used to exclude (irrevocably) the designations concerned if, at the time of filing or subsequently under Rule 26bis.1, the international application contains in Box No. VI a priority claim to an earlier national application filed in the particular State concerned, in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of this earlier national application.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application *(day/month/year)*	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO:	national application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 06 March 2008 (06.03.08)	61/068,667	US		
item (2) 14 May 2008 (14.05.08)	61/127,725	US		
item (3)				

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Transmit certified copy: the receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) *(only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office)* identified above as:

☒ all items ☒ item (1) ☒ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box

Restore the right of priority: the receiving Office is requested to restore the right of priority for the earlier application(s) identified above or in the Supplemental Box as item(s) (_____). *(See also the Notes to Box No. VI: further information must be provided to support a request to restore the right of priority.)*:

Incorporation by reference: where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for t he purposes of Rule 20.6

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) *(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):*

ISA/ EPO.....

Request to use result of earlier search; reference to that search *(if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):*

Date *(day/month/year)* Number Country *(or regional Office)*

Box No. VIII DECLARATIONS

The following **declarations** are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) *(mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration):*			Number of declarations
☐ Box No. VIII (i)	Declarations as to the identity of the inventor	:	
☒ Box No. VIII (ii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	:	1
☒ Box No. VIII (iii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	:	1
☐ Box No. VIII (iv)	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	:	
☐ Box No. VIII (v)	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	:	

Box No. IX CHECK LIST: LANGUAGE OF FILING

This international application **contains:**
(a) **in paper form**, the following number of sheets:

request (including declaration and supplemental sheets)	:	7
description (excluding sequence listings and/or tables related thereto)	:	285
claims	:	15
abstract	:	1
drawings	:	11
Sub-total number of sheets	:	319
sequence listings	:	0
tables related thereto *(for both, actual member of sheets if filed on paper, whether or not also filed in electronic form; see (c) below)*	:	
Total number of sheets		319

(b) ☐ **only in electronic form** (Section 801(a)(i))
(i) ☐ sequence listings
(ii) ☐ tables related thereto

(c) ☒ **also in eletronic form** (Section 801(a)(ii))
(i) ☒ sequence listings
(ii) ☐ tables related thereto

Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the:
☒ Sequence listings: .....
☐ tables related thereto: .....

(additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)

This international application is **accompanied by** the following item(s) *(mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item):*

		Number of items
1. ☒	fee calculation sheet	:1
2. ☒	original separate power of attorney	2
3. ☐	original general power of attorney	:
4. ☐	copy of general power of attorney; reference number, if any:	:
5. ☐	statement explaining lack of signature	:
6. ☐	priority document(s) identified in Box No. VI as item(s)	:
7. ☐	translation of international application into *(language)*:	:
8. ☐	separate indications concerning deposited microorganism or other biological material	:
9. ☒	sequence listings in electronic form *(indicate type and number of carriers)*	:
(i) ☒	copy submitted for the purposes of international search under Rule 13*ter* only (and not as part of the international application):	:1
(ii) ☒	*(only where check box (b)(i)or (c) (i) is marked in left column)* additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13*ter*	:3
(iii) ☒	together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listings mentioned in left column	:1
10. ☐	tables in electronic form related to sequence listings *(indicate type and number of carriers)*	:
(i) ☐	copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-*quater*) only (and not as part of the international application)	:
(ii) ☐	*(only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column)* additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802 (b-*quater*)	:
(iii) ☐	together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column	:
☒	other *(specify) Statement in Compliance with PCT Rule 13.ter; Compact Disc Transmittal Letter; Express Mail Letter; Return Postcard*	:2

Figure of the drawings which should accompany the abstract: N/A

Language of filing of the international application: ENGLISH

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE
Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request)

Stephanie L. Seidman, Esq., Reg. No. 33,779 06-03-2009
Attorney for Applicant(s)

For receiving Office only

1. Date of actual receipt of the purported international application:	IAP19 Rec'd PCT/PTO 06 MAR 2009	2. Drawings: ☐ received: ☐ not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA / EP	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau

1026553/D/1

1223

Box No. VIII (ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII (i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to this international application,

HALOZYME, INC. is entitled to apply for and be granted a patent

by virtue of the following:

(1) Assignment from

Halozyme Therapeutics, Inc., 11388 Sorrento Valley Road, San Diego, California 92121, USA

to Halozyme, Inc. dated ** March 2009

&

(2) Assignment from

KELLER, Gilbert A., 2523 Carmelita Avenue, Belmont, California 94002, United States of America; and FROST, Gregory I., 13662 Mercado Drive, Del Mar, California 92014, United States of America

to Halozyme Therapeutics, Inc. dated **, respectively

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (ii)".

1224

Box No. VIII (iii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO CLAIM PRIORITY

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 213; see Notes to Boxes Nos. VII, VIII (i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (iii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51*bis*.1(a)(iii)):

in relation to this international application,

HALOZYME, INC. is entitled to claim priority of earlier application
(1) No. 61/068,667 filed in US on 06 March 2008 (06.03.08)

assignment from
Halozyme Therapeutics, Inc., 11388 Sorrento Valley Road, San Diego, California 92121, USA
to Halozyme, Inc. dated 06 October 2008

&

assignment from
KELLER, Gilbert A., 2523 Carmelita Avenue, Belmont, California 94002, United States of America; and
FROST, Gregory I., 13662 Mercado Drive, Del Mar, California 92014, United States of America
to Halozyme Therapeutics, Inc. dated 12 August 2008

&
(2) No. 61/127,725 filed in US on 14 May 2008 (14.05.08)

assignment from
Halozyme Therapeutics, Inc., 11388 Sorrento Valley Road, San Diego, California 92121, USA
to Halozyme, Inc. dated 06 October 2008

&

assignment from
KELLER, Gilbert A., 2523 Carmelita Avenue, Belmont, California 94002, United States of America; and
FROST, Gregory I., 13662 Mercado Drive, Del Mar, California 92014, United States of America
to Halozyme Therapeutics, Inc. dated 12 August 2008

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (iii)".

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
11 September 2009 (11.09.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/111083 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 38/48 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2009/001486

(22) International Filing Date:
6 March 2009 (06.03.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/068,667 6 March 2008 (06.03.2008) US
61/127,725 14 May 2008 (14.05.2008) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **HALOZYME, INC.** [US/US]; 11388 Sorrento Valley Road, San Diego, CA 92121 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **KELLER, Gilbert, A.** [US/US]; 2523 Carmelita Avenue, Belmont, CA 94002 (US). **FROST, Gregory, I.** [US/US]; 13662 Mercado Drive, Del Mar, CA 92014 (US).

(74) Agents: **SEIDMAN, Stephanie L.** et al.; K & L Gates LLP, 3580 Carmel Mountain Road, Suite 200, San Diego, California 92130 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

— *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))*

Published:

— *without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

(54) **Title**: IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF ACTIV AT ABLE MATRIX- DEGRADING ENZYMES

(57) **Abstract**: Methods and combinations are provided for controlling the duration of action, *in vivo*, of matrix-degrading enzymes. The methods and combinations permit temporary in- vivo activation of matrix-degrading enzymes upon administration to the extra cellular matrix (or "ECM"). Matrix-degrading enzymes having a controlled duration of action can be used to treat ECM-mediated diseases or disorders characterized by increased deposition or accumulation of one or more ECM components.

WO 2009/111083 A2

1226

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
11 September 2009 (11.09.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/111083 A3

(51) International Patent Classification:
A61K 38/48 (2006.01) *A61P 17/02* (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) *A61P 19/02* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2009/001486

(22) International Filing Date:
6 March 2009 (06.03.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/068,667 6 March 2008 (06.03.2008) US
61/127,725 14 May 2008 (14.05.2008) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **HALOZYME, INC.** [US/US]; 11388 Sorrento Valley Road, San Diego, CA 92121 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **KELLER, Gilbert, A.** [US/US]; 2523 Carmelita Avenue, Belmont, CA 94002 (US). **FROST, Gregory, I.** [US/US]; 13662 Mercado Drive, Del Mar, CA 92014 (US).

(74) Agents: **SEIDMAN, Stephanie L.** et al.; K & L Gates LLP, 3580 Carmel Mountain Road, Suite 200, San Diego, California 92130 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

— *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))*

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

(88) Date of publication of the international search report:
25 March 2010

(54) Title: IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF ACTIV AT ABLE MATRIX- DEGRADING ENZYMES

(57) Abstract: Methods and combinations are provided for controlling the duration of action, *in vivo*, of matrix-degrading enzymes. The methods and combinations permit temporary in- vivo activation of matrix-degrading enzymes upon administration to the extra cellular matrix (or "ECM"). Matrix-degrading enzymes having a controlled duration of action can be used to treat ECM-mediated diseases or disorders characterized by increased deposition or accumulation of one or more ECM components.

WO 2009/111083 A3

J222

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/001486

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K38/48 A61P1/00 A61P17/02 A61P19/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 6 086 872 A (WEGMAN THOMAS L [US]) 11 July 2000 (2000-07-11) cited in the application claims	1-146
Y	WO 00/66139 A2 (ISTA PHARMACEUTICALS INC [US]; KARAGEOZIAN HAMPAR [US]) 9 November 2000 (2000-11-09) claims	1-146
Y	US 2003/026794 A1 (FEIN HOWARD [US]) 6 February 2003 (2003-02-06) claims; examples	1-146
Y	WO 02/080962 A1 (SANTANA CRISTIANO ALBERTO RIBE [BR]) 17 October 2002 (2002-10-17) claims	1-146

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 January 2010	04/02/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Langer, Astrid

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

1228

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/001486

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 96/13523 A1 (KHEPRI PHARMACEUTICALS INC [US]) 9 May 1996 (1996-05-09) page 23, lines 19-23; claims; examples	1-146
Y	WO 2004/058147 A2 (DELIATROPH PHARMACEUTICALS INC [US]; FROST GREGORY I [US]; KUNDU ANIRB) 15 July 2004 (2004-07-15) paragraphs [0004], [0 11], [0 12]	1-146
Y	US 2002/009774 A1 (KAPELLER-LIBERMANN ROSANA [US]) 24 January 2002 (2002-01-24) paragraphs [0003] - [0005], [0 27] - [0034], [144], [153], [155]	1-146
Y	WO 2006/091871 A1 (HALOZYME THERAPEUTICS INC [US]; BOOKBINDER LOUIS H [US]; KUNDU ANIRBAN) 31 August 2006 (2006-08-31) claims; example 13	1-146
Y	RUNGER THOMAS M ET AL: "Role of cathepsin K in the turnover of the dermal extracellular matrix during scar formation" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 127, no. 2, February 2007 (2007-02), pages 293-297, XP002564983 ISSN: 0022-202X Abstract; page 296, column 2, paragraph 3	1-146
Y	DU SHEN ET AL: "Calcium influx and activation of calpain I mediate acute reactive gliosis in injured spinal cord" EXPERIMENTAL NEUROLOGY, vol. 157, no. 1, May 1999 (1999-05), pages 96-105, XP009128510 ISSN: 0014-4886 abstract	1-146
Y	GODIKSEN HELENE ET AL: "New method to discriminate between cathepsin B and cathepsin L in crude extracts from fish muscle based on a simple acidification procedure" INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY, vol. 42, no. 1, January 2007 (2007-01), pages 102-106, XP009128437 ISSN: 0950-5423 abstract	1-146
E	WO 2009/128917 A2 (HALOZYME INC [US]; FROST GREGORY I [US]; JIANG PING [US]; THOMPSON CUR) 22 October 2009 (2009-10-22) page 111, lines 4-11; claims page 158, lines 10-29	1-146

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/001486

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6086872 A	11-07-2000	AU 733208 B2	10-05-2001
		AU 5966198 A	01-10-1998
		DE 19813748 A1	01-10-1998
		DK 40398 A	28-09-1998
		FR 2772273 A1	18-06-1999
		GB 2323530 A	30-09-1998
		NO 981388 A	28-09-1998
		SE 522723 C2	02-03-2004
		SE 9800806 A	28-09-1998
		US RE39941 E1	18-12-2007
WO 0066139 A2	09-11-2000	AT 254471 T	15-12-2003
		AU 4672300 A	17-11-2000
		CA 2370504 A1	09-11-2000
		DE 60006660 D1	24-12-2003
		DE 60006660 T2	30-09-2004
		DK 1173198 T3	13-04-2004
		EP 1173198 A2	23-01-2002
		ES 2209877 T3	01-07-2004
		JP 2002543143 T	17-12-2002
		MX PA01011025 A	07-11-2002
		PT 1173198 E	30-04-2004
US 2003026794 A1	06-02-2003	NONE	
WO 02080962 A1	17-10-2002	CA 2443018 A1	17-10-2002
		EP 1539227 A2	15-06-2005
		MX PA03009100 A	17-02-2004
		US 2004146494 A1	29-07-2004
WO 9613523 A1	09-05-1996	AT 317441 T	15-02-2006
		AU 711810 B2	21-10-1999
		AU 3968895 A	23-05-1996
		CA 2203765 A1	09-05-1996
		CN 1170415 A	14-01-1998
		DE 69534778 T2	17-08-2006
		EP 0783527 A1	16-07-1997
		ES 2256849 T3	16-07-2006
		FI 971777 A	25-04-1997
		HU 77049 A2	02-03-1998
		JP 3670666 B2	13-07-2005
		JP 10512740 T	08-12-1998
		NO 971875 A	12-06-1997
		NZ 296003 A	28-10-1999
		US 2003175937 A1	18-09-2003
WO 2004058147 A2	15-07-2004	AU 2003297199 A1	22-07-2004
		CA 2508948 A1	15-07-2004
		EP 1636248 A2	22-03-2006
		US 2010015698 A1	21-01-2010
US 2002009774 A1	24-01-2002	NONE	
WO 2006091871 A1	31-08-2006	AU 2006216545 A1	31-08-2006
		BR PI0608314 A2	29-12-2009
		CA 2598823 A1	31-08-2006
		CN 101163717 A	16-04-2008

1230

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/001486

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		EA 200701791 A1	28-02-2008
		EP 1858926 A1	28-11-2007
		JP 2008531017 T	14-08-2008
		KR 20080004473 A	09-01-2008
WO 2009128917 A2	22-10-2009	US 2010003238 A1	07-01-2010

Attorney's Docket No.: 0119374-00093 / 3056PC

PATENT COOPERATION TREATY
BEFORE THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
EUROPEAN PATENT OFFICE

In re International Application of:
HALOZYME, INC.
International Application No.:
PCT/US2009/001486
Filed : 6 March 2009
Title : IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF ACTIVATABLE MATRIX-DEGRADING ENZYMES

Priority Data : U.S. Provisional 61/068,667
Filed: 6 March 2008
U.S. Provisional 61/127,725
Filed: 14 May 2008

VIA FACSIMILE TRANSMISSION (011 31-70-340-3016) AND INTERNATIONAL FEDERAL EXPRESS

EPO - DG 1
18. 05. 2009
(59)

European Patent Office
P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
NETHERLANDS
Attention: ISA/EP

REQUEST FOR RECTIFICATION OF OBVIOUS ERRORS

Sir:

This request is being sent via facsimile and International Federal Express (package containing the original of this Request, the replacement pages and the hand-annotated pages) on 14 May 2009 (14.05.09). Pursuant to PCT Rule 91.1, Applicant respectively submits this Request for Rectification of Obvious Errors to correct obvious typographical, spelling and grammatical errors in the specification and claims as originally filed in the above-captioned International application.

CERTIFICATE OF FACSIMILE & MAILING

I hereby certify that this paper and the attached papers are being transmitted by facsimile to the European Patent Office EPO at 31-70-340-3016, AND original by Federal Express, on the date shown below.

Date: 14 May 2009 Christopher Ochs

1232

(59)

In the Specification:

Page 1:

Rectification of the obvious typographical and spelling errors on Page 1 of the above-captioned International Application is requested.

In lines 11-12, the phrase "This application also is related to U.S. Patent Application Serial No. (Attorney Dkt. No. 119374-00082/ 3056)..." has been rectified to read as –This application also is related to U.S. Patent Application Serial No. 12/381,063– to incorporate the now-available application serial number.

In line 16, the phrase "...U.S. Provisional Patent Application Serial No. (Attorney Dkt. No. 119374-00103/p3077)..." has been rectified to read as –U.S. Provisional Patent Application Serial No. 61/209,366– to incorporate the now-available application serial number.

In line 16, the word "Temperaure" has been rectified to read as –Temperature– to correct the obvious spelling error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 1, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 1.

Page 5:

Rectification of the obvious spelling error on Page 5 of the above-captioned International Application is requested.

In line 28, the word "lactae" has been rectified to read as –lactate– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 5, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 5.

Page 6:

Rectification of the obvious typographical error on Page 6 of the above-captioned International Application is requested.

In line 26, the phrase "...65%, 70%,,75%,..." has been rectified to read as –65%, 70%, 75%,– to correct the obvious typographical error.

1233

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 6, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 6.

Page 8:

Rectification of the obvious spelling error on Page 8 of the above-captioned International Application is requested.

In line 19, the word "maleaste" has been rectified to read as –maleate– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 8, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 8.

Page 9:

Rectification of the obvious typographical errors on Page 129 of the above-captioned International Application is requested.

In line 11, the phrase "...glycine-hydrochloric acid,citric phosphate..." have been rectified to read as –glycine-hydrochloric acid, citric phosphate– to correct the obvious typographical error.

In the line 21, the phrase "...10 µg to or 100 mg..." has been rectified to read as –10 µg to 100 mg – to render the sentence grammatically correct.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 9, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 9.

Page 16:

Rectification of the obvious spelling errors on Page 16 of the above-captioned International Application is requested.

In line 9, the word "exhibts" has been rectified to read as –exhibits– to correct the obvious spelling error.

In line 23, the word "sensivite" has been rectified to read as –sensitive– to correct the obvious spelling error.

1234

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 16, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 16.

Page 17:

Rectification of the obvious typographical error on Page 17 of the above-captioned International Application is requested.

In line 31, the phrase "...refers to to a portion..." has been rectified to read as –refers to a portion– to render the sentence grammatically correct.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 17, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 17.

Page 18:

Rectification of the obvious spelling errors on Page 18 of the above-captioned International Application is requested.

In line 20, the word "catalyis" has been rectified to read as –catalysis– to correct the obvious spelling error.

In line 29, the word "interations" has been rectified to read as –interactions– to correct the obvious spelling error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 18, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 18.

Page 19:

Rectification of the obvious spelling error on Page 19 of the above-captioned International Application is requested.

In line 4, the word "polyeptide" has been rectified to read as –polypeptide– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 19, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 19.

Page 23:

1235

Rectification of the obvious typographical error on Page 23 of the above-captioned International Application is requested.

In lines 23 and 24, the phrase "...the *Proteus vulgaris* chondroitin-sulfate-ABC endolyase is set forth in SEQ ID NO:305;..." has been rectified to read as –the *Proteus vulgaris* chondroitin-sulfate-ABC endolyase is set forth in SEQ ID NO:306;– to correct for an obvious typographical error in which the sequence identifier of *Proteus vulgaris* chondroitin-sulfate-ABC endolyase was inadvertently set forth as SEQ ID NO:305 rather than SEQ ID NO:306. Basis for the amendment can be found, for example, in the sequence listing for SEQ ID NO:305 and SEQ ID NO:306. The sequence set forth in SEQ ID NO:306 is the amino acid sequence of chondroitin-sulfate-ABC endolyase from *Proteus vulgaris*. The sequence set forth in SEQ ID NO:305 is the amino acid sequence of hyaluronan lyase from *Synechococcus* (strain RCC307). Thus, the amendment corrects an obvious error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 23, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 23.

Page 24:

Rectification of the obvious typographical and spelling errors on Page 24 of the above-captioned International Application is requested.

In line 16, the phrase "...55%, 65%,..." has been rectified to read as –55%, 60%, 65%,– to correct the obvious typographical error in the sequence of numbers from 40% to 99%, where 60% is inadvertently omitted.

In line 22, the word "farnysylation" has been rectified to read as –farnesylation– to correct the obvious spelling error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 24, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 24.

Page 30:

Rectification of the obvious typographical error on Page 30 of the above-captioned International Application is requested.

1236

In line 17, the phrase "Waterman ((1981)..." has been rectified to read as –Waterman (1981)– to correct the obvious typographical error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 30, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 30.

Page 41:

Rectification of the obvious spelling error on Page 41 of the above-captioned International Application is requested.

In line 27, the word "homtrimeric" has been rectified to read as – homotrimeric– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 41, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 41.

Page 61:

Rectification of the obvious typographical error on Page 61 of the above-captioned International Application is requested.

In line 26, the word "region." has been rectified to read as –region– to correct the obvious typographical error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 61, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 61.

Page 62:

Rectification of the obvious spelling errors on Page 62 of the above-captioned International Application is requested.

In line 26, the word "sulfydryl." has been rectified to reads as– sulfhydryl – to correct the obvious spelling error.

In line 29, the word "sulfydryl." has been rectified to reads as– sulfhydryl – to correct the obvious spelling error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 62, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 62.

1237

Page 83:

Rectification of the obvious spelling error on Page 83 of the above-captioned International Application is requested.

In line 15, the word "doman," has been rectified to read as –domain,– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 83, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 83.

Page 84:

Rectification of the obvious spelling error on Page 84 of the above-captioned International Application is requested.

In line 8, the word "specificy" has been rectified to read as –specificity– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 84, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 84.

Page 96:

Rectification of the obvious punctuation error on Page 96 of the above-captioned International Application is requested.

In line 26, the phrase "...set forth in SEQ ID NO: 327" has been rectified to read as –set forth in SEQ ID NO: 327.– to correct the obvious punctuation error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 96, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 96.

Page 98:

Rectification of the obvious typographical errors on Page 98 of the above-captioned International Application is requested.

In lines 12-14, the phrase "...any set forth in SEQ ID NOS: 1, 711, 714, 717, 720, 723, 726, 729, 732, 735, 738, 741, 744, 747, 750, 753, 756, 759, 762, 765, 768, 771, 774 or 777..."

1238

has been rectified to read as –any set forth in SEQ ID NOS:98, 101, 104, 107, 110, 113, 116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 137, 140, 143, 310, 313, 146, 149, 152 ,316, 319, 322 or 325– to correct for an obvious typographical error in which the sequence identifiers of matrix metalloproteases were inadvertently set forth as SEQ ID NOS:1, 711, 714, 717, 720, 723, 726, 729, 732, 735, 738, 741, 744, 747, 750, 753, 756, 759, 762, 765, 768, 771, 774 or 777 rather than SEQ ID NOS:98, 101, 104, 107, 110, 113, 116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 137, 140, 143, 310, 313, 146, 149, 152 ,316, 319, 322 or 325. Basis for the amendments can be found, for example, in the sequence listings in SEQ ID NOS: 98, 101, 104, 107, 110, 113, 116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 137, 140, 143, 310, 313, 146, 149, 152 ,316, 319, 322 and 325 and SEQ ID NO: 1. The sequence set forth in SEQ ID NO:1 is the amino acid sequence of mature cathepsin L. Table 3, on page 53, sets forth SEQ ID NOS for exemplary matrix metalloproteases as SEQ ID NOS: 98, 101, 104, 107, 110, 113, 116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 137, 140, 143, 310, 313, 146, 149, 152, 316, 319, 322 and 325. Additionally, the sequence listing contains only 537 sequences, therefore the exemplary matrix metalloproteases cannot correspond to SEQ ID NOS:711, 714, 717, 720, 723, 726, 729, 732, 735, 738, 741, 744, 747, 750, 753, 756, 759, 762, 765, 768, 771, 774 and 777. Thus, the amendments correct obvious typographical errors.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 98, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 98.

Page 132:

Rectification of the obvious typographical and grammatical errors on Page 132 of the above-captioned International Application is requested.

In line 22, the phrase "...sheep (ovis aries) (SEQ ID NO:252, 267, 271 and 272)..." has been rectified to read as –sheep (ovis aries) (SEQ ID NOS:252, 267, 271 and 273)– to correct for the obvious typographical and grammatical errors. Basis for the amendment can be found, for example, in the sequence listing in SEQ ID NO:272 and SEQ ID NO:273. The sequence set forth in SEQ ID NO:273 is from *Ovis aries*. The sequence set forth in SEQ ID NO:272 is from *Bos Taurus* PH20. Thus, the amendment corrects an obvious typographical error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 132 and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 132.

1239

Page 137:

Rectification of the obvious typographical error on Page 137 of the above-captioned International Application is requested.

In line 33, the phrase "...set forth in any of SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274,..." has been rectified to read as – set forth in any of SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-273,– to correct for an obvious typographical error in which the sequence identifiers of for soluble hyaluronidase PH20 polypeptides were inadvertently set forth as SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274 rather than SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-273. Basis for the amendment can be found, for example, in the sequence listing in SEQ ID NO: 274 and SEQ ID NO:273. The sequence set forth in SEQ ID NO: 273 is an amino acid sequence where as the sequence set forth in SEQ ID NO: 274 is a nucleotide sequence. Thus, the amendment corrects an obvious typographical error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 137, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 137.

Page 138:

Rectification of the obvious typographical errors on Page 138 of the above-captioned International Application is requested.

In line 4 the phrase "...any of SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274,..." has been rectified to read as –any of SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-273,– to correct for a typographical error in which the sequence identifiers of for soluble hyaluronidase PH20 polypeptides were inadvertently set forth as SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274 rather than SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-273. Basis for the amendment can be found, for example, in the sequence listing in SEQ ID NO: 274 and SEQ ID NO:273. The sequence set forth in SEQ ID NO: 273 is an amino acid sequence where as the sequence set forth in SEQ ID NO: 274 is a nucleotide sequence. Thus, the amendment corrects an obvious typographical error.

In line 7 the phrase "...any of SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274,..." has been rectified to read as –any of SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257,

1240

271-273,– to correct for a typographical error in which the sequence identifiers of for soluble hyaluronidase PH20 polypeptides were inadvertently set forth as SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-274 rather than SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-273. Basis for the amendment can be found, for example, in the sequence listing in SEQ ID NO: 274 and SEQ ID NO:273. The sequence set forth in SEQ ID NO: 273 is an amino acid sequence where as the sequence set forth in SEQ ID NO: 274 is a nucleotide sequence. Thus, the amendment corrects an obvious typographical error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 138, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 138.

Page 188:

Rectification of the obvious typographical error on Page 188 of the above-captioned International Application is requested.

In line 13, the phrase "...set forth in SEQ ID NO: 19)..." has been rectified to read as – set forth in SEQ ID NO: 224)– to correct for an obvious typographical error in which the sequence identifier of the linear HZ24 plasmid was inadvertently set forth as SEQ ID NO: 19 rather than SEQ ID NO:224. Basis for the amendment can be found, for example, in the sequence listing in SEQ ID NO:19 and SEQ ID NO:224. The sequence set forth in SEQ ID NO:224 is the DNA sequence of HZ24 with PH20 and DHFR where as the sequence set forth in SEQ ID NO:19 is the DNA sequence for Homo sapiens pancreatic elastase precursor (PE1; Elastase-1). Thus, the amendment corrects an obvious typographical error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 188, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 188.

Page 195:

Rectification of the obvious spelling error on Page 195 of the above-captioned International Application is requested.

In line 10, the word "sulfydryl" has been rectified to read as – sulfhydryl– to correct the obvious spelling error.

1241

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 195, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 195.

Page 201:

Rectification of the obvious spelling error on Page 201 of the above-captioned International Application is requested.

In line 15, the word "Promtics" has been rectified to read as – ProMedics– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 201, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 201.

Page 202:

Rectification of the obvious spelling error on Page 202 of the above-captioned International Application is requested.

In line 22, the word "sulfydryl" has been rectified to read as–sulfhydryl – to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 202, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 202.

Page 207:

Rectification of the obvious spelling error on Page 207 of the above-captioned International Application is requested.

In line 6, the word "deparraffinzed" has been rectified to read as – deparaffinized– to correct the obvious spelling error.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 207, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 207.

In the Claims:

Page 286:

J242

Rectification of the obvious typographical and grammatical errors on Page 286 of the above-captioned International Application is requested.

In claim 2, in line 7, the phrase "...a disease of condition..." has been to read as –a disease or condition – to render the sentence grammatically correct.

In claim 2 in line 9, the phrase "...formulated in inactive..." has been rectified to read as –formulated in an inactive– to render the sentence grammatically correct.

In claim 3, in line 15, the phrase "...condition for the enzyme..." has been rectified to read as –condition for the AMDE– to amend the claim for clarity.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 286, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 286.

Page 292:

Rectification of the obvious typographical errors on Page 292 of the above-captioned International Application is requested.

In claim 57, in line 17, the phrase "...condition for the enzyme..." has been rectified to read as –condition for the AMDE– to amend the claim for clarity.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 292, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 292.

Page 295:

Rectification of the obvious typographical and punctuation errors on Page 295 of the above-captioned International Application is requested.

In claim 86, in line 9, the phrase "...activates the enzyme." has been rectified to read as – activates the AMDE– to amend the claim for clarity.

In claim 87, in line 11, the phrase "at pH 5.5" has been rectified to read as –at pH 5.5.– to correct the obvious punctuation error.

These errors have been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 295, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 295.

Page 298:

1243

Rectification of the obvious grammatical error on Page 298 of the above-captioned International Application is requested.

In claim 121, in line 3, the phrase "...any of SEQ ID NO:1." has been rectified to read as –SEQ ID NO:1.– to render the phrase grammatically correct.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 298, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 298.

Page 299:

Rectification of the obvious grammatical error on Page 299 of the above-captioned International Application is requested.

In claim 140, in line 24, the phrase "...the additional container comprises..." has been rectified to read as –the additional containers comprise– to render the phrase grammatically correct.

This error has been noted on the enclosed hand-annotated copy of Page 298, and the rectification is provided in the enclosed Replacement Sheet for Page 298.

1244

REMARKS

Applicant respectfully requests entry of the corrections in the above-captioned International Application. Pursuant to PCT Rule 91.1, these corrections do not add new matter to the application. Applicant further requests authorization and notification of the authorization to reach the International Bureau before 6 July 2009, i.e. 17 months from the priority date of the above-captioned International Application.

Respectfully submitted,

Stephanie Seidman
Reg. No. 33,779

Dated: 14 May 2009
Attorney Docket No. 0119374-00093/3056PC

Address all correspondence to :
Stephanie Seidman
K&L Gates LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130-6766
Telephone: (858) 509-7410
Facsimile: (858) 509-7466
Email: stephanie.seidman@klgates.com

J245

HOJAS ENMENDADAS EN FASE INTERNACIONAL

CONTROL TEMPORAL IN VIVO DE ENZIMAS ACTIVABLES QUE DEGRADAN MATRIZ

SOLICITUDES RELACIONADAS

Se reivindica el beneficio de prioridad para la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/068,667, para Gilbert Keller and Gregory Frost, titulada "In Vivo Temporal Control of Activatable Matrix-Degrading Enzymes," presentada el 6 de marzo de 2008, y a la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/127,725, para Gilbert Keller and Gregory Frost, titulada "In Vivo Temporal Control of Activatable Matrix-Degrading Enzymes," presentada el 14 de mayo de 2008. Donde se permite, la materia objeto de las solicitudes arriba notadas se incorporan para referencia en su totalidad.

Esta solicitud también se refiere a la Solicitud de Patente E.U.A. No. de Serie 12/381,063; titulada "In Vivo Temporal Control of Activatable Matrix-Degrading Enzymes," que reivindica prioridad de la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/068,667 y a la Solicitud Provisional de E.U.A No. de Serie 61/127,725.

Eliminado: (Doc. del Apoderado No. 119374-00082/3056)

Esta solicitud también se refiere a la Solicitud de Patente E.U.A. No. de Serie 61/209,366, titulada "Temperature Sensitive Mutants of Matrix Metalloproteases and Uses Thereof."

Eliminado: (Doc. del Apoderado No. 119374-00103/p3077)

1246

Donde se permite, la materia objeto de las solicitudes arriba notadas se incorporan para referencia en su totalidad.

Incorporación para referencia del Listado de Secuencias Proporcionado en discos compactos.

Se presenta una versión electrónica en disco compacto (CD-R) del Listado de Secuencias con esta en cuatro copias (etiquetadas COPIA 1, COPIA 2, COPIA 3, y CRF), los contenidos de las cuales se incorpora para referencia en su totalidad. El archivo legible en computadora en cada uno de los discos compactos arriba mencionados, creados el 6 de marzo de 2009, es idéntico, 1.96 megabytes de tamaño, y titulado 3056SEQ.PC1.txt.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan métodos y combinaciones para controlar la duración de la acción, en vivo, de las enzimas que degradan matriz. Los métodos y combinaciones permiten temporalmente la activación in vivo de enzimas que degradan matriz con la administración de la matriz extracelular (o "ECM"). Las enzimas que degradan matriz que tengan una duración de acción controlada se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades mediadas por ECM o trastornos caracterizados por el depósito o acumulación en aumento de uno o más componentes de ECM.

Eliminado: 5

SEQ ID NO: 306; Sato et al. (1994) Appl. Microbiol. Biotechnol. 41 1):39-46). Ejemplos de enzimas AC condroitinasa de las bacterias incluyen, pero no se limitan a, las de *Flavobacterium heparinum, Victivallis vadensis*, establecidos en la SEQ ID NO: 308, y *Arthrobacter aurescens* (Tkalec et al. (2000) Applied Environmental Microbiology 66 (1):29-35; Ernst et al. (1995) Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 30(5):387-444). Ejemplos de enzimas de C condroitinasa de las bacteria incluyen, pero no se limitan a, las de *Streptococcus* y *Flavobacterium* (Hibi et al. (1989) FEMS Microbiol-Lett. 48(2):121-4; Michelacci et al. (1976) J Biol. Chem. 251:1154-8; Tsuda et al. (1999) Eur. J. Biochem. 262:127-133).

Como se utiliza aquí, hialuronidasa se refiere a una enzima que degrada el ácido hialurónico. Las hialuronidasas incluyen hialuronidasas bacterianas (EC 4.2.99.1), hialuronidasas de sanguijuelas, otros parásitos, y los crustáceos (CE 3.2.1.36), y hialuronidasas tipo mamíferos (CE 3.2.1.35). Hialuronidasas comprenderán también los de origen no humano, incluyendo pero no limitado a, los ratones, caninos, felinos, leporinos, aves, bovinos, ovinos, porcinos, equinos, peces, raninas, bacterianas, y cualquier otra de las sanguijuelas, otros parásitos, y crustáceos. Las hialuronidasas ejemplares no humanas incluyen las

establecidas en cualquiera de SEQ ID NOS: 237-260. Las hialuronidasas ejemplares humanas incluyen HYAL1 (SEQ ID NO: 262), HYAL2 (SEQ ID NO: 263), HYAL3 (SEQ ID NO: 264), HYAL4 (SEQ ID 0 NO: 265), y PH20 (SEQ ID NO: 232). También se incluyen entre otras hialuronidasas la PH20 humana soluble y rHuPH20 soluble.

La referencia a hialuronidasas incluye polipéptidos precursores de hialuronidasa y polipéptidos maduros de hialuronidasa (como aquellos en los que una secuencia de señales se ha eliminado), formas truncadas de la misma que tienen actividad, e incluye variantes alélicas y variantes de especies, las variantes codificadas por variantes del empalme, y otras variantes, incluidos los polipéptidos que tienen al menos un 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o más de identidad de la secuencia del polipéptido precursor establecidos en cualquiera de SEQ ID NO: 232 o la forma madura de la misma. Las hialuronidasas también incluyen aquellas que contienen químicos o modificaciones postraduccionales y los que no contienen químicos o modificaciones postraduccionales. Dichas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, pegilación, albuminación, glicosilación, carboxilación, farnesilación, hidroxilación, la fosforilación, y otras modificaciones de polipéptidos conocidas en el arte.

110, 1413, 116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 137, 140, 143, 310, 313, 146, 149, 157, 316, 319, 322 ó 325 o forma de zimógenos, formas activas u otras formas del mismo, o variantes alélicas o de especies de los mismos. La Figura 1 proporciona una alineación de la forma de zimógeno de polipéptidos MMP ejemplares. De esta manera, cualquiera de las modificaciones proporcionadas en la presente en un MMP-1 se puede hacer en cualquier otro polipéptido MMP. Por lo tanto, con base en la descripción en la presente, cualquier MMP, especie, variante alélica u otra variante, se puede hacer temporalmente activo (reversible o irreversible) en virtud de la actividad a una temperatura permisible (generalmente una temperatura inferior) comparado con una temperatura no permisible (generalmente a temperatura más alta). Tales mutantes tsMMP se pueden usar por alguien de experiencia en la técnica y usar en composiciones, procesos o métodos para el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por ECM.

Eliminado: 1, 711, 714, 717, 720, 723, 726, 729, 732, 735, 738, 741, 744, 747, 750, 753, 756, 759, 762, 765, 768, 771, 774 o 777

Está dentro del nivel de alguien de experiencia en la técnica alinear diversos MMPs a MMP-1 (por ejemplo establecido en la SEQ ID NO: 327) e identificar los residuos correspondientes. Cualquiera de las modificaciones proporcionadas en la presente se pueden hacer en cualquier otro MMP en el residuo correspondiente. Alguien de experiencia en la técnica puede probar la actividad del

o 37°C) y mantiene la actividad de MMP-1 tipo natural en la temperatura permisiva o no permisiva. Las modificaciones adicionales pueden conferir propiedades adicionales a la enzima, por ejemplo, estabilidad incrementada, vida media incrementada y/o resistencia incrementada a inhibidores, por ejemplo, TIMP. Las modificaciones adicionales incluyen modificaciones a la secuencia primaria del polipéptido, así como otra modificación tal como PEGilación y glicosilación del polipéptido. Generalmente, tales polipéptidos incluyen una o más modificaciones proporcionadas en la presente y exhiben actividad incrementada en la temperatura más baja que una temperatura más alta. Las modificaciones ejemplares que se pueden incluir en un polipéptido proporcionado en la presente incluyen, pero no se limitan a, modificaciones T4P, Q10P, R30M, R30S, T96R, A114V, F166C, I172V, D181H, R189T, E200A, G214E, D232N, D233G, R243S, Q254P, T286A, I298T, E314G, F315S, V374M, R386Q, S387T, G391S, y T432A de un polipéptido establecido en la SEQ ID NO: 327.

4) Otras MMPs

Las metaloproteasas de matriz son polipéptidos altamente homólogos y exhiben especificidades similares para componentes de matriz extracelular. Las secuencias ejemplares de los MMP se establecen en la Tabla 3, por ejemplo, cualquiera establecido en las SEQ ID NOS: 98, 101, 104, 107,

Con formato: Fuente: 11 pt

tetrasacárido y hexasacárido a través de la hidrólisis del enlace β-1-3.

1) Hialuronidasas de tipo de mamífero

Las hialuronidasas de tipo de mamífero tienen actividades tanto hidrolíticas como transglicosidasa, y pueden degradar el hialuronano y los sulfatos de condroitina (CS), generalmente C4-S y C6-S. Las hialuronidasas de este tipo incluyen, pero no se limitan a, hialuronidasas de vacas (bovino) (SEQ ID NOS:237, 266 y 272 y BH55 (Patentes de E.U.A. Nos. 5,747,027 y 5,827,721), oveja (ovis aries) (SEQ ID NO:252, 267, 271 y 273), avispa chaqueta amarilla (SEQ ID NOS:238 y 239), abeja de la miel (SEQ ID NO:240), avispón cara blanca (SEQ ID NO:241), avispa de papel (SEQ ID NO:242), ratón (SEQ ID NOS:243-245, 257), cerdo (SEQ ID NOS:246, 247), rata (SEQ ID NOS:248-250, 256), conejo (SEQ ID NO:251), orangután (SEQ ID NO:253), mono cynomolgus (SEQ ID NO:254), cobayo (SEQ ID NO:255), e hialuronidasas humanas. Ejemplares de las hialuronidasas en las composiciones, combinaciones y métodos proporcionados en este documento son las hialuronidasas solubles.

Eliminado: 2

Existen seis genes similares a la hialuronidasa en el genoma humano, HYAL1 (SEQ ID NO:262), HYAL2 (SEQ ID NO: 263), HYAL3 (SEQ ID NO:264), HYAL4 (SEQ ID NO:265) y PH20/SPAM1 (SEQ ID NO:232). Entre las hialuronidasas, la PH20 es la

1252

a, el nivel deseado de actividad de la enzima después de la administración y/o sitio de administración, se pueden seleccionar hialuronidasas activas neutras y activas ácidas. En un ejemplo particular, la enzima degradante de hialuronano para el uso de las composiciones, combinaciones y métodos es una hialuronidasa activa neutra soluble.

Ejemplar de una hialuronidasa soluble es la PH20 de cualquier especie, tal como cualquiera expuesta en cualquiera de SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251 , 267, 255, 257, 271-273, o formas truncadas de las mismas que carecen todo o una porción del ancla GPI C-terminal, siempre y cuando la hialuronidasa sea soluble y retenga una actividad de hialuronidasa. También se incluyen entre las hialuronidasas solubles variantes alélicas u otras variantes de cualquiera de SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251 , 267, 255, 257, 271-273, o formas truncadas de las mismas. Las variantes alélicas y otros variantes son conocidas por una persona de experiencia en el campo, e incluyen polipéptidos que tienen 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% o más de identidad de secuencia para cualquiera de SEQ ID NOS:232, 233, 266, 251, 267, 255, 257, 271-273, o formas truncadas de las mismas.

Eliminado: 4

Eliminado: 4

Eliminado: 4

Típicamente, para el uso en las composiciones, combinaciones y métodos en este documento, se usa una PH20 humana soluble. Aunque la PH20 de otros animales se puede

individual dirigido por el promotor CMV que codifica los aminoácidos 1-482 de PH20 (expuesta en SEQ ID NO:225) y los aminoácidos 1-187 de la dihidrofolato reductasa (expuesta en SEQ ID NO:261), separada por un sitio de entrada ribosomal interno (IRES).

Las células DG44 CHO no transfectadas se desarrollaron en medio CD-CHO Modificado GIBCO para las células DHFR(-), suplementadas con 4 mM Glutamax^{MR} y 18 ml de Plurionic F68/L (Gibco), y se sembraron a 0.5 x 10^6 células/ml en un matraz agitador en la preparación para transfección. Las células se desarrollaron a 37°C en CO_2 al 5% en una incubadora humidificada, agitando a 120 rpm. Las células DG44 no transfectadas exponencialmente en crecimiento se sometieron a prueba para viabilidad antes de la transfección.

Sesenta millones de células viables del cultivo de células DG44 CHO no transfectadas se formaron en pelotillas y se resuspendieron a una densidad de 2 ^{x} 10^7 células en 0.7 mL de solución amortiguadora de transfección 2x (HeBS 2x: Hepes 40 mM, pH 7.0, NaCl 274 mM, KCl 10 mM, Na_2HPO_4 1.4 mM, dextrosa 12 mM). A cada alícuota de células resuspendidas, 0.09 mL (250 µg) del plásmido HZ24 lineal (linealizado mediante la digestión durante toda la noche con CIa I (New England Biolabs); plásmido HZ24 lineal expuesto en SEQ ID NO: 224) se agregaron, y las soluciones de célula/ADN se

Eliminado: 19

REIVINDICACIONES

1. El uso de una enzima activable que degrada la matriz (AMDE) para formulación de un medicamento para administración sub-epidérmica para tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) en una cantidad suficiente, cuando se expone a un activador, para degradar un componente de la ECM, en donde:

la AMDE es una enzima que degrada la matriz que está inactiva en la ECM en la ausencia del activador; y

la AMDE está activa durante un tiempo limitado en la ECM durante la exposición a una condición activadora proporcionada por el activador.

2. Una composición farmacéutica formulada para administración sub-epidérmica para el uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, caracterizada porque comprende una enzima activable que degrada la matriz (AMDE) en una cantidad, cuando se expone a un activador, suficiente para degradar un componente de la ECM, en donde:

la AMDE es una enzima que degrada la matriz que está inactiva en la ECM en la ausencia del activador; y

la AMDE está activa durante un tiempo limitado en la ECM durante la exposición a una condición activadora

proporcionada por el activador.

3. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el medicamento o composición se formula para administración de dosificación sencilla.

4. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 3, en donde la cantidad de AMDE está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg o 2 mg hasta 4 mg.

5. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la enzima está sustancialmente inactiva en pH neutro y el activador proporciona una condición activadora que tiene pH ácido.

6. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que se formula para administración subcutánea, administración intramuscular, administración intralesional o administración intradérmica.

7. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el activador se formula en la misma composición como la AMDE o en una composición separada.

8. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el activador proporciona

una condición activadora seleccionada de entre pH, resistencia iónica, temperatura e iones de metal.

9. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la condición activadora es un ión de metal y el ión de metal es Ca^{2+}.

10. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la condición activadora es temperatura.

11. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 10, en donde la temperatura está o es alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C o 30°C.

12. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8 o reivindicaciones 10-11, en donde la condición activadora es temperatura y la AMDE se modifica para ser sensible a la temperatura, en donde la AMDE está inactiva a 37°C.

13. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 12, en donde la condición activadora es temperatura y la temperatura es menor que 37°C.

14. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una elastasa de neutrófilo, una

proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de célula madre, una triptasa de célula madre, una plasmina, una trombina, una granzina B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaina 1, una calplaina 2, una legumaina, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, una MMP-1, una MMP-8, una MMP-13, y MMP-18, una MMP-2, una MMP-9, una MMP-3, una MMP-10, una MMP-11, una MMP-7, una MMP-26, una MMP-12, una MMP-14, una MMP-15, una MMP-16, y MMP-17, una MMP-19, una MMP-20, una ADAMTS-1, una ADAMTS-2, una ADAMTS-3, una ADAMTS-4, una ADAMTS-5, una ADAMTS-14, una heparanasa y variantes de los mismos, por ello la AMDE está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

15. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 8 o 10-14, en donde la condición activadora es temperatura menor que 37°C alcanzada al proporcionar la AMDE en una solución amortiguadora fría.

16. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la AMDE requiere más de una condición activadora para la actividad.

17. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la condición activadora es pH.

18. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8 o reivindicación 17, en donde la condición activadora es un pH ácido.

19. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde la AMDE está sustancialmente activa en pH 5.5.

20. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 18 o reivindicación 19, en donde el pH ácido está o es alrededor en un rango de 3 hasta 6.5, ó 3.5 hasta 6, ó 3 hasta 5.5, ó 3 hasta 4.5, ó 4 hasta 6, ó 4 hasta 5.5, ó 4.5 hasta 5, ó 5 hasta 6.

21. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 20, en donde el pH ácido es alrededor o es 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6 ó 6.5.

22. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-21, en donde la condición activadora se alcanza al proporcionar la AMDE en una solución amortiguadora en el pH.

23. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 22, en donde la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, fosfato cítrico e histidina.

24. El uso o composición de conformidad con la

reivindicación 22 o reivindicación 23, caracterizado porque la resistencia iónica de la solución amortiguadora se selecciona de manera que la AMDE está activa durante un tiempo predeterminado en pH neutro.

25. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde la AMDE es una enzima lisosomal.

26. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-25, en donde la AMDE se selecciona de entre una catepsina, una calpaina y una heparanasa.

27. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 26, en donde la AMDE es una catepsina y la catepsina es una cisteína proteasa o proteasa aspártica.

28. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 27, en donde la catepsina se selecciona de entre catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina O, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E.

29. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 28, en donde la catepsina es catepsina L.

30. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 27 o reivindicación 28, en donde la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionados de cualquiera de SEQ ID NO: ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71,

74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, o es una variante de cualquiera de SEQ ID NO: ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, por ello la catepsina está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

31. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde la AMDE es un zimógeno o es una proteína madura que es una cadena sencilla o forma dos cadenas.

32. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde un componente ECM se selecciona de entre un colágeno, una elastina, una fibronectina y una proteoglicano.

33. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32, en donde el componente ECM es colágeno y el colágeno se selecciona de entre colágeno tipo I, tipo II, tipo III y tipo IV.

34. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 33, en donde la AMDE tiene una especificidad de sustrato incrementada para colágeno tipo I sobre colágeno tipo IV.

35. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-34, en donde la enfermedad o afección de la ECM es una enfermedad o afección

mediada por colágeno.

36. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 35, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno se selecciona de entre celulita, enfermedad de Dupuytren, enfermedad de Peyronie, fibrosis Ledderhose, rigidez en las articulaciones, cicatrices existentes, escleroderma, linfedema y colitis colagenosa.

37. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 36, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno es rigidez en articulaciones que es de hombro congelado.

38. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 36, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno es cicatrices existentes que se selecciona de entre adhesiones quirúrgicas, queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices depresivas.

39. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende una cantidad de catepsina L para tratamiento de una enfermedad o afección mediada por ECM, en donde:

la composición se formula para administración de dosificación sencilla; y

la composición se formula en una solución amortiguadora que tiene un pH que activa la catepsina L.

40. La composición de conformidad con la reivindicación

77 o reivindicación 78, caracterizada porque además comprende una o más de lidocaína, epinefrina y una hialuronidasa.

41. Una combinación, caracterizada porque comprende:

i) una enzima activable que degrada la matriz, en donde la AMDE está inactiva en la ECM en la ausencia de un activador; y

la AMDE está activa durante un tiempo limitado en la ECM durante la exposición al activador:

ii) un activador que proporciona una condición activadora para la AMDE de manera que la AMDE está activa cuando se expone al activador; y

iii) uno o más de otros agentes seleccionados de entre otros biológicos, compuestos de molécula pequeña, agentes dispersantes, anestésicos y vasoconstrictores.

42. La combinación de conformidad con la reivindicación 41, en donde el activador proporciona una condición activadora seleccionada de entre pH, iones de metal, temperatura y resistencia iónica.

43. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41 ó 42, caracterizada porque la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una elastasa de neutrófilo, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de célula madre, una triptasa de célula madre,

una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaina 1, una calplaina 2, una legumaina, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, un MMP-I, un MMP-8, un MMP-13, y MMP-18, un MMP-2, un MMP-9, un MMP-3, un MMP-10, un MMP-11, un MMP-7, un MMP-26, un MMP-12, un MMP-14, un MMP-15, un MMP-16, y MMP-17, un MMP-19, un MMP-20, un ADAMTS-1, un ADAMTS-2, un ADAMTS-3, un ADAMTS-4, un ADAMTS-5, un ADAMTS-14 y una heparansa o variantes alélicas o de especie u otras variantes de los mismos.

44. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-43, caracterizada porque el otro agente es un agente dispersado que es una hilauronidasa.

45. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-44, caracterizada porque el otro agente es un anestésico que es una lidocaína.

46. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-45, caracterizada porque el otro agente es un vasoconstrictor que es un agonista del receptor adrenérgico alfa.

47. La combinación de conformidad con la reivindicación 46, caracterizada porque el agonista del receptor adrenérgico

alfa se selecciona de entre levonordefrina, epinefrina y norepinefrina.

48. Una combinación, caracterizada porque comprende una catepsina L activable y una hialuronidasa, en donde:

la catepsina L activable está inactiva en pH neutro; y

la catepsina L activable está activa durante la exposición a pH ácido.

49. La combinación de conformidad con la reivindicación 48, caracterizada porque la hialuronidasa es una composición designada rHuPH20.

50. La combinación de conformidad con la reivindicación 48 o reivindicación 49, caracterizada porque la catepsina L y la hialuronidasa están en composiciones separadas o están en una composición sencilla.

51. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 48-50, caracterizada porque además comprende una solución amortiguadora ácida que activa la catepsina L.

52. La combinación de conformidad con la reivindicación 48 o reivindicación 50, caracterizada porque la catepsina L y la hialuronidasa están en una composición sencilla formulada como una composición farmacéutica.

53. Un kit, caracterizado porque comprende la combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-52, y opcionalmente instrucciones para

uso.

54. Un envase, caracterizado porque comprende dos compartimientos, en donde:

un primer compartimiento contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de una enzima activable que degrada la matriz (AMDE), en donde la cantidad es para dosificación sencilla o una pluralidad de dosificaciones y una dosificación sencilla es efectiva para tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM cuando se expone a un activador; y

un segundo compartimiento contiene un activador, en donde el activador proporciona una condición activadora requerida para la actividad de la enzima.

55. El envase de conformidad con la reivindicación 54, caracterizado porque la enzima está sustancialmente activa en pH 5.5.

56. El envase de conformidad con las reivindicaciones 54 y 55, caracterizado porque la enzima está sustancialmente inactiva en pH neutro.

57. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-56, caracterizado porque además comprende un compartimiento mezclado.

58. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-57 caracterizado porque es un tubo o

botella.

59. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-58, caracterizado porque además comprende una aguja para inyección.

60. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-59, caracterizado porque:

el activador proporciona una condición activadora seleccionada de entre pH, ión de metal o resistencia iónica, y el activador se proporciona en una solución o suspensión líquida.

61. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-60, caracterizado porque la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una elastasa de neutrófilo, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de célula madre, una triptasa de célula madre, una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaina 1, una calplaina 2, una legumaina, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, un MMP-1, un MMP-8, un MMP-13, y MMP-18, un MMP-2, un MMP-9, un MMP-3, un MMP-10, un MMP-11, un MMP-7, un MMP-26, un MMP-12, un MMP- 14, un MMP-15, un MMP-16, y MMP-17, un MMP-19, un MMP-20,

un ADAMTS-1, un ADAMTS-2, un ADAMTS-3, un ADAMTS-4, un ADAMTS-5, un ADAMTS-14 y variantes de los mismos que están inactivos en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

62. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-61, caracterizado porque la AMDE es un zimógeno.

63. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-62, caracterizado porque el activador proporciona una condición activadora que es pH ácido y la AMDE es una catepsina seleccionada de entre una cisteína proteasa y una proteasa aspártica.

64. El envase de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque la catepsina se selecciona de entre catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina O, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E.

65. El envase de conformidad con la reivindicación 64, caracterizado porque la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, en donde la catepsina está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

66. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 63-65, caracterizado porque:

el activador es una solución amortiguadora ácida que proporcionar una condición activadora requerida para actividad de catepsina L.

67. El envase de conformidad con la reivindicación 66, caracterizado porque el pH de la solución amortiguadora ácida tiene un intervalo que está o es alrededor de 4.5 hasta 6.

68. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 66-67, caracterizado porque la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, fosfato cítrico e histidina.

69. El envase de conformidad con la reivindicación 68, caracterizado porque la resistencia iónica de la solución amortiguadora se selecciona de manera que la AMDE está activa durante un tiempo predeterminado durante la administración.

70. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 66-69, caracterizado porque la catepsina L tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1, o es una variante de SEQ ID NO: 1, en donde la catepsina L está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan métodos y combinaciones para controlar la duración de acción, *in vivo*, de enzimas que degradan

matriz. Los métodos y combinaciones permiten la activación in vivo temporal de las enzimas que degradan matriz durante la administración a la matriz extracelular (o "ECM"). Las enzimas que degradan matriz que tienen una duración controlada de acción pueden usarse para tratar enfermedades o trastornos mediados por ECM caracterizados al incrementar la deposición o acumulación de uno o más componentes ECM.

REIVINDICACIONES

1. El uso de una enzima activable que degrada la matriz (AMDE) para formulación de un medicamento para administración sub-epidérmica para tratamiento de una enfermedad o afección de la matriz extracelular (ECM) en una cantidad suficiente, cuando se expone a un activador, para degradar un componente de la ECM, en donde:

la AMDE es una enzima que degrada la matriz que está inactiva en la ECM en la ausencia del activador; y

la AMDE está activa durante un tiempo limitado en la ECM durante la exposición a una condición activadora proporcionada por el activador.

2. Una composición farmacéutica formulada para administración sub-epidérmica para el uso en el tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM, caracterizada porque comprende una enzima activable que degrada la matriz (AMDE) en una cantidad, cuando se expone a un activador, suficiente para degradar un componente de la ECM, en donde:

la AMDE es una enzima que degrada la matriz que está inactiva en la ECM en la ausencia del activador; y

la AMDE está activa durante un tiempo limitado en la ECM durante la exposición a una condición activadora proporcionada por el activador.

3. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el medicamento o composición se formula para administración de dosificación sencilla.

4. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 3, en donde la cantidad de AMDE está o es alrededor de 10 µg hasta 100 mg, 50 µg hasta 75 mg, 100 µg hasta 50 mg, 250 µg hasta 25 mg, 500 µg hasta 10 mg, 1 mg hasta 5 mg o 2 mg hasta 4 mg.

5. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la enzima está sustancialmente inactiva en pH neutro y el activador proporciona una condición activadora que tiene pH ácido.

6. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que se formula para administración subcutánea, administración intramuscular, administración intralesional o administración intradérmica.

7. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el activador se formula en la misma composición como la AMDE o en una composición separada.

8. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el activador proporciona una condición activadora seleccionada de entre pH,

resistencia iónica, temperatura e iones de metal.

9. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la condición activadora es un ión de metal y el ión de metal es Ca^{2+}.

10. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la condición activadora es temperatura.

11. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 10, en donde la temperatura está o es alrededor de 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C o 30°C.

12. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8 o reivindicaciones 10-11, en donde la condición activadora es temperatura y la AMDE se modifica para ser sensible a la temperatura, en donde la AMDE está inactiva a 37°C.

13. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 12, en donde la condición activadora es temperatura y la temperatura es menor que 37°C.

14. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una elastasa de neutrófilo, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina

G, una quimasa de célula madre, una triptasa de célula madre, una plasmina, una trombina, una granzina B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaina 1, una calplaina 2, una legumaina, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, una MMP-1, una MMP-8, una MMP-13, y MMP-18, una MMP-2, una MMP-9, una MMP-3, una MMP-10, una MMP-11, una MMP-7, una MMP-26, una MMP-12, una MMP-14, una MMP-15, una MMP-16, y MMP-17, una MMP-19, una MMP-20, una ADAMTS-1, una ADAMTS-2, una ADAMTS-3, una ADAMTS-4, una ADAMTS-5, una ADAMTS-14, una heparanasa y variantes de los mismos, por ello la AMDE está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

15. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 8 o 10-14, en donde la condición activadora es temperatura menor que 37°C alcanzada al proporcionar la AMDE en una solución amortiguadora fría.

16. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la AMDE requiere más de una condición activadora para la actividad.

17. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 8, en donde la condición activadora es pH.

18. El uso o composición de conformidad con la

reivindicación 8 o reivindicación 17, en donde la condición activadora es un pH ácido.

19. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde la AMDE está sustancialmente activa en pH 5.5.

20. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 18 o reivindicación 19, en donde el pH ácido está o es alrededor en un rango de 3 hasta 6.5, ó 3.5 hasta 6, ó 3 hasta 5.5, ó 3 hasta 4.5, ó 4 hasta 6, ó 4 hasta 5.5, ó 4.5 hasta 5, ó 5 hasta 6.

21. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 20, en donde el pH ácido es alrededor o es 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6 ó 6.5.

22. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-21, en donde la condición activadora se alcanza al proporcionar la AMDE en una solución amortiguadora en el pH.

23. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 22, en donde la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, fosfato cítrico e histidina.

24. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 22 o reivindicación 23, caracterizado porque

la resistencia iónica de la solución amortiguadora se selecciona de manera que la AMDE está activa durante un tiempo predeterminado en pH neutro.

25. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde la AMDE es una enzima lisosomal.

26. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-25, en donde la AMDE se selecciona de entre una catepsina, una calpaina y una heparanasa.

27. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 26, en donde la AMDE es una catepsina y la catepsina es una cisteína proteasa o proteasa aspártica.

28. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 27, en donde la catepsina se selecciona de entre catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina O, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E.

29. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 28, en donde la catepsina es catepsina L.

30. El uso o composición de conformidad con la reivindicación 27 o reivindicación 28, en donde la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionados de cualquiera de SEQ ID NO: ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, o es una

variante de cualquiera de SEQ ID NO: ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, por ello la catepsina está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

31. El uso o composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde la AMDE es un zimógeno o es una proteína madura que es una cadena sencilla o forma dos cadenas.

32. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde un componente ECM se selecciona de entre un colágeno, una elastina, una fibronectina y una proteoglicano.

33. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32, en donde el componente ECM es colágeno y el colágeno se selecciona de entre colágeno tipo I, tipo II, tipo III y tipo IV.

34. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 33, en donde la AMDE tiene una especificidad de sustrato incrementada para colágeno tipo I sobre colágeno tipo IV.

35. El uso o composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-34, en donde la enfermedad o afección de la ECM es una enfermedad o afección mediada por colágeno.

36. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 35, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno se selecciona de entre celulita, enfermedad de Dupuytren, enfermedad de Peyronie, fibrosis Ledderhose, rigidez en las articulaciones, cicatrices existentes, escleroderma, linfedema y colitis colagenosa.

37. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 36, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno es rigidez en articulaciones que es de hombro congelado.

38. El uso o composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 36, en donde la enfermedad o afección mediada por colágeno es cicatrices existentes que se selecciona de entre adhesiones quirúrgicas, queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices depresivas.

39. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende una cantidad de catepsina L para tratamiento de una enfermedad o afección mediada por ECM, en donde:

la composición se formula para administración de dosificación sencilla; y

la composición se formula en una solución amortiguadora que tiene un pH que activa la catepsina L.

40. La composición de conformidad con la reivindicación 77 o reivindicación 78, caracterizada porque además comprende

una o más de lidocaína, epinefrina y una hialuronidasa.

41. Una combinación, caracterizada porque comprende:

i) una enzima activable que degrada la matriz, en donde

la AMDE está inactiva en la ECM en la ausencia de un activador; y

la AMDE está activa durante un tiempo limitado en la ECM durante la exposición al activador:

ii) un activador que proporciona una condición activadora para la AMDE de manera que la AMDE está activa cuando se expone al activador; y

iii) uno o más de otros agentes seleccionados de entre otros biológicos, compuestos de molécula pequeña, agentes dispersantes, anestésicos y vasoconstrictores.

42. La combinación de conformidad con la reivindicación 41, en donde el activador proporciona una condición activadora seleccionada de entre pH, iones de metal, temperatura y resistencia iónica.

43. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41 ó 42, caracterizada porque la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una elastasa de neutrófilo, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de célula madre, una triptasa de célula madre, una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S,

una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaina 1, una calplaina 2, una legumaina, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, un MMP-I, un MMP-8, un MMP-13, y MMP-18, un MMP-2, un MMP-9, un MMP-3, un MMP-10, un MMP-11, un MMP-7, un MMP-26, un MMP-12, un MMP-14, un MMP-15, un MMP-16, y MMP-17, un MMP-19, un MMP-20, un ADAMTS-1, un ADAMTS-2, un ADAMTS-3, un ADAMTS-4, un ADAMTS-5, un ADAMTS-14 y una heparansa o variantes alélicas o de especie u otras variantes de los mismos.

44. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-43, caracterizada porque el otro agente es un agente dispersado que es una hilauronidasa.

45. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-44, caracterizada porque el otro agente es un anestésico que es una lidocaína.

46. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-45, caracterizada porque el otro agente es un vasoconstrictor que es un agonista del receptor adrenérgico alfa.

47. La combinación de conformidad con la reivindicación 46, caracterizada porque el agonista del receptor adrenérgico alfa se selecciona de entre levonordefrina, epinefrina y

norepinefrina.

48. Una combinación, caracterizada porque comprende una catepsina L activable y una hialuronidasa, en donde:

la catepsina L activable está inactiva en pH neutro; y

la catepsina L activable está activa durante la exposición a pH ácido.

49. La combinación de conformidad con la reivindicación 48, caracterizada porque la hialuronidasa es una composición designada rHuPH20.

50. La combinación de conformidad con la reivindicación 48 o reivindicación 49, caracterizada porque la catepsina L y la hialuronidasa están en composiciones separadas o están en una composición sencilla.

51. La combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 48-50, caracterizada porque además comprende una solución amortiguadora ácida que activa la catepsina L.

52. La combinación de conformidad con la reivindicación 48 o reivindicación 50, caracterizada porque la catepsina L y la hialuronidasa están en una composición sencilla formulada como una composición farmacéutica.

53. Un kit, caracterizado porque comprende la combinación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 41-52, y opcionalmente instrucciones para uso.

54. Un envase, caracterizado porque comprende dos compartimientos, en donde:

un primer compartimiento contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de una enzima activable que degrada la matriz (AMDE), en donde la cantidad es para dosificación sencilla o una pluralidad de dosificaciones y una dosificación sencilla es efectiva para tratamiento de una enfermedad o afección de la ECM cuando se expone a un activador; y

un segundo compartimiento contiene un activador, en donde el activador proporciona una condición activadora requerida para la actividad de la enzima.

55. El envase de conformidad con la reivindicación 54, caracterizado porque la enzima está sustancialmente activa en pH 5.5.

56. El envase de conformidad con las reivindicaciones 54 y 55, caracterizado porque la enzima está sustancialmente inactiva en pH neutro.

57. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-56, caracterizado porque además comprende un compartimiento mezclado.

58. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-57 caracterizado porque es un tubo o botella.

59. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-58, caracterizado porque además comprende una aguja para inyección.

60. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-59, caracterizado porque:

el activador proporciona una condición activadora seleccionada de entre pH, ión de metal o resistencia iónica, y el activador se proporciona en una solución o suspensión líquida.

61. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-60, caracterizado porque la AMDE se selecciona de entre una elastasa pancreática, una elastasa-2A, una elastasa-2B, una elastasa de neutrófilo, una proteinasa-3, una elastasa vascular endógena, una catepsina G, una quimasa de célula madre, una triptasa de célula madre, una plasmina, una trombina, una granzima B, una catepsina S, una catepsina K, una catepsina L, una catepsina B, una catepsina C, una catepsina H, una catepsina F, una catepsina O, una catepsina R, una catepsina V, una catepsina W, una calpaina 1, una calplaina 2, una legumaina, una catepsina Z, una catepsina D, una catepsina E, un MMP-1, un MMP-8, un MMP-13, y MMP-18, un MMP-2, un MMP-9, un MMP-3, un MMP-10, un MMP-11, un MMP-7, un MMP-26, un MMP-12, un MMP- 14, un MMP-15, un MMP-16, y MMP-17, un MMP-19, un MMP-20, un ADAMTS-1, un ADAMTS-2, un ADAMTS-3, un ADAMTS-4, un ADAMTS-5,

un ADAMTS-14 y variantes de los mismos que están inactivos en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

62. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-61, caracterizado porque la AMDE es un zimógeno.

63. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54-62, caracterizado porque el activador proporciona una condición activadora que es pH ácido y la AMDE es una catepsina seleccionada de entre una cisteína proteasa y una proteasa aspártica.

64. El envase de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque la catepsina se selecciona de entre catepsina S, catepsina K, catepsina L, catepsina B, catepsina C, catepsina H, catepsina F, catepsina O, catepsina R, catepsina V, catepsina W, catepsina D y catepsina E.

65. El envase de conformidad con la reivindicación 64, caracterizado porque la catepsina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID NOS: 57, 60, 1, 65, 180, 68, 71, 74, 77, 183, 186, 189, 80, 195, 90, 93 y 96, en donde la catepsina está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

66. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 63-65, caracterizado porque:

el activador es una solución amortiguadora ácida que

proporcionar una condición activadora requerida para actividad de catepsina L.

67. El envase de conformidad con la reivindicación 66, caracterizado porque el pH de la solución amortiguadora ácida tiene un intervalo que está o es alrededor de 4.5 hasta 6.

68. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 66-67, caracterizado porque la solución amortiguadora contiene un ácido seleccionado de entre ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico (MES), ácido acético, ácido cítrico, fosfato cítrico e histidina.

69. El envase de conformidad con la reivindicación 68, caracterizado porque la resistencia iónica de la solución amortiguadora se selecciona de manera que la AMDE está activa durante un tiempo predeterminado durante la administración.

70. El envase de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 66-69, caracterizado porque la catepsina L tiene una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1, o es una variante de SEQ ID NO: 1, en donde la catepsina L está inactiva en la ECM en la ausencia de una condición activadora.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan métodos y combinaciones para controlar la duración de acción, *in vivo*, de enzimas que degradan matriz. Los métodos y combinaciones permiten la activación in

vivo temporal de las enzimas que degradan matriz durante la administración a la matriz extracelular (o "ECM"). Las enzimas que degradan matriz que tienen una duración controlada de acción pueden usarse para tratar enfermedades o trastornos mediados por ECM caracterizados al incrementar la deposición o acumulación de uno o más componentes ECM.

WO 2009/111083
PCT/US2009/001486

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

SECOND AND SUPPLEMENTARY NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES WHICH APPLY THE 30 MONTH TIME LIMIT UNDER ARTICLE 22(1))

(PCT Rule 47.1(c))

To:

SEIDMAN, Stephanie L.
K & L Gates LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)* 08 July 2010 (08.07.2010)		
Applicant's or agent's file reference 0119374-093	IMPORTANT NOTICE	
International application No. PCT/US2009/001486	International filing date *(day/month/year)* 06 March 2009 (06.03.2009)	Priority date *(day/month/year)* 06 March 2008 (06.03.2008)
Applicant HALOZYME, INC. et al		

1. **ATTENTION**: For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), **does not apply**, please see Form PCT/IB/308(First Notice) issued previously.

2. Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does apply**, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93*bis*.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
11 September 2009 (11.09.2009)

   AU, AZ, BY, CN, CO, DZ, EP, HU, KG, KP, KR, MD, MK, MY, MZ, NA, NG, PG, RU, SY, TM, US

   In accordance with Rule 47.1(c-*bis*)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

3. The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does apply**, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93*bis*.1 :

   AE, AG, AL, AM, AO, AP, AT, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BZ, CA, CH, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, EA, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KM, KN, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LY, MA, ME, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, RS, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, TJ, TN, TR, TT, UA, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

   In accordance with Rule 47.1(c-*bis*)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4. **TIME LIMITS for entry into the national phase**

   For the designated or elected Office(s) listed above, the applicable time limit for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph,** be **30 MONTHS** from the priority date.

   In practice, **time limits other than the 30-month time limit** will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated or elected Office(s) listed above. For **regular updates on the applicable time limits** (30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at http://www.wipo.int/pct/en/index.html.

   It is the applicant's **sole responsibility** to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Authorized officer
Nora Lindner

e-mail: pt11.pct@wipo.int

ATTORNEY DOCKET NO. 0119374-093 (3056PC)

PATENT CO-OPERATION TREATY
SUB-AUTHORIZATION

The undersigned Agents of record in response of International Application No. **PCT/US2009/001486** filed **06 March 2009**, hereby appoint:

BOULT WADE TENNANT
Verulam Gardens
70 Gray's Inn Road
London WC1X 8BT
UNITED KINGDOM

to file the Demand under Chapter II in accordance with Article 31 of the PCT, and to receive and conduct all correspondence with the International Preliminary Examining Authority and to receive and conduct all correspondence with the International Bureau of World Intellectual Property Organization in Geneva, Switzerland.

Dated this 20th day of July 2009.

By: _____
Stephanie L. Seidman, Esq.
U.S. Registration No. 33,779

K&L GATES LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
United States of America
Telephone: (858) 509-7400
Facsimile: (858) 509-7460

Received at the EPO on Apr 30, 2010 16:45:45. Page 19 of 50

1288

PATENT COOPERATION TREATY

WO 2009/111083
PCT/US2009/001486

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
AVAILABILITY OF THE PUBLICATION
OF THE INTERNATIONAL APPLICATION

To:

SEIDMAN, Stephanie L.
K & L Gates LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)* 25 March 2010 (25.03.2010)		
Applicant's or agent's file reference 0119374-093	**IMPORTANT NOTICE**	
International application No. PCT/US2009/001486	International filing date *(day/month/year)* 06 March 2009 (06.03.2009)	Priority date *(day/month/year)* 06 March 2008 (06.03.2008)
Applicant HALOZYME, INC. et al		

The applicant is hereby **notified** that the International Bureau:

☐ has **published** the above-indicated international application on under No. WO

☑ has **republished** the above-indicated international application on 25 March 2010 (25.03.2010) under No. WO 2009/111083
For an explanation as to the reason for this republication of the international application, reference is made to INID codes (15), (48) or (88) (*as the case may be*) on the front page of the published international application.

A copy of the international application is available for viewing and downloading on WIPO's website at the following address: www.wipo.int/pctdb (in the appropriate field of the structured search, enter the PCT or WO number).

The applicant may also obtain a paper copy of the published international application from the International Bureau by sending an e-mail to patentscope@wipo.int or by submitting a written request to the contact details provided below.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Nora Lindner
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: pt11.pct@wipo.int

Form PCT/IB/311 (January 2009)

1289

PATENT COOPERATION TREATY

From the RECEIVING OFFICE

To:

STEPHANIE L. SEIDMAN
K&L GATES LLP
3580 CARMEL MOUNTAIN ROAD, SUITE 200
SAN DIEGO, CALIFORNIA 92130

PCT

NOTIFICATION CONCERNING PAYMENT OF PRESCRIBED FEES

(PCT Rules 12bis.1(c), 14, 15 and 16 and Administrative Instructions, Sections 102*bis*(c), 304, 323(b), 707(b) and 803)

Date of mailing *(day/month/year)*	08 May 2009
Applicant's or agent's file reference: 0119374-093 (3056PC)	**PAYMENT DUE** see item 3 for time limits

International application No.	International filing date/Date of receipt *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/US2009/001486	06 Mar 2009	06 Mar 2008

Applicant: HALOZYME, INC.

1. The applicant is hereby notified that this receiving Office has received:

☒ **the payment** of all the prescribed fees, and ☐ **an overpayment**, which will be refunded in due course.

☐ **no or insufficient payment** of the prescribed fees and the applicant is hereby **invited to pay the balance due**, as summarized under item 2, within the time limit(s) indicated under item 3.

2. **Fees and payment calculation:**

7,660.00	–	7,660.00	=	0.00
Total fees payable		Amount paid		Balance

☐ The details of the calculation are given in the Annex.

3. **Time limit(s) for payment and amount(s) payable (Rules 14.1, 15.4 and 16.1(f)):**

☐ within ONE MONTH from the date of receipt of the international application (**for the transmittal fee** (if any), **the search fee** and **the international filing fee**). The amount payable for each fee is the amount applicable on the date of receipt of the international application.

☐ within 16 MONTHS from the priority date (only for the fee for priority document). The applicant's attention is drawn to the fact that the request made by the applicant under Rule 17.1(b) will be considered not to have been made unless the fee is paid within that time limit.

4. Additional observations *(if necessary)*:

☐ The search copy will not be transmitted to the International Searching Authority until the search fee is paid (therefore the start of the international search will be delayed) (Rule 23.1(a) and (b)).

Name and mailing address of the receiving Office	Authorized officer
Mail Stop PCT, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450	LaShonnah Tyson
Facsimile No. 571-273-3201	Telephone No. 703-756-1445

Form PCT/RO/102 (July 2008)

1290

ANNEX TO FORM PCT/RO/102
CALCULATION OF THE PRESCRIBED FEES

International application No.
PCT/US2009/001486

T Transmittal Fee

Prescribed amount: . . . . . 240.00 T
Amount paid: . . . . . − 240.00
Balance: . . . . . = 0.00

☒ correct amount
☐ overpayment
☐ balance due

S Search Fee

Prescribed amount: . . . . . 2,164.00 S
Amount paid: . . . . . − 2,164.00
Balance: . . . . . = 0.00

☒ correct amount
☐ overpayment
☐ balance due

I International Filing Fee

Fixed amount for first 30 sheets: 1,210.00 i1

289 (Number of sheets in excess of 30) x 14.00 (Fee per sheet) = 4,046.00 i2

Additional component: . . .400 x 0.00 (Fee per sheet) = 0.00 i3

Reduction where the international application is filed *(See PCT Applicant's Guide, International Phase for details on the availability of this reduction)*:

using the PCT-EASY software: . . . . . − 0.00 r

or

in electronic form where the text of the description, claims and abstract **is not** in character coded format: . . . . . − 0.00 r

or

in electronic form where the text of the description, claims and abstract **is** in character coded format: . . . . . − 0.00 r

Sub-total: . . . . . = 5,256.00 i1+i2+i3-r

Applicants from certain States are entitled to a reduction of 90% of the international filing fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the total to be entered at I is 10% of the sub-total entered at (i1+i2+i3-r); (see Notes to the Fee Calculation Sheet as annexed to the Request Form, PCT/RO/101, for details): . . . . . = 5,256.00 I

Amount paid: . . . . . − 5,256.00
Balance: . . . . . = 0.00

☒ correct amount
☐ overpayment
☐ balance due

P Fee for Priority Document

Prescribed amount: . . . . . 0.00 P
Amount paid: . . . . . − 0.00
Balance: . . . . . = 0.00

☒ correct amount
☐ overpayment
☐ balance due

ES Fee for Earlier Search Documents

Prescribed amount: . . . . . 0.00 ES
Amount paid: . . . . . − 0.00
Balance: . . . . . = 0.00

☐ correct amount
☐ overpayment
☐ balance due

J291

PATENT COOPERATION TREATY

From the RECEIVING OFFICE

To:
STEPHANIE L. SEIDMAN
K&L GATES LLP
3580 CARMEL MOUNTAIN ROAD, SUITE 200
SAN DIEGO, CALIFORNIA 92130

Confirmation No: 6181

PCT

NOTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION NUMBER AND OF THE INTERNATIONAL FILING DATE

(PCT Rule 20.2(c))

Date of mailing *(day/month/year)*	08 May 2009
Applicant's or agent's file reference: 0119374-093 (3056PC)	**IMPORTANT NOTIFICATION**

International application No.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/US2009/001486	06 Mar 2009	06 Mar 2008

Applicant: HALOZYME, INC.

Title of the invention: IN VIOV TEMPORAL CONTROL OF ACTIVATABLE MATRIX-DEGRADING ENZYMES

1. The applicant is hereby notified that the international application has been accorded the international application number and the international filing date indicated above.

2. The applicant is further notified that the record copy of the international application:

☒ was transmitted to the International Bureau on 08 May 2009 .

☐ has not yet been transmitted to the International Bureau for the reason indicated below and a copy of this notification has been sent to the International Bureau*:

☐ because the necessary national security clearance has not yet been obtained.

☐ because *(reason to be specified)*:

* The International Bureau monitors the transmittal of the record copy by the receiving Office and will notify the applicant (with Form PCT/IB/301) of its receipt. Should the record copy not have been received by the expiration of 14 months from the priority date, the International Bureau will notify the applicant (Rule 22.1(c)).

3. FOREIGN TRANSMITTAL LICENSE INFORMATION Completed by: LT

☐ Additional license for foreign transmittal not required. This subject matter is covered by a license already granted or the equivalent U.S. national application. Refer to that license for information concerning its scope.

☐ License for foreign transmittal not required. 37 CFR. 5.11(e)(1) or 37 CFR 5.11(e)(2). However, a license may be required for additional subject matter. See 37 CFR 5.15(b).

☒ Foreign transmittal license granted. 35 U.S.C. 184; 37 CFR 5.11 on 04 May 2009 (date):

☐ 37 CFR 5.15(a) ☒ 37 CFR 5.15(b)

Name and mailing address of the receiving Office	Authorized officer
Mail Stop PCT, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450	LaShonnah Tyson
Facsimile No. 571-273-3201	Telephone No. 703-756-1445

Form PCT/RO/105 (July 2008)

1292

PATENT COOPERATION TREATY

IN THE UNITED STATES RECEIVING OFFICE

IN RE an international application
based upon the United States
Patent applications identified as:

Applicant: HALOZYME, INC.

Inventors: Gilbert A. KELLER; Gregory I. FROST

International Application entitled:

IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF
ACTIVATABLE MATRIX-DEGRADING ENZYMES

International Application No.:
International Filing Date:

Priorities: U.S. Provisional Application No. 61/068,667
Filed: 06 March 2008 (06.03.08); and
U.S. Provisional Application No. 61/127,725
Filed: 14 May 2008 (14.05.08)

Our Attorney Docket No.: **0119374-093 (3056PC)**

POWER OF ATTORNEY

Commissioner for Patent
Mail Stop PCT
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Sir:

The undersigned applicant hereby revokes all prior appointments of agents or representatives, and appoints the following attorneys and agents as applicant's agent to act on applicant's behalf before the competent International Authorities in connection with the international application identified above, and requests that all correspondence in respect to this application be directed to them at K&L GATES LLP, 3580 Carmel Mountain Road, Suite 200, San Diego, California 92130, U.S.A.:

PCT POWER (HALOZYME)
Continued...Page 2

Attorney/Agent	U.S. Registration No.
Stephanie L. Seidman	33,779
Frank J. Miskiel	53, 332
Karen G. Potter	57, 254

Address for correspondence:

Stephanie L. Seidman, Esq.
K&L GATES LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
Telephone: (858) 509-7400
Facsimile: (858) 509-7460
E-mail: stephanie.seidman@klgates.com

HALOZYME, INC.

Place: ~~3/6/09~~ San Diego

By: _____

Name:
Title:

Date: 3/6/09

PATENT COOPERATION TREATY

IN THE UNITED STATES RECEIVING OFFICE

IN RE an international application
based upon the United States
Patent applications identified as:

Applicant: HALOZYME, INC.

Inventors: Gilbert A. KELLER; Gregory I. FROST

International Application entitled:

IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF
ACTIVATABLE MATRIX-DEGRADING ENZYMES

International Application No.:
International Filing Date:

Priorities: U.S. Provisional Application No. 61/068,667
Filed: 06 March 2008 (06.03.08); and
U.S. Provisional Application No. 61/127,725
Filed: 14 May 2008 (14.05.08)

Our Attorney Docket No.: **0119374-093 (3056PC)**

POWER OF ATTORNEY

Commissioner for Patent
Mail Stop PCT
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Sir:

The undersigned applicant hereby revokes all prior appointments of agents or representatives, and appoints the following attorneys and agents as applicant's agent to act on applicant's behalf before the competent International Authorities in connection with the international application identified above, and requests that all correspondence in respect to this application be directed to them at K&L GATES LLP, 3580 Carmel Mountain Road, Suite 200, San Diego, California 92130, U.S.A.:

1295

PCT POWER (INVENTORS)
Continued...Page 2

Attorney/Agent	U.S. Registration No.
Stephanie L. Seidman	33,779
Frank J. Miskiel	53, 332
Karen G. Potter	57, 254

Address for correspondence:

Stephanie L. Seidman, Esq.
K&L GATES LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
Telephone: (858) 509-7400
Facsimile: (858) 509-7460
E-mail: stephanie.seidman@klgates.com

(1)
Place: SAN DIEGO

GILBERT A. KELLER
Signature

Date: March 5/09

(2)
Place: San Diego

GREGORY I. FROST
Signature

Date: 3/6/09

1296

PATENT COOPERATION TREATY PCT/US2009/001486

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

To:

SEIDMAN, Stephanie L.
K & L Gates LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*	IMPORTANT NOTIFICATION
08 May 2009 (08.05.2009)	
Applicant's or agent's file reference	International application No.
0119374-093	PCT/US2009/001486

The applicant is hereby **notified** that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

HALOZYME, INC. (for all designated States except US)
KELLER, Gilbert, A. et al (for US)

International filing date: 06 March 2009 (06.03.2009)

Priority date(s) claimed: 06 March 2008 (06.03.2008)
14 May 2008 (14.05.2008)

Date of receipt of the record copy by the International Bureau: 07 May 2009 (07.05.2009)

List of designated Offices:

AP: BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW
EA: AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
EP: AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR
OA: BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

ATTENTION: The applicant should carefully check the data appearing in this notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau. **In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex**, relating to:

- time limits for entry into the national phase - **see updated important information (as of April 2002)**
- requirements regarding priority documents (if applicable)

A copy of this notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Authorized officer
Ulhaq Faizan
e-mail pt11.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 11

1293

ANNEX TO FORM PCT/IB/301

International application No.
PCT/US2009/001486

INFORMATION ON ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the **"national phase" must be entered** before each of the designated Offices indicated on the cover sheet of this notification by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by Articles 22 and 39 and the applicable national laws. In addition, the applicant may also have to comply with **other special requirements** applicable in certain Offices. It is the **applicant's responsibility** to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

The **applicable time limit** for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **30 MONTHS** from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date (see Article 39(1)), but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, **time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time**, in respect of certain designated or elected Offices. For **regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit)**, Office by Office, refer to the *PCT Gazette* ("Section IV" part published on a weekly basis), to the *PCT Newsletter* (on a monthly basis) and to the relevant National Chapters in Volume II of the *PCT Applicant's Guide* (the paper version of which is updated usually twice a year and the Internet version of which is updated usually on a weekly basis). Finally, a cumulative table of all applicable time limits for entering the national phase is available from WIPO's Internet site, via links from various pages of the site, including those of the *Gazette*, *Newsletter* and *Guide*, at http://www.wipo.int/pct/en/index.html.

Information about the requirements for **filing a demand for international preliminary examination** is set out in the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before the date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau and if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances (Rule 17.1(c)).

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit (and all other PCT time limits) is the filing date of the earliest application whose priority is claimed (Article 2(xi)(b)).

Jd 98

PATENT COOPERATION TREATY PCT/US2009/001486

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

SEIDMAN, Stephanie L.
K & L Gates LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)* 11 May 2009 (11.05.2009)	
Applicant's or agent's file reference 0119374-093	**IMPORTANT NOTIFICATION**
International application No. PCT/US2009/001486	International filing date *(day/month/year)* 06 March 2009 (06.03.2009)
International publication date *(day/month/year)* **Not yet published**	Priority date *(day/month/year)* 06 March 2008 (06.03.2008)
Applicant HALOZYME, INC. et al	

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).

2. *(If applicable)* The **letters "NR"** appearing in the right-hand column denote **a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau** under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

3. *(If applicable)***An asterisk (*)** appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes **a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b)** (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
06 March 2008 (06.03.2008)	61/068,667	US	07 May 2009 (07.05.2009)
14 May 2008 (14.05.2008)	61/127,725	US	07 May 2009 (07.05.2009)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Authorized officer
Nora Lindner
e-mail PT11.PCT@WIPO.INT
Telephone No. +41 22 338 74 11

12 99

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

BELL, BOYD & LLOYD LLP
Attn. Seidman, Stephanie L.
3580 Carmel Mountain Road
Suite 200
San Diego, CA 92130-9015
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

NOTIFICATION OF DECISION CONCERNING
REQUEST FOR RECTIFICATION

(PCT Rule 91.3(a) and (d))

Applicant's or agent's file reference 0119374-093 (3056PC)	Date of mailing *(day/month/year)* 28/07/2009
International application N°. PCT/US2009/001486	**REPLY DUE** NONE However, see last paragraph below
Applicant HALOZYME, INC.	International filing date *(day/month/year)* 06/03/2009

The applicant is hereby notified that this International Searching Authority has considered the request for rectification of obvious errors in the international application/in other papers submitted by the applicant to this Authority, and that it has decided:

1. a. [X] to authorize the rectification:

   [ ] as requested by the applicant.

   [X] to the extent set forth below*:

   Pages 1 (part.), 5, 6, 8, 9, 16, 17, 18, 19, 24 (part.), 30, 41, 61, 62, 83,
   84, 96, 195, 202, 207, 286, 292, 295, 298

   b. [X] The rectification **will be or has been taken into account** for the purposes of the international search (Rule 43.6*bis* (a)).

   [ ] The rectification **has not been taken into account** because it was authorized by this Authority after this Authority has begun to draw up the international search report (Rule 43.6*bis* (b)).

2. [X] to refuse to authorize the rectification or part of it for the following reasons*:

   Pages 23, 98, 132, 137, 138, 188, 201, 299 (see annex)

A copy of this notification, together with a copy of the applicant's request for rectification, has been sent to the receiving Office and to the International Bureau.

* **If the authorization of the rectification has been refused in whole or in part,** the applicant may request the International Bureau, within two months from the date of the refusal and subject to the payment of a special fee, to publish the request for rectification and the reasons for refusal by this Authority and any further brief comments that may be submitted by the applicant together with the international application. See rule 91.3(d) and, for the amount of the fee, see the **PCT Applicant's Guide,** Volume I, Annex B2(IB).

Name and mailing address of the International Searching Authority European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Gabriele Pfitzner

Form PCT/ISA/217 (April 2007)

****** RECORD COPY ******

1300

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/217

According to Rule 91.1 (c) PCT rectifications shall not be authorized if it was not obvious
- that something else was intended in the document concerned or
- that nothing else could have been intended that the proposed rectification.

In view of the number of sequence listings contained in the application as filed, it cannot be regarded as obvious that in some occasions, something else had been intended. It is even less obvious that nothing else but the proposed rectification had been intended.

Concerning the replacement of the Attorney Dkt. No. by the U.S. Patent Application Serial No. it has to be noted that at the date of filing the correction was not obvious.

In a number sequence it is neither obvious for a reader that an error has occurred nor how it should be corrected.

It follows that the following rectifications are not allowable:
- page 1, lines 11-12, line 16: replacement by U.S. Patent Application Serial No.
- page 23,
- page 24, line 16
- page 98
- page 132
- page 137
- page 138
- page 188
- page 201 (the correction of a Company's name cannot be regarded as obvious)
- page 299, claim 140, line 24 (refers to claim 127, which discloses one ore more additional containers; as a consequence, the mistake is not obvious)

PATENT COOPERATION TREATY

WO 2009/111083
PCT/US2009/001486

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
AVAILABILITY OF THE PUBLICATION
OF THE INTERNATIONAL APPLICATION

To:

SEIDMAN, Stephanie L.
K & L Gates LLP
3580 Carmel Mountain Road, Suite 200
San Diego, California 92130
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)* 11 September 2009 (11.09.2009)		
Applicant's or agent's file reference 0119374-093	**IMPORTANT NOTICE**	
International application No. PCT/US2009/001486	International filing date *(day/month/year)* 06 March 2009 (06.03.2009)	Priority date *(day/month/year)* 06 March 2008 (06.03.2008)
Applicant HALOZYME, INC. et al		

The applicant is hereby **notified** that the International Bureau:

☑ has **published** the above-indicated international application on 11 September 2009 (11.09.2009) under No. WO 2009/111083

☐ has **republished** the above-indicated international application on under No. WO
For an explanation as to the reason for this republication of the international application, reference is made to INID codes (15), (48) or (88) (*as the case may be*) on the front page of the published international application.

A copy of the international application is available for viewing and downloading on WIPO's website at the following address: www.wipo.int/pctdb (in the appropriate field of the structured search, enter the PCT or WO number).

The applicant may also obtain a paper copy of the published international application from the International Bureau by sending an e-mail to patentscope@wipo.int or by submitting a written request to the contact details provided below.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70	Authorized officer Nora Lindner e-mail: pt11.pct@wipo.int

Form PCT/IB/311 (January 2009)

1302

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ _____

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty.

For International Preliminary Examining Authority use only

Identification of IPEA	Date of receipt of DEMAND

Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION

Applicant's or agent's file reference: P108501WO00

International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority date *(day/month/year)*
PCT/US2009/001486	6 MARCH 2009	6 MACH 2008

Title of invention

IN VIVO TEMPORAL CONTROL OF ACTIVATABLE MATRIX-DEGRADING ENZYMES

Box No. II APPLICANT(S)

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

HALOZYME, INC.
11388 Sorrento Valley Road
San Diego, California 92121
United States of America

Telephone No.

Facsimile No.

Applicant's registration No. with the Office

☐ **E-mail authorization**: Marking this check-box authorizes the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (*See also the Notes to Box No. II.*)

E-mail address

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
US	US

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

FROST; Gregory I,
13662 Mercado Drive
Del Mar, California 92014
United States of America

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
US	US

☐ Further applicants are indicated on a continuation sheet.

1303

International application No.
PCT/US2009/001486

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is ☒ agent ☐ common representative

and ☐ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.

☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.

☒ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.

Name and address: *(Family name followed by given name: for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

BALDOCK; SHARON CLAIRE
BOULT WADE TENNANT
VERULAM GARDENS
70 GRAY'S INN ROAD
LONDON WC1X 8BT
UNITED KINGDOM

Telephone No.
+44 (0)20 7430 7500

Facsimile No.
+44 (0)20 7430 7600

Agent's registration No. with the Office

☐ **E-mail authorization:** Marking this check-box authorizes the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. *(See also the Notes to Box No. II.)*

E-mail address

☐ **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION

Statement concerning amendments:*

1. The applicant wishes the international preliminary examination **to start on the basis of:**

☐ the international application as originally filed

the description ☒ as originally filed
☐ as amended under Article 34

the claims ☐ as originally filed
☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)
☒ as amended under Article 34

the drawings ☐ as originally filed
☐ as amended under Article 34

2. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.

3. ☐ Where the IPEA wishes to start the international preliminary examination at the same time as the international search in accordance with Rule 69.1(b), the applicant requests the IPEA **to postpone** the start of the international preliminary examination until the expiration of the applicable time limit under Rule 69.1(d).

4. ☐ The applicant expressly wishes the international preliminary examination **to start earlier** than at the expiration of the applicable time limit under Rule 54*bis*.1(a).

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: ENGLISH

☐ which is the language in which the international application was filed.
☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.
☐ which is the language of publication of the international application.
☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.

Box No. V ELECTION OF STATES

The filing of this demand constitutes the election of all Contracting States which are designated and are bound by Chapter II of the PCT.

13.04

International application No.
PCT/US2009/001486

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

				For International Preliminary Examining Authority use only: received	not received
1. translation of international application	:		sheets	☐	☐
2. amendments under Article 34	:	10	sheets	☐	☐
3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19	:		sheets	☐	☐
4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19	:		sheets	☐	☐
5. letter	:	18	sheets	☐	☐
6. other *(specify)* Claims showing amendment Sub-authorisation form	:	17	sheets	☐	☐

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ original separate power of attorney
3. ☐ original general power of attorney
4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:
5. ☐ statement explaining lack of signature
6. ☐ sequence listing in electronic form
7. ☐ tables in electronic form related to a sequence listing
8. ☒ other *(specify)*: Debit Order No. P108501WO00

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

S L C Baldock

BALDOCK; SHARON CLAIRE
Chartered UK Patent Attorney/European Patent Attorney
Boult Wade Tennant

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply.
   ☐ The applicant has been informed accordingly.
4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.
5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.
6. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of the time limit under Rule 54*bis*.1(a) and item 7 or 8, below, does not apply.
7. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit under Rule 54*bis*.1(a) as extended by virtue of Rule 80.5.
8. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of the time limit under Rule 54*bis*.1(a), the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

1305

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-111097- -00000-0000
Fecha: 2010-09-08 14:53:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 1305

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D` ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
HALOZYME INC

REFERENCIA	Radicación No.	10 111097
	Solicitud internacional	PCT/US2009/001486
	Fecha inicio fase nacional	06/10/2010
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	14333

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. El solicitante debe presentar un nuevo titulo que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el titulo relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

3. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Continua en la página siguiente...

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No 10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 05 NOV. 2010.
adpa11

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 Pisos 2, 5 , 7 y 10 PBX: 5870000
Sede CAN: Av. Cra 50 No. 26-55 int. 2 Tel: 5880070
Call Center 6513240. Línea 01800-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia