



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N°

07-32754

54. TÍTULO

"COMPOSICION INMUNOGENICA ESTAFILOCOGICA"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61K 39/085

71. SOLICITANTE

GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.

DOMICILIO

RIXENSART, BELGICA

74. REPRESENTANTE LEGAL

ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C.

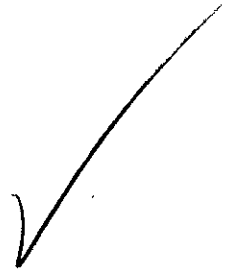
30 MAR 2007

Fe. 27-04-2007

(60.5)

(Complement. 5 folios 26-01-2007)

(FORMA P 10)



PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-032754-00000-0000
Fec 2007-03-30 10:54:11 Dep 20070330
118 11 PATENTE/II
EVS 3/4 FASE NACIONAL
Act 411 PRESENTACION FOLIO 243

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención☐ Patente de Modelo de Utilidad☐ Capítulo I☒ Capítulo II

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre **GLAXOSMITHKLINE
BIOLOGICALS S.A.**
Dirección Rue de l'Institut 89, B-1330
Rixensart, Bélgica
Nacionalidad o Domicilio Rixensart,
Bélgica
Lugar de Constitución Bélgica
Teléfono 3264270 Fax 6069701
E-mail jlcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre **ALICIA LLOREDICA RICARTE**
Dirección. Calle 72 No 5-83 Piso 5º,
Bogotá, Colombia
Teléfono 3264270 Fax. 6069701
E-mail jlcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690 713 TP 53 215

④

INVENTOR(ES)
(72)

Nombre **CASTADO, Cindy; LECRENIER, Nicolas, Pierre, Fernand; NEYT,
Cecile, Anne y POOLMAN, Jan**
Dirección GlaxoSmithKline Biologicals s a, Rue de l'Institut 89, B-1330,
Rixensart
Nacionalidad o Domicilio Bélgica.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No PCT/EP2005/010260Fecha 20/09/05Publicación Internacional No. WO 2006/032500 A3Fecha. 30/03/06

⑥

Título (54)

"COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA ESTAFILOCÓCICA"

⑦

Clasificación Internacional (51) A61K 39/085

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

GB

22/09/04

0421079 5

GB

22/09/04

0421082 9

GB

22/09/04

0421081 1

GB

22/09/04

0421078 7

GB

15/02/05

0503143 0

⑨

Comprobante de Pago No. 07-21.324Fecha: 13 de Marzo de 2007

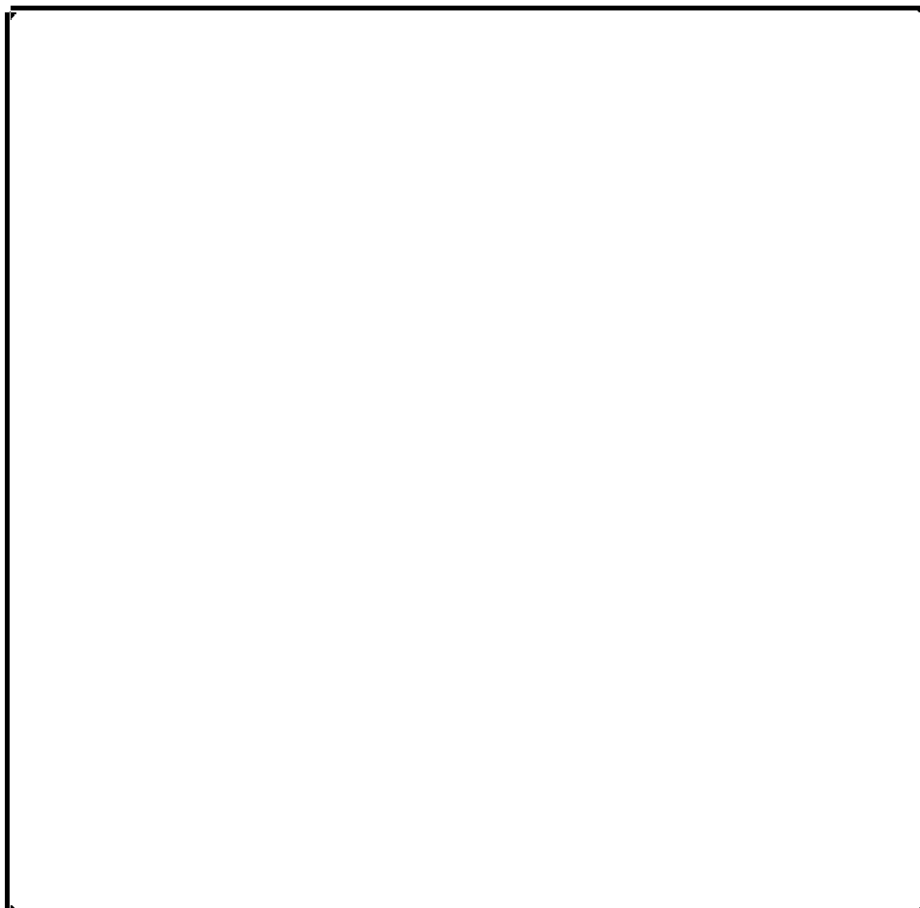
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Documento de Representación Legal
- ☐ 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, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad
- ☒ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☒ Otros reporte de búsqueda internacional con su traducción, publicación con su traducción, capítulo reivindicatorio como fue originalmente presentado en fase internacional con su traducción, opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional con su traducción y anexo explicativo de modificaciones a las reivindicaciones

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA

C.C. 39 690 713

T.P. 53.215

2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rsd 07-032754- 00000-0000
Fec 2007-03-30 10:54 11 Dep 2020 NUECREACIONES
Ita 11 PATENTECIPIII
Eva 3/4 FASE NACIONALII
Act 411 PRESENTACION Folios 243

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-7

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 21,324
FECHA : MARZO 13 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	55738182	13/03/2007	5,070,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-21-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
	TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

2

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

4

TRADUCCION OFICIAL No 2004-09-09-466
DE LAS PARTES PERTINENTES DE UN DOCUMENTO
PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Certificado Notarial (Sociedad) documento también escrito en inglés y en español

Notarización, documento escrito en español

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte

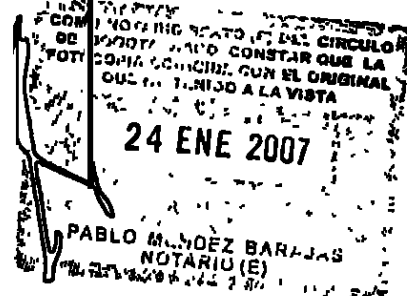
- 1 País. Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento público
2. ha sido firmado James Kerr Milligan
- 3 actuando como Notario Público
- 4 lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 01 de septiembre de 2004
- 7 por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y del Commonwealth
- 8 Número **G 749037**
9. Sello/Estampilla
- 10 Firma. (ilegible)

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



A

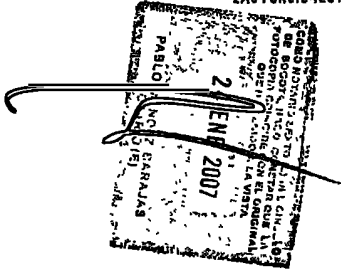
MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

260567
Anita Escobar
Cuya firma aparece en el
documento desempeña
las funciones indicadas

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET 10 A 10 47

ms
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.



Sello de la Oficina de Asuntos
Exteriores y del Commonwealth

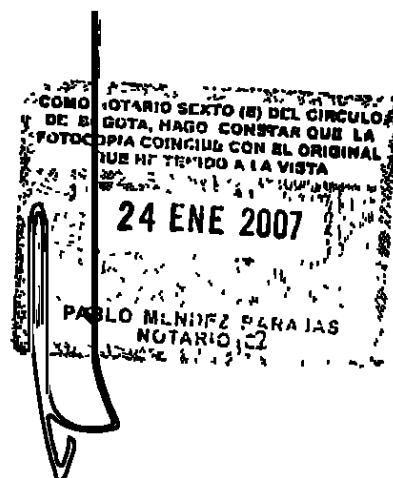
W Glass
Por el Secretario de Estado

Si este documento se va a usar en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, debe presentarse a la sección consular de la misión que representa a ese país. Una apostilla o certificado de legalización únicamente confirma que la firma, sello o estampilla sobre el documento es auténtica. No significa que los contenidos del documento sean correctos o que la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth apruebe los contenidos.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 9 de septiembre de 2004, en la ciudad de Bogotá, D C, por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



Yo, el infrascrito, **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

C E R T I F I C O:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad denominada "**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**" (anteriormente denominada "**Smithkline Beecham Biologicals s.a.**"), Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Bélgica, con domicilio social en Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Bélgica;

QUE el citado Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON** está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 12 de junio de 2002, cuyo original he tenido a la vista.

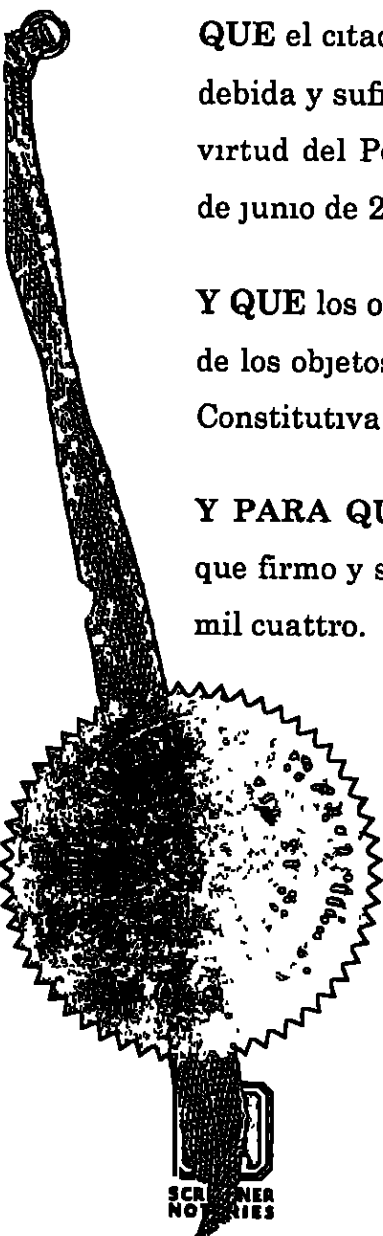
Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE y obre los efectos conducentes expido la presente que firmo y sello en Londres, el día de hoy primero de septiembre del año dos mil cuatro.

Handwritten signature of James Kerr Milligan

JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra

COPIA NOTARIO SEYTO (M) DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAQU CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE T. VIDO A LA VISTA
24 ENE 2007
PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO (E)



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961/Convention de La Haye du 5 octobre)

- 1 Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document/Le present acte public

- 2 has been signed by a été signé par **James Keer Milligan**
3 acting in the capacity of agissant en qualité de **Notary Public**
4 bears the seal/stamp of est revêtu du sceau/timbre de **Notary Public**

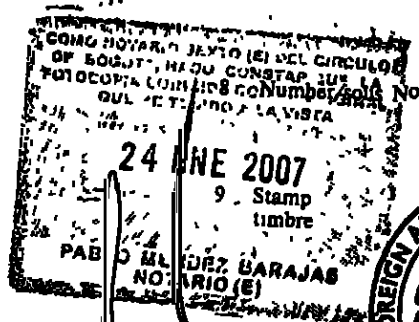
Certified/Atteste

- 5 at London/à Londres

6 the/le

01 SEP 2004

- 7 by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs/
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.



G 749037



- 10 Signature. **WGLASS**

WGLASS

For the Secretary of State/Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

Los abajo firmados, **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Bélgica

con domicilio en **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Bélgica**

nombramos por el presente a **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No 5-83, piso 6o, nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o del artículo 543 del decreto 410 de 1971

Los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones, instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses, y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno tanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio

Asimismo, facultamos a los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, a corporation organized and existing under the laws of Belgium

domiciled at **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Belgium**

hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o of article 543 of decree 410 of 1971

Doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end, to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions, file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests, and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit

We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this

Marcus Jonathan William DARTON
Marcus Jonathan William DARTON
Attorney and Authorised Officer

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

31 AUG 2004
24 ENE 2007

COMO NOTARIO JEFTE (E) DE CIRCULO
NOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA

PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO (E)

7

B

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Bélgica

{ss

Hoy de de 200 , compareció , a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es de **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de **Bélgica**, domiciliada en la ciudad de **Rixensart, Bélgica**, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social, conforme a las leyes de que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder, que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella, y que el objeto para el cual se confiere este instrumento es comprendido dentro del de la sociedad El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en con fecha , y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe

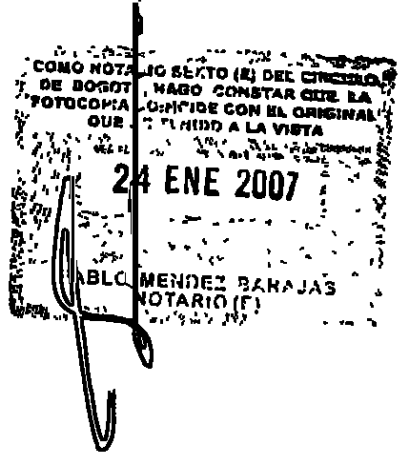
Notary Public (Notario Público)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Belgium

{ss

On this day of , 200 , personally came , to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the of **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the **Belgium**, domiciled at the City of **Rixensart, Belgium**, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of , that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney, that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof, and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at , under date of , and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests



B

9

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente CLJ/VB61058	PARA FUTURAS ACCIONES	ver Forma PCT/ISA/220 así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación
Solicitud internacional No PCT/EP2005/010260	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 20/09/2005	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 22/09/2004
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S A		

Este reporte de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional.

Este reporte de búsqueda internacional consta de un total de 6 hojas

☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte

1 Bases del reporte

a Respecto al lenguaje, la búsqueda internacional se llevó a cabo con base en

☒ la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó

☐ una traducción de la solicitud internacional en _____, la cual es el lenguaje de una traducción suministrada para los propósitos de búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).

b ☒ Respecto a una secuencia de ácido nucleótido y/o amino revelado en la solicitud internacional, ver Casilla No. I

2 ☒ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Casilla No. II)

3 ☐ Falta unidad de invención (ver Casilla No. III)

4 Respecto al título,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante

☐ Esta Autoridad ha establecido que el texto se lea así:

5 Respecto al resumen,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante

☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Regla 38.2(b), según aparece en la Casilla No. IV. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad.

6 Respecto a los dibujos,

a La figura de los dibujos que se publicará con el resumen es la Figura No. _____

☐ como lo sugirió el solicitante

☐ como lo selecciono esta Autoridad, porque el solicitante no sugirió una figura

☐ como lo selecciono esta Autoridad, porque esta figura caracteriza mejor a la invención

b ☒ ninguna de las figuras es para ser publicada con el resumen

10

Casilla No. I Secuencia(s) de ácido nucleótido y/o aminoácido (Continuación del ítem 1.b de la primera hoja)

- 1 Con respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia de aminoácido revelados en la solicitud internacional y necesarios para la invención reivindicada, la búsqueda internacional se realizó sobre la base de
 - a tipo de material
 - ☒ un listado de secuencias
 - ☐ tabla(s) relacionada(s) con el listado de secuencia
 - b formato del material
 - ☒ en formato escrito
 - ☒ en una forma legible para computadora
 - c. momento de presentación/suministro
 - ☐ contenido en la solicitud internacional tal como se presentó
 - ☐ presentado junto con la solicitud internacional en forma legible para computadora
 - ☒ suministrado subsecuentemente a esta Autoridad para el propósito de la búsqueda
- 2 ☒ Adicionalmente, en el caso de que más de una versión o copia de un listado de secuencias y/o tabla en relación con aquello haya sido presentada o suministrada, o se suministraron, tal como es apropiado, las afirmaciones requeridas de que la información en las copias subsecuentes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud tal como se presentó o no va más allá de la solicitud tal como se presentó
- 3 Comentarios adicionales

11

Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 2 de la primera hoja)

Este Reporte de Búsqueda Internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones

- 1 ☒ Reivindicaciones Nos. 16 (en parte)
porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber Aunque la reivindicación 16 está dirigida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del compuesto/composición.
2. ☐ Reivindicaciones Nos. porque se relacionan con partes de la Solicitud Internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente.
- 3 ☐ Reivindicaciones Nos..
porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 3 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables
- 2 ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales
- 3 ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos
- 4 ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones, está cubierto por las reivindicaciones Nos.

Comentario sobre Protesta ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.
☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No
PCT/EP2005/010260

12

A. CLASIFICACION DE MATERIA OBJETO

A61K39/085 A61K39/116 A61P31/04 A61K39/385

Segun la Clasificación de Patente Internacional (IPC) o segun la clasificación nacional y la IPC

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentacion mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

A61K

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

EPO-Internacional, WPI Dato, PAJ, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No
X	WO 00/03745 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 de Enero de 2000 (2000-01-27) página 2, línea 26 – página 3, línea 2 página 23, línea 14 – página 24, línea 4 página 36, línea 11 – página 38, línea 16 reivindicación 89	1-17
X	WO 2004/043405 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 de Mayo de 2004 (2004-05-27) página 2, línea 9 – página 3, línea 2 página 17, línea 24 – página 18, línea 8 página 32, línea 17 – página 34, línea 27 reivindicación 89	1-17

☒ En el recuadro C se enumeran más documentos

* Categorías especiales de documentos citados

'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular

'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional

'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicacion de otra citación u otra razon especial (segun se especifica)

'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios

'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada

Fecha de la terminación real de la busqueda internacional

20 de Marzo de 2006

Nombre y dirección de correo de la ISA/
Oficina de Patentes Europea, P B 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes

'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoria que sustenta la invención

'X' documento de relevancia particular, la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo

'Y' documento de relevancia particular, la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o mas documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica

'&' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

27/03/2006

Funcionario autorizado

Ulbrecht, M

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2005/010260

13

C (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No
P, X	WO 2004/080490 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION, PAVLIAK, VILIAM, BAKER, STEVEN, MORRIS; PI) 23 de Septiembre de 2004 (2004-09-23) el documento completo	1-17
A	----- US 6 703 025 B1 (PATTI JOSEPH M Y COL) 9 de Marzo de 2004 (2004-03-09) columna 10, línea 33 - columna 24, línea 33	1, 4-8, 11, 14-17
A	----- US 2004/072748 A1 (BALABAN NAOMI) 15 de Abril de 2004 (2004-04-15) párrafo [0125] - párrafo [0132] párrafo [0216] - párrafo [0218] reivindicaciones 1-14	1, 4-8, 11, 14-17
A	----- US 2002/169288 A1 (HOOK MAGNUS Y COL) 14 de Noviembre de 2002 (2002-11-14) párrafo [0048] - párrafo [0055] reivindicación 1	1, 4-8, 11, 14-17
A	----- WO 93/09811 A (UNIVAX BIOLOGICS, INC; FATTOM, ALI, IBRAHIM; WRIGHT, D., CRAIG) 27 de Mayo de 1993 (1993-05-27) página 2, línea 21 - página 3, línea 12 página 8, línea 22 - línea 37 reivindicaciones 1, 2, 8	1, 9, 14-17
A	----- US 2003/113350 A1 (FATTOM ALI I Y COL) 19 de Junio de 2003 (2003-06-19) párrafo [0033] - párrafo [0046] párrafo [0013] - párrafo [0018] -----	1-17

15

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No

PCT/EP2005/010260

14

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda		Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes		Fecha de publicación
WO 0003745	A	27-01-2000	AU	771563 B2	25-03-2004
			AU	5000199 A	07-02-2000
			CA	2333931 A1	27-01-2000
			EP	1096952 A2	09-05-2001
			JP	2002520374 T	09-07-2002
WO 2004043405	A	27-05-2004	AU	2003295520 A1	03-06-2004
			BR	0316018 A	20-09-2005
			CA	2501077 A1	27-05-2004
			CN	1708506 A	14-12-2005
			EP	1565478 A2	24-08-2005
WO 2004080490	A	23-09-2004	AU	2004220590 A1	23-09-2004
			CA	2517439 A1	23-09-2004
			EP	1601381 A2	07-12-2005
US 6703025	B1	09-03-2004	NINGUNO		
US 2004072748	A1	15-04-2004	NINGUNO		
US 2002169288	A1	14-11-2002	NINGUNO		
WO 9309811	A	27-05-1993	AT	237351 T	15-05-2003
			AU	681573 B2	04-09-1997
			AU	3074792 A	15-06-1993
			CA	2123811 A1	27-05-1993
			DE	69233012 D1	22-05-2003
			DE	69233012 T2	06-11-2003
			DK	648127 T3	19-05-2003
			EP	0648127 A1	19-04-1995
			ES	2198405 T3	01-02-2004
			FI	942359 A	20-05-1994
			JP	7508498 T	21-09-1995
			JP	2004155789 A	03-06-2004
US 2003113350	A1	19-06-2003	CA	2460749 A1	31-07-2003
			CN	1638794 A	13-07-2005
			EP	1427442 A2	16-06-2004
			JP	2005515237 T	26-05-2005
			MX	PA04002624 A	17-02-2005
			WO	03061558 A2	31-07-2003
			ZA	200402185 A	25-04-2005

A

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference CLJ/VB61058	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below	
International application No PCT/EP2005/010260	International filing date (day/month/year) 20/09/2005	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 22/09/2004
Applicant GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau

This international search report consists of a total of 6 sheets

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report

1 Basis of the report

a With regard to the language, the international search was carried out on the basis of

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12 3(a) and 23 1(b))

b ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No I

2 ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No II)

3 ☐ Unity of invention is lacking (see Box No III)

4 With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant

☐ the text has been established by this Authority to read as follows

5 With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant

☐ the text has been established, according to Rule 38 2(b), by this Authority as it appears in Box No IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6 With regard to the drawings,

a the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No _____

☐ as suggested by the applicant

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b ☒ none of the figures is to be published with the abstract

AB

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/010260

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.b of the first sheet)

- 1 With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of
- a type of material
- ☒ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing
- b format of material
- ☒ on paper
- ☒ in electronic form
- c time of filing/furnishing
- ☐ contained in the international application as filed
- ☐ filed together with the international application in electronic form
- ☒ furnished subsequently to this Authority for the purpose of search
- 2 ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished
- 3 Additional comments

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/010260

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons

- 1

☒

Claims Nos. 16 (partially)
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely
Although claim 16 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
- 2

☐

Claims Nos
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
- 3

☐

Claims Nos
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6 4(a)

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows

- 1

☐

As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims
- 2

☐

As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee
- 3

☐

As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos
- 4

☐

No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims, it is covered by claims Nos.

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/010260

A CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K39/085 A61K39/116 A61P31/04 A61K39/385		
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		
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, PAJ, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
X	WO 00/03745 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 January 2000 (2000-01-27) page 2, line 26 - page 3, line 2 page 23, line 14 - page 24, line 4 page 36, line 11 - page 38, line 16 claim 89	1-17
X	WO 2004/043405 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 May 2004 (2004-05-27) page 2, line 9 - page 3, line 2 page 17, line 24 - page 18, line 8 page 32, line 17 - page 34, line 27 claim 89	1-17
----- -/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C ☒ 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 "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 March 2006		Date of making of the international search report 27/03/2006
Name and mailing address of the ISA/ 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 Ulbrecht, M

2/1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/010260

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
P,X	WO 2004/080490 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION; PAVLIAK, VILIAM; BAKER, STEVEN, MORRIS; PI) 23 September 2004 (2004-09-23) the whole document	1-17
A	US 6 703 025 B1 (PATTI JOSEPH M ET AL) 9 March 2004 (2004-03-09) column 10, line 33 - column 24, line 33	1,4-8, 11,14-17
A	US 2004/072748 A1 (BALABAN NAOMI) 15 April 2004 (2004-04-15) paragraph [0125] - paragraph [0132] paragraph [0216] - paragraph [0218] claims 1-14	1,4-8, 11,14-17
A	US 2002/169288 A1 (HOOK MAGNUS ET AL) 14 November 2002 (2002-11-14) paragraph [0048] - paragraph [0055] claim 1	1,4-8, 11,14-17
A	WO 93/09811 A (UNIVAX BIOLOGICS, INC; FATTOM, ALI, IBRAHIM; WRIGHT, D., CRAIG) 27 May 1993 (1993-05-27) page 2, line 21 - page 3, line 12 page 8, line 22 - line 37 claims 1,2,8	1,9, 14-17
A	US 2003/113350 A1 (FATTOM ALI I ET AL) 19 June 2003 (2003-06-19) paragraph [0033] - paragraph [0046] paragraph [0013] - paragraph [0018]	1-17

26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2005/010260

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0003745 A	27-01-2000	AU 771563 B2 AU 5000199 A CA 2333931 A1 EP 1096952 A2 JP 2002520374 T	25-03-2004 07-02-2000 27-01-2000 09-05-2001 09-07-2002
WO 2004043405 A	27-05-2004	AU 2003295520 A1 BR 0316018 A CA 2501077 A1 CN 1708506 A EP 1565478 A2	03-06-2004 20-09-2005 27-05-2004 14-12-2005 24-08-2005
WO 2004080490 A	23-09-2004	AU 2004220590 A1 CA 2517439 A1 EP 1601381 A2	23-09-2004 23-09-2004 07-12-2005
US 6703025 B1	09-03-2004	NONE	
US 2004072748 A1	15-04-2004	NONE	
US 2002169288 A1	14-11-2002	NONE	
WO 9309811 A	27-05-1993	AT 237351 T AU 681573 B2 AU 3074792 A CA 2123811 A1 DE 69233012 D1 DE 69233012 T2 DK 648127 T3 EP 0648127 A1 ES 2198405 T3 FI 942359 A JP 7508498 T JP 2004155789 A	15-05-2003 04-09-1997 15-06-1993 27-05-1993 22-05-2003 06-11-2003 19-05-2003 19-04-1995 01-02-2004 20-05-1994 21-09-1995 03-06-2004
US 2003113350 A1	19-06-2003	CA 2460749 A1 CN 1638794 A EP 1427442 A2 JP 2005515237 T MX PA04002624 A WO 03061558 A2 ZA 200402185 A	31-07-2003 13-07-2005 16-06-2004 26-05-2005 17-02-2005 31-07-2003 25-04-2005

20

23

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
30 de Marzo de 2006 (30.03.2006)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2006/032500 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61K 39/085 (2006 01) A61P 31/04 (2006 01)
A61K 39/116 (2006 01) A61K 39/385 (2006 01)

(74) Agente: LUBIENSKI, Michael, John, GlaxoSmithKline,
Corporate Intellectual Property (CN925 1), 980 Great West
Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB)

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2005/010260

(22) Fecha de Registro Internacional:
20 de Septiembre de 2005 (20 09 2005)

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad

0421079 5 22 de Septiembre de 2004 (22 09 2004) GB
0421082 9 22 de Septiembre de 2004 (22 09 2004) GB
0421081 1 22 de Septiembre de 2004 (22 09 2004) GB
0421078 7 22 de Septiembre de 2004 (22 09 2004) GB
0503143 0 15 de Febrero de 2005 (15 02 2005) GB

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para cada tipo de protección nacional disponible) AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para cada tipo de protección regional disponible) ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto Estados Unidos de América) GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. [BE/BE], Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE)

Declaraciones según la Regla 4.17:

- en cuanto al derecho del solicitante de solicitar y obtener una patente (Regla 4 17(ii))
- en cuanto al derecho del solicitante de reivindicar la prioridad de la solicitud anterior (Regla 4 17(iii))
- de invención (Regla 4 17(iv))

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para Estados Unidos de América solamente): CASTADO, Cindy [BE/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s a, Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE) LECRENIER, Nicolas, Pierre, Fernand [BE/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s a, Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE) NEYT, Cecile, Anne [BE/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s a, Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE) POOLMAN, Jan [NL/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s a, Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE)

Publicada:

- con reporte de búsqueda internacional

(88) Fecha de publicación del reporte de búsqueda Internacional:
22 de Junio de 2006

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT

(54) Título. COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA

(57) Resumen: La presente invención se refiere a composiciones inmunogénicas que contienen PNAG estafilocócica y polisacárido u oligosacárido capsular de tipo 5 y/o de tipo 8 de S aureus También se describen vacunas, métodos de tratamiento utilizados y procesos para elaborar una composición que contiene PNAG y polisacáridos capsulares de tipo 5 y/o de tipo 8

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
30 March 2006 (30.03.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/032500 A3

(51) International Patent Classification:

A61K 39/085 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 39/116 (2006.01) A61K 39/385 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/EP2005/010260

(22) International Filing Date:

20 September 2005 (20.09.2005)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

0421079.5	22 September 2004 (22.09.2004)	GB
0421082.9	22 September 2004 (22.09.2004)	GB
0421081.1	22 September 2004 (22.09.2004)	GB
0421078.7	22 September 2004 (22.09.2004)	GB
0503143.0	15 February 2005 (15.02.2005)	GB

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO-SMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. [BE/BE], Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CASTADO, Cindy [BE/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE) LECRENIER, Nicolas, Pierre, Fernand [BE/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE) NEYI, Cecile, Anne [BE/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE) POOLMAN, Jan [NL/BE], GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE)

(74) Agent: LUBIENSKI, Michael, John, GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property (CN925.1), 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB)

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, 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))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report

(88) Date of publication of the International search report:
22 June 2006

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette

(54) Title: IMMUNOGENIC COMPOSITION

(57) Abstract: The present application relates to immunogenic compositions comprising staphylococcal PNAG and Type 5 and/or 8 capsular polysaccharide or oligosaccharide from *S. aureus*. Vaccines, methods of treatment using and processes to make an immunogenic composition comprising PNAG and Type 5 and/or 8 capsular polysaccharides are also described



WO 2006/032500 A3

22

5

**CAPÍTULO REIVINDICATORIO COMO FUE
ORIGINALMENTE PRESENTADO EN FASE
INTERNACIONAL JUNTO CON SU TRADUCCIÓN**

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunogénica que contiene PNAG estafilocócico y polisacárido u oligosacárido capsular de tipo 5 y/o de tipo 8 de *S. aureus*.

2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, que contiene además polisacárido u oligosacárido capsular de tipo I y/o de tipo II y/o de tipo III de *S. epidermidis*.

3 La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 2, caracterizada además porque el PNAG proviene de una bacteria estafilocócica.

4. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 3, que además contiene una proteína estafilocócica o un fragmento de ella.

5 La composición inmunogénica de la reivindicación 4, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una proteína de enlace de componente extracelular seleccionada del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, y MAP.

6. La composición inmunogénica de la reivindicación 4, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento

de ella es una proteína transportadora seleccionada del grupo que consiste en transportadora inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, transportadora ABC SitC y Ni.

7. La composición inmunogénica de la reivindicación 4, 5 caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una toxina o regulador de virulencia seleccionada del grupo que consiste en toxina alfa (Hla), toxina alfa mutante H35R, proteína activadora de ARN III (RAP).

8. La composición inmunogénica de cualquiera de las 10 reivindicaciones 4 hasta 7 que contiene 2 o más proteínas estafilocócicas seleccionadas de al menos 2 grupos diferentes seleccionados de

a) al menos una proteína de enlace de componente 15 extracelular estafilocócica o fragmento de ella, seleccionada del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, y MAP;

20 b) al menos una proteína transportadora estafilocócica o fragmento de ella seleccionada del grupo que consiste en transportadora ABC inmunodominante, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, transportadora ABC SitC y Ni;

c) al menos un regulador de virulencia estafilocócico, toxina 25 o fragmento de ella seleccionado del grupo que consiste en toxina

alfa (Hla), mutante H35R de toxina alfa, proteína activadora de ARN II (RAP).

9. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 8, caracterizada además porque un polisacárido estafilocócico se conjuga con un portador de proteína.

10. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, caracterizada además porque el PNAG está conjugado con un portador de proteína

11. La composición inmunogénica de la reivindicación 9 o 10, caracterizada además porque el portador de proteína contiene una proteína estafilocócica o fragmento de ella seleccionado del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, MAP, transportadora ABC inmunodominante, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, SitC, transportadora ABC NI, toxina alfa (Hla), mutante H35R de toxina alfa, y proteína activadora de ARN II (RAP).

12. La composición inmunogénica de la reivindicación 9 o 10, caracterizada además porque el portador de proteína se selecciona del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide diftérico, CRM197, proteína D de *Haemophilus influenzae*, exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa*, neumolisina neumocócica y toxoide alfa.

13. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 12, en donde se genera una respuesta inmunogénica efectiva contra *S. aureus* y *S. epidermidis*

14. Una vacuna que contiene la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 13 y un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

15. Un método para elaborar una vacuna, que comprende los pasos de mezclar antígenos para elaborar la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 13 y añadir un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

16. Un método para prevenir o tratar infección estafilocócica, que comprende el paso de administrar la vacuna de la reivindicación 14 a un paciente que lo necesita.

17. Un uso de la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 13, en la fabricación de una vacuna para el tratamiento o prevención de infección estafilocócica.

28

CLAIMS

- 1 An immunogenic composition comprising staphylococcal PNAG and Type 5 and/or 8 capsular polysaccharide or oligosaccharide from *S. aureus*.
- 2 The immunogenic composition of claim 1 further comprising Type I, and/or Type II and/or Type III capsular polysaccharide or oligosaccharide from *S. epidermidis*.
- 3 The immunogenic composition of claims 1 or 2 wherein the PNAG is derived from a staphylococcal bacterium
- 4 The immunogenic composition of any one of claims 1-3 further comprising a staphylococcal protein or fragment thereof.
- 5 The immunogenic composition of claim 4 wherein the staphylococcal protein or fragment thereof is an extracellular component binding protein selected from the group consisting of laminin receptor, SitC/MntC/saliva binding protein, EbhA, EbhB, Elastin binding protein (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolysin, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipase GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npase, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, Vitronectin binding protein, fibrinogen binding protein, coagulase, Fig and MAP
- 6 The immunogenic composition of claim 4 wherein the staphylococcal protein or fragment thereof is a transporter protein selected from the group consisting of Immunodominant ABC transporter, IsdA, IsdB, Mg²⁺ transporter, SitC and Ni ABC transporter.
- 7 The immunogenic composition of claim 4 wherein the staphylococcal protein or fragment thereof is a toxin or regulator of virulence selected from the group consisting of alpha toxin (Hla), alpha toxin H35R mutant, RNA III activating protein (RAP).
- 8 The immunogenic composition of any one of claims 4-7 comprising 2 or more staphylococcal proteins selected from at least 2 different groups selected from;
 - a) at least one staphylococcal extracellular component binding protein or fragment thereof selected from the group consisting of laminin receptor, SitC/MntC/saliva binding protein, EbhA, EbhB, Elastin binding protein (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolysin, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipase GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npase, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, Vitronectin binding protein, fibrinogen binding protein, coagulase, Fig and MAP;

31

- 29
- b) at least one staphylococcal transporter protein or fragment thereof selected from the group consisting of Immunodominant ABC transporter, IsdA, IsdB, Mg2+ transporter, SitC and Ni ABC transporter,
- 5 c) at least one staphylococcal regulator of virulence, toxin or fragment thereof selected from the group consisting of alpha toxin (Hla), alpha toxin H35R mutant, RNA III activating protein (RAP)
- 9 The immunogenic composition of any one of claims 1-8 wherein a staphylococcal polysaccharide is conjugated to a protein carrier.
- 10 The immunogenic composition of any one of claims 1-9 wherein the PNAG is conjugated to a protein carrier
- 11 The immunogenic composition of claim 9 or 10 wherein the protein carrier comprises a
 15 staphylococcal protein or fragment thereof selected from the group consisting of laminin receptor, SitC/MntC/saliva binding protein, EbhA, EbhB, Elastin binding protein (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolysin, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipase GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npase, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, Vitronectin binding protein, fibrinogen binding protein, coagulase, Fig, MAP,
 20 immunodominant ABC transporter, IsdA, IsdB, Mg2+ transporter, SitC and Ni ABC transporter, alpha toxin (Hla), alpha toxin H35R mutant and RNA III activating protein (RAP)
- 12 The immunogenic composition of claim 9 or 10 wherein the protein carrier is selected
 25 from the group consisting of tetanus toxoid, diphtheria toxoid, CRM197, *Haemophilus influenzae* protein D, *Pseudomonas aeruginosa* exoprotein A, pneumococcal pneumolysin and alpha toxoid.
- 13 The immunogenic composition of claims 1-12 wherein an effective immune response
 30 is generated against both *S.aureus* and *S. epidermidis*
- 14 A vaccine comprising the immunogenic composition of claims 1-13 and a pharmaceutically acceptable excipient
- 35 15. A method of making a vaccine comprising the steps of mixing antigens to make the immunogenic composition of claims 1-13 and adding a pharmaceutically acceptable excipient
- 40 16 A method of preventing or treating staphylococcal infection comprising the step of administering the vaccine of claim 14 to a patient in need thereof.

30

WO 2006/032500

PCT/EP2005/010260

- 17 A use of the immunogenic composition of claims 1-13 in the manufacture of a vaccine for treatment or prevention of staphylococcal infection.

3/3

PCT

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

(Capítulo II del Tratado de Cooperación de Patentes)

(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Registro de referencia del solicitante o agente CLJ/VB61058	PARA FUTURAS ACCIONES Ver Forma PCT/IPEA/416	
Solicitud internacional No PCT/EP2005/010260	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 20 09.2005	Fecha de prioridad (día/mes/año) 22.09.2004
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV A61K39/085 A61K39/116 A61P31/04 A61K39/385		
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. y col.		
1 Este reporte es el reporte de examen preliminar internacional, establecido por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional bajo el Artículo 35 y transmitido al solicitante de conformidad con el Artículo 36 2 Este REPORTE consta de un total de 8 hojas, incluyendo esta carátula 3 Este reporte también es acompañado por ANEXOS, que comprenden a ☒ (enviado al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de 2 hojas, como sigue: ☒ hojas de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos los cuales han sido modificados y son la base de este reporte y/o hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Autoridad (ver Regla 70 16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas) ☐ hojas que reemplazan hojas anteriores, pero las cuales esta Autoridad considera que contienen una modificación que va más allá de la revelación en la solicitud internacional como se presentó, como se indicó en el ítem 4 de la Casilla No 1 y la Casilla Suplementaria b ☐ (enviado únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de medio(s) electrónico(s)) , que contienen un listado de secuencias y/o tablas con ello, únicamente en una forma legible en computador, como se indicó en la Casilla Suplementaria Relacionada con el Listado de Secuencias (ver Sección 802 de las Instrucciones Administrativas)		
4 Este reporte contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems ☒ Casilla No I Bases del reporte ☐ Casilla No II Prioridad ☒ Casilla No III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial ☐ Casilla No. IV Falta de unidad de invención ☒ Casilla No. V Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial, citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación ☒ Casilla No VI Ciertos documentos citados ☐ Casilla No VII Ciertos defectos en la solicitud internacional ☐ Casilla No VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional		
Fecha de presentación de la demanda 19 07.2006	Fecha de terminación de este reporte 20 09 2006	
Nombre y dirección de correo de la autoridad examinadora preliminar internacional: Oficina de Patentes Europea D-80298 Munich Tel +49 89 2399 - 0 Tx 523656 epmu d Fax +49 89 2399 - 4465	Funcionario autorizado Ulbrecht, Matthias Telefono No. +49 89 2399-7710	

Casilla No. I Bases del reporte

1. Respecto al idioma, este reporte está basado en

- ☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual fue presentada
- ☐ una traducción de la solicitud internacional en _____, el cual es el idioma de una traducción
suministrada para los propósitos de
- ☐ búsqueda internacional (según las Reglas 12 3(a) y 23 1(b))
- ☐ publicación de la solicitud internacional (según la Regla 12 4(a))
- ☐ examen preliminar internacional (según las Reglas 55.2(a) y/o 55 3(a))

2. Respecto a los elementos* de la solicitud internacional, este reporte se basó en *(hojas reemplazadas las cuales han sido suministradas a la Oficina receptora en respuesta a una invitación según Artículo 14, son referidas en este reporte como "originalmente presentadas" y no son anexadas a este reporte)*

Descripción, Páginas

1-65 como se presentaron originalmente

Listado de secuencias parte de la descripción, Páginas

1-137 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, Números

1-18 recibidas el 25 07 2006 con carta del 18 07 2006

Dibujos, Hojas

1/58-58/58 como se presentaron originalmente

☒ Listado de secuencia y/o alguna tabla(s) - ver Casilla Suplementaria en Relación al Listado de Secuencia

3 ☐ Las modificaciones resultaron en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/figuras
- ☐ el listado de secuencia *(especificar)*
- ☐ cualquier tabla(s) relacionada al listado de secuencia *(especificar)*

4 ☐ Este reporte ha sido establecido como si (alguno de) los anexos modificados a este reporte y numerado antes no ha sido hecho, desde que ellos han sido considerados a través de la presentación original, como esta indicado en la Casilla Suplementaria (Regla 70 2(c))

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/figuras
- ☐ el listado de secuencia *(especificar)*
- ☐ alguna tabla(s) relacionada al listado de secuencia *(especificar)*:

* Si el ítem 4 aplica, algunas o todas de estas hojas pueden ser marcadas "reemplazadas"

33

Casilla No. III No-establecimiento de opinión respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

- 1 Las preguntas como quiera que la invención reivindicada parezca ser novedosa, involucrar un nivel inventivo (para no ser obvio), o para ser aplicable industrialmente no se han examinado en relación con.

☐ toda la solicitud internacional,

☒ reivindicaciones Nos 17 (con respecto a AI)

porque

☐ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos se refieren a la siguiente materia objeto el cual no requiere examen preliminar internacional (*especificar*)

☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indican elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (*especificar*)

☐ las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos. están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa (*especificar*).

☒ no se ha establecido un reporte de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos. 17 (con respecto a AI)

☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin el listado de secuencia, el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no.

☐ suministró un listado de secuencias en papel para cumplir con el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta

☐ suministró un listado de secuencias en formato electrónico para cumplir en el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta

☐ pagó la tarifa de suministro tardío para el suministro de un listado de secuencia en respuesta a una invitación de acuerdo con las Reglas 13ter 1(a) o (b) y 13ter 2.

☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con los listados de secuencias, el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no suministró dichas tablas en formato electrónico para cumplir con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas y dichas tablas no estuvieron disponibles para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta

☐ las tablas que se relacionan con el listado de secuencias de aminoácidos y/o nucleótidos, si están solamente en formato electrónico, no cumplen con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas

☐ Ver hoja separada para detalles adicionales

36

Casilla No. V Afirmación razonada bajo el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1 Afirmación

Novedad (N)	Si	Reivindicaciones	1-18
	No	Reivindicaciones	
Nivel Inventivo (IS)	Si	Reivindicaciones	
	No	Reivindicaciones	1-18
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si	Reivindicaciones	1-16, 18
	No	Reivindicaciones	

2 Citaciones y explicaciones (Regla 70 7).
 ver hoja separada

Casilla No. VI Ciertos documentos citados

1 Ciertos documentos publicados (Regla 70.10)

y/o

2 Revelaciones no escritas (Regla 70 9)

ver hoja separada

35

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE
PATENTABILIDAD

Solicitud Internacional No
PCT/EP2005/010260

Casilla Suplementaria con respecto al Listado de Secuencias

Continuación de la Casilla I, Ítem 2:

1 Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según

a tipo de material

- ☒ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia

b formato de material.

- ☒ en formato escrito
☒ en formato legible por computador

c tiempo de presentación/suministro

- ☐ contenido en la solicitud internacional según se registró
☐ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador
☒ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda y/o examinación
☐ recibida por esta Autoridad como una enmienda* en

2 ☒ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla(s) relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas

3 Comentarios adicionales

* Si el ítem 4 en la Casilla No 1 aplica, el listado y/o tabla(s) relacionados con ello, el cual forma parte de las bases del reporte, pueden ser marcadas "reemplazadas".

36

Re ítem III

La reivindicación 17 se relaciona con la materia objeto considerada por esta Autoridad como cubierta por las provisiones de R. 67 1(iv) PCT. En consecuencia, no se formulará opinión con respecto a la aplicabilidad industrial de la materia objeto de estas reivindicaciones (Art. 34(4)(a)(i) PCT).

Re ítem V

1. Documentos citados:

- D1: WO 00/03745 (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) Enero 27 de 2000 (2000-01-27)
- D2: WO 2204/043405 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) Mayo 27 de 2004 (2004-05-27)
- D3: WO 2004/080490 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION; PAVLIAK, VILIAM, BAKER, STEVEN, MORRIS; PI) Septiembre 23 de 2004 (2004-09-23)
- D4: WO 93/09811 A (UNIVAX BIOLOGICS, INC; FATTOM, ALI, IBRAHIM; WRIGHT, D., CRAIG) Mayo 27 de 1993 (1993-05-27)
- D5: US-B1-6 703 025 (PATTI JOSEPH M ET AL) Marzo 9 de 2004 (2004-03-09)

2. Novedad (Art. 33(2) PCT):

Ninguno de los documentos de la técnica previa enseña la combinación de características sugerida por las reivindicaciones 1-18. Estas reivindicaciones son entonces novedosas.

3. Nivel Inventivo (Art. 33(3) PCT):

- 3 1 D1 enseña una composición inmunogénica que comprende PS/ A estreptocócico (PNAG) y polisacárido capsular de S. aureus tipo 5 (CP5) (p. 2, l. 26 - p. 3, l. 2, p. 38, l. 8-16), en donde el PS/A se prepara a partir de S. aureus. La composición se usa para vacuna contra las infecciones estafilocócicas (reivindicación 89). D1 también enseña la conjugación de PS/A a proteínas inmunogénicas tales como difteria y toxoide tétano (p. 23, l. 14 - p. 24, l. 4) así como composiciones farmacéuticas que comprenden dicha

39

37

composición inmunogénica que inherentemente también comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable (p. 36, l. 11 – p. 37, l. 29). La reivindicación 1 se diferencia de D1 en que CP5 está sustituido por polisacárido capsular tipo 8 (CP8). Supuestamente, cualquier *“combinación de antígenos es capaz de inducir una respuesta inmune contra un rango de infecciones estafilocócicas”* (cf. p. 4, l. 26-28). Por ende, el problema técnico subyacente consistiría en proveer una combinación alternativa de antígenos capaz de inducir una respuesta inmune contra un rango de infecciones estafilocócicas. Sin embargo, de acuerdo con las Tablas 5 y 6 solamente ciertas combinaciones de antígenos que también incluyen antígenos proteínicos tales como Sbi, IsaA e IsdB, si de alguna manera, son capaces de inducir una respuesta inmune contra al menos tres cepas *S. aureus*. Así, dicho efecto técnico no es alcanzado sobre el alcance total de la reivindicación 1, y el problema técnico debe ser formulado en términos más amplios, a saber, como la simple provisión de una composición alternativa de antígenos estafilocócicos. La sustitución de CP5 por el bien conocido y químicamente relacionado CP8 (cf. p.e. D1: p. 11, l. 21-22) es arbitraria y, como se mencionó anteriormente, no está asociada con ningún efecto técnico. Por lo tanto, no se puede reconocer ningún nivel inventivo para la materia objeto de la reivindicación 1.

Los mismos argumentos aplicarían si el análisis partiera de D2, cuya revelación es similar a la de D1 (p. 2, l. 9 – p. 3, l. 2; p. 17, l. 24 – p. 18, l. 8; p. 32, l. 17 – p. 34, l. 27; reivindicación 89)

- 3.2 Para consideraciones similares bajo V.3.1, las reivindicaciones 15-18 también carecen de nivel inventivo.
- 3.3 Como las características adicionales sugeridas por las reivindicaciones 2, 4, 10 y 11 también están reveladas por D1 y D2 (cf. V.3.1), no establecen un nivel inventivo.
- 3.4 La materia objeto de la reivindicación 3 difiere de cualquiera de D1 y D2 por la presencia de antígenos de *S. epidermidis*. D1 y D2 ya proponen la administración combinada de PNAG con otros antígenos (cf. p. 38 de D1 y p. 34 de D2). Los antígenos de acuerdo con la reivindicación 3, sin embargo, representan una selección arbitraria de tales antígenos bien conocidos por el experto (c.f. p.e. D4), él podría agregarlos sin alcanzar ningún efecto técnico impredecible (c.f. ver también V.3.1). Así, la adición de estos antígenos no establece un nivel inventivo.

40

38

3.5 Para consideraciones similares bajo V.3.4 también las reivindicaciones 5-9 y 12 carecen de un nivel inventivo sobre cualquiera de D1 y D2.

4. *Aplicabilidad Industrial (Art. 33(4)PCT):*

4.1 Para la evaluación de la presente reivindicación 17 sobre la pregunta si es aplicable industrialmente, no existe un criterio unificado en los Estados Contratantes de PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable la materia objeto de las reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero pueden permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

4.2 Se reconoce la aplicabilidad industrial de la materia objeto de las reivindicaciones 1-16 y 18.

Re ítem VI.

Si la prioridad de la presente solicitud no es válida, D3 sería relevante con respecto a la novedad y nivel inventivo (Art. 33(2) y (3) PCT). Adicionalmente, si la presente solicitud entra a fase regional, el documento anterior podría ser relevante sobre la cuestión de novedad.

AA

1. Una composición inmunogénica que contiene PNAG estafilocócico y polisacárido u oligosacárido capsular de tipo [5 y/o] 8 de *S. aureus*.
2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, que contiene además polisacárido u oligosacárido capsular de tipo 5 de *S. aureus*.
3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 o 2, que contiene además polisacárido u oligosacárido capsular de tipo I, y/o de tipo II y/o de tipo III de *S. epidermidis*.
4. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizada además porque el PNAG proviene de una bacteria estafilocócica.
5. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 4, que además contiene una proteína estafilocócica o un fragmento de ella.
6. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una proteína de enlace de componente extracelular seleccionada del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, y MAP.
7. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una proteína transportadora seleccionada del grupo que consiste en transportadora inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, transportadora ABC SitC y Ni.
8. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una toxina o regulador de virulencia seleccionada del grupo que consiste en toxina alfa (Hla), toxina alfa mutante H35R, proteína activadora de ARN III (RAP).
9. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 5 hasta 8 que contiene 2 o más proteínas estafilocócicas seleccionadas de al menos 2 grupos diferentes seleccionados de:
 - a) al menos una proteína de enlace de componente extracelular estafilocócica o fragmento de ella, seleccionada del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, y MAP;
 - b) al menos una proteína transportadora estafilocócica o fragmento de ella seleccionada del grupo que consiste en transportadora ABC inmunodominante, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, transportadora ABC SitC y Ni;
 - c) al menos un regulador de virulencia estafilocócico, toxina o fragmento de ella seleccionado del grupo que consiste en toxina alfa (Hla), mutante H35R de toxina alfa, proteína activadora de ARN II (RAP).

10. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 9, caracterizada además porque un polisacárido estafilocócico se conjuga con un portador de proteína

11. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, caracterizada además porque el PNAG está conjugado con un portador de proteína.

12. La composición inmunogénica de la reivindicación 10 u 11, caracterizada además porque el portador de proteína contiene una proteína estafilocócica o fragmento de ella seleccionado del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, MAP, transportadora ABC inmunodominante, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, SitC, transportadora ABC NI, toxina alfa (Hla), mutante H35R de toxina alfa, y proteína activadora de ARN II (RAP).

13. La composición inmunogénica de la reivindicación 10 u 11, caracterizada además porque el portador de proteína se selecciona del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide diftérico, CRM197, proteína D de *Haemophilus influenzae*, exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa*, neumolisina neumocócica y toxoide alfa.

14. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 13, la cual es capaz de generar una respuesta inmunitaria efectiva contra *S. aureus* y *S. epidermidis*.

15. Una vacuna que contiene la composición inmunitaria de las reivindicaciones 1 hasta 14 y un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

16. Un método para elaborar una vacuna, que comprende los pasos de mezclar antígenos para elaborar la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 14 y añadir un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

17. Un método para prevenir o tratar infección estafilocócica, que comprende el paso de administrar la vacuna de la reivindicación 15 a un paciente que lo necesita.

18. Un uso de la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 14, en la fabricación de una vacuna para el tratamiento o prevención de infección estafilocócica.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference CLJVB61058	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/PEAA16	
International application No PCT/EP2005/010260	International filing date (day/month/year) 20.09.2005	Priority date (day/month/year) 22.09.2004
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. A61K39/085 A61K39/116 A61P31/04 A61K39/385		
Applicant GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. et al.		
1 This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36 2 This REPORT consists of a total of 8 sheets, including this cover sheet. 3 This report is also accompanied by ANNEXES, comprising. a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau) a total of 2 sheets, as follows. ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions) ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).		
4 This report contains indications relating to the following items ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☒ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand 19.07.2006	Date of completion of this report 20.09.2006	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority  European Patent Office D-80288 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx 523656 epmu d Fax +49 89 2399 - 4465	Authorized officer Ulbrecht, Matthias Telephone No. +49 89 2399-7710	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2005/010260

Box No. I Basis of the report

- 1 With regard to the language, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))
2. With regard to the elements* of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):*

Description, Pages

1-65 as originally filed

Sequence listings part of the description, Pages

1-137 as originally filed

Claims, Numbers

1-18 received on 25.07.2006 with letter of 18.07.2006

Drawings, Sheets

158-5858 as originally filed

- ☒ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing *(specify):*
 - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify):*
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing *(specify):*
 - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify):*

* If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2005/010260

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:
 - ☐ the entire international application,
 - ☒ claims Nos 17 (with respect to IA)

because:

 - ☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):
 - ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
 - ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
 - ☒ no international search report has been established for the said claims Nos. 17 (with respect to IA)
 - ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing, the applicant did not, within the prescribed time limit:
 - ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it
 - ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.
 - ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b) and 13ter.2.
 - ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it
 - ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
 - ☐ See separate sheet for further details

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/EP2005/010260

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-18
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-18
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-16,18
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

see separate sheet

47

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No
PCT/EP2005/010260

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report was established on the basis of:
 - a type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed
 - ☐ filed together with the international application in electronic form
 - ☒ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination
 - ☐ received by this Authority as an amendment* on
2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:
 - * If item 4 in Box No. 1 applies, the listing and/or table(s) related thereto, which form part of the basis of the report, may be marked "superseded."

Re item III

Claim 17 relates to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of R. 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Art. 34(4)(a)(i) PCT).

Re item V

1. Cited documents:

- D1: WO 00/03745 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 January 2000 (2000-01-27)
- D2: WO 2004/043405 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 May 2004 (2004-05-27)
- D3: WO 2004/080490 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION; PAVLIAK, VILIAM; BAKER, STEVEN, MORRIS; PI) 23 September 2004 (2004-09-23)
- D4: WO 93/09811 A (UNIVAX BIOLOGICS, INC; FATTOM, ALI, IBRAHIM; WRIGHT, D., CRAIG) 27 May 1993 (1993-05-27)
- D5: US-B1-6 703 025 (PATTI JOSEPH M ET AL) 9 March 2004 (2004-03-09)

2. Novelty (Art. 33(2) PCT):

None of the prior art documents teaches the combination of features suggested by claims 1-18. These claims are thus novel.

3. Inventive step (Art. 33(3) PCT):

- 3.1 D1 teaches an immunogenic composition comprising staphylococcal PS/A (PNAG) and *S. aureus* type 5 capsular polysaccharide (CP5) (p. 2, l. 26 - p. 3, l. 2; p. 38, l. 8-16) wherein PS/A is prepared from *S. aureus*. The composition is used for vaccination against staphylococcal infections (claim 89). D1 also teaches the conjugation of PS/A to immunogenic proteins such as diphtheria and tetanus toxoids (p. 23, l. 14 - p. 24, l. 4) as well as pharmaceutical compositions comprising the said

49

immunogenic composition which inherently also comprise a pharmaceutical acceptable excipient (p. 36, l. 11 - p. 37, l. 29). Claim 1 is distinguished from D1 in that CP5 is substituted for type 8 capsular polysaccharide (CP8). Allegedly either *'combination of antigens is capable of eliciting an immune response against a range of staphylococcal infections'* (cf. p. 4, l. 26-28). Hence, the underlying technical problem would consist in providing an alternative combination of antigens capable of eliciting an immune response against a range of staphylococcal infections. However, according to Tables 5 and 6 only certain combinations of antigens also including proteinaceous antigens such as Sbi, IsaA and IsdB, if at all, are capable of eliciting an immune response against at least three *S. aureus* strains. Thus, the said technical effect is not achieved over the whole scope of claim 1 and the technical problem has to be formulated in broader terms, namely as the mere provision of an alternative composition of staphylococcal antigens. The substitution of CP5 by the well-known and chemically related CP8 (cf. e.g. D1: p. 11, l. 21-22) is arbitrary and, as elaborated above, not associated with any technical effect. Therefore, no inventive step can be acknowledged for the subject-matter of claim 1.

The same argumentation would apply if the analysis were started from D2, the disclosure of which is similar to that of D1 (p. 2, l. 9 - p. 3, l. 2; p. 17, l. 24 - p. 18, l. 8; p. 32, l. 17 - p. 34, l. 27; claim 89).

3.2 For similar considerations as under V.3.1 also claims 15-18 lack an inventive step.

3.3 As the additional features suggested by claims 2, 4, 10 and 11 are also disclosed by D1 and D2 (cf. V.3.1) they do not establish an inventive step.

3.4 The subject-matter of claim 3 differs from any of D1 and D2 by the presence of *S. epidermidis* antigens. D1 and D2 already proposes the combined administration of PNAG with other antigens (cf. p. 38 of D1 and p. 34 of D2). The antigens according to claim 3, however, represent an arbitrary selection of such antigens well-known to the skilled person (cf. e.g. D4), he would add without achieving any unforeseeable technical effect (cf. also V.3.1). Hence, the addition of these antigens does not establish an inventive step.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/EP2005/010260

3.5 For similar considerations as under V.3.4 also claims 5-9 and 12 lack an inventive step over any of D1 and D2.

4. *Industrial applicability (Art. 33(4) PCT):*

4.1 For the assessment of the present claim 17 on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

4.2 The industrial applicability of the subject-matter of claims 1-16 and 18 is acknowledged.

Re item VI.

Should the priority of the present application not be valid D3 would be relevant with respect to novelty and inventive step (Art. 33(2) and (3) PCT). Furthermore, should the present application be entered into the regional phase, the above document could be relevant to the question of novelty.

25.07.2006

(105)

- 1 An immunogenic composition comprising staphylococcal PNAG and Type [5 and/or] 8 capsular polysaccharide or oligosaccharide from *S. aureus*.
- 2 The immunogenic composition of claim 1 further comprising Type 5 capsular polysaccharide or oligosaccharide from *S. aureus*.
- 3 The immunogenic composition of claim 1 or 2 further comprising Type I, and/or Type II and/or Type III capsular polysaccharide or oligosaccharide from *S. epidermidis*.
- 4 The immunogenic composition of any one of claims 1-3 wherein the PNAG is derived from a staphylococcal bacterium.
- 5 The immunogenic composition of any one of claim 1-4 further comprising a staphylococcal protein or fragment thereof.
- 6 The immunogenic composition of claim 5 wherein the staphylococcal protein or fragment thereof is an extracellular component binding protein selected from the group consisting of laminin receptor, SitC/MntC/saliva binding protein, EbhA, EbhB, Elastin binding protein (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolysin, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipase GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npase, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, Vitronectin binding protein, coagulase, and MAP.
- 7 The immunogenic composition of claim 5 wherein the staphylococcal protein or fragment thereof is a transporter protein selected from the group consisting of Immunodominant ABC transporter, IsdA, IsdB, Mg²⁺ transporter, SitC and Ni ABC transporter.
- 8 The immunogenic composition of claim 5 wherein the staphylococcal protein or fragment thereof is a toxin or regulator of virulence selected from the group consisting of alpha toxin (Hla), alpha toxin H35R mutant, RNA III activating protein (RAP).
- 9 The immunogenic composition of any one of claims 5-8 comprising 2 or more staphylococcal proteins selected from at least 2 different groups selected from;
 - a) at least one staphylococcal extracellular component binding protein or fragment thereof selected from the group consisting of laminin receptor, EbhA, EbhB, Elastin binding protein (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolysin, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipase GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npase, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, Vitronectin binding protein, coagulase and MAP;
 - b) at least one staphylococcal transporter protein or fragment thereof selected from the group consisting of Immunodominant ABC transporter, IsdA, IsdB, Mg²⁺ transporter, SitC and Ni ABC transporter;

AMENDED SHEET

25.07.2006

49

SP

- c) at least one staphylococcal regulator of virulence, toxin or fragment thereof selected from the group consisting of alpha toxin (Hla), alpha toxin H35R mutant, RNA III activating protein (RAP).
10. The immunogenic composition of any one of claims 1-9 wherein a staphylococcal polysaccharide is conjugated to a protein carrier
11. The immunogenic composition of any one of claims 1-10 wherein the PNAG is conjugated to a protein carrier.
12. The immunogenic composition of claim 10 or 11 wherein the protein carrier comprises a staphylococcal protein or fragment thereof selected from the group consisting of laminin receptor, EbhA, EbhB, Elastin binding protein (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolysin, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipase GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npase, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, Vitronectin binding protein, coagulase, MAP, Immunodominant ABC transporter, IsdA, IsdB, Mg2+ transporter, SltC, Ni ABC transporter, alpha toxin (Hla), alpha toxin H35R mutant and RNA III activating protein (RAP).
13. The immunogenic composition of claim 10 or 11 wherein the protein carrier is selected from the group consisting of tetanus toxoid, diphtheria toxoid, CRM197, *Haemophilus influenzae* protein D, *Pseudomonas aeruginosa* exoprotein A, pneumococcal pneumolysin and alpha toxoid.
14. The immunogenic composition of claims 1-13 [wherein] which is capable of generating an effective immune response [is generated] against both *S aureus* and *S. epidermidis*.
15. A vaccine comprising the immunogenic composition of claims 1-14 and a pharmaceutically acceptable excipient.
16. A method of making a vaccine comprising the steps of mixing antigens to make the immunogenic composition of claims 1-14 and adding a pharmaceutically acceptable excipient.
17. A method of preventing or treating staphylococcal infection comprising the step of administering the vaccine of claim 15 to a patient in need thereof.
18. A use of the immunogenic composition of claims 1-14 in the manufacture of a vaccine for treatment or prevention of staphylococcal infection.

De la
AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Para:		PCT																									
ver forma PCT/ISA/220		OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL (PCT Regla 43bis.1)																									
		Fecha de correo (día/mes/año) ver forma PCT/ISA/210 (segunda hoja)																									
Registro de referencia del solicitante o agente ver forma PCT/ISA/220		PARA FUTURAS ACCIONES Ver párrafo 2 a continuación																									
Solicitud Internacional No.	Fecha de registro internacional (día/mes/año)	Fecha de prioridad (día/mes/año)																									
PCT/EP2005/010260	20.09.2005	22.09.2004																									
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. A61K39/085 A61K39/116 A61P31/04 A61K39/385																											
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.																											
1 Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems. <table border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>Casilla No I</td> <td>Bases de la opinión</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No II</td> <td>Prioridad</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>Casilla No. III</td> <td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No IV</td> <td>Falta de unidad de invención</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>Casilla No. V</td> <td>Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>Casilla No VI</td> <td>Ciertos documentos citados</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No VII</td> <td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No VIII</td> <td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td> </tr> </table> 2 ACCIONES FUTURAS Si se hace una demanda para examen preliminar internacional, esta opinión generalmente será considerada como una opinión escrita de la Autoridad Examinadora Preliminar ("IPEA") Sin embargo, esto no aplica cuando el solicitante escoge una Autoridad diferente a ésta para que sea la IPEA y la IPEA escogida le ha notificado a la Oficina Internacional de conformidad con la Regla 661bis(b) que no se considerarán las opiniones escritas de esta Autoridad de Búsqueda Internacional. Si esta opinión es, según se estipula anteriormente, considerada una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a presentar ante la IPEA una respuesta escrita junto, cuando sea apropiado, con modificaciones, antes de la fecha de expiración de tres meses desde la fecha de envío por correo de la Forma PCT/ISA/220 o antes de la fecha de expiración de 22 meses desde la fecha de prioridad, la que expire más tarde Para opciones futuras, ver la Forma PCT/ISA/220. 3 Para detalles adicionales, ver las notas a la Forma PCT/ISA/220				☒	Casilla No I	Bases de la opinión	☐	Casilla No II	Prioridad	☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial	☐	Casilla No IV	Falta de unidad de invención	☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación	☒	Casilla No VI	Ciertos documentos citados	☐	Casilla No VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional	☐	Casilla No VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional
☒	Casilla No I	Bases de la opinión																									
☐	Casilla No II	Prioridad																									
☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial																									
☐	Casilla No IV	Falta de unidad de invención																									
☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación																									
☒	Casilla No VI	Ciertos documentos citados																									
☐	Casilla No VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional																									
☐	Casilla No VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional																									
Nombre y dirección de correo de la ISA Oficina Europea de Patentes D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx 523656 epmu d Fax. +49 89 2399 - 4465		Funcionario Autorizado Ulbrecht, M Teléfono No +49 89 2399-7710																									

Casilla No. I. Bases de la opinión

- 1 Respecto al idioma, esta opinión se ha establecido según la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo bajo este ítem.
☐ Esta opinión se ha establecido según una traducción del idioma original al siguiente idioma , que es el idioma de una traducción proporcionada para la búsqueda internacional (bajo las Reglas 12.3 y 23.1(b))
- 2 Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:
 - a tipo de material
☒ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia
 - b formato de material
☒ en formato escrito
☒ en formato legible por computador
 - c tiempo de presentación/suministro
☐ contenido en la solicitud internacional según se registró
☐ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador
☒ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda
- 3 ☒ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.
- 4 Comentarios adicionales:

Casilla No. V Afirmación razonada bajo la Regla 43bis.1(a)(i) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1 Declaración

Novedad (N)	Si Reivindicaciones 2, 4-8, 11
	No: Reivindicaciones 1, 3, 9, 10, 12-17
Nivel Inventivo (IS)	Si Reivindicaciones
	No: Reivindicaciones 1-17
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si Reivindicaciones 1-15, 17
	No. Reivindicaciones

2 Citaciones y explicaciones

ver hoja separada

Casilla No. VI Ciertos documentos citados

1 Ciertos documentos publicados (Reglas 43bis 1 y 70 10)

y/o

2 Revelaciones no escritas (Reglas 43bis .1 y 70.9)

ver forma 210

55

Re ítem III

La reivindicación 16 se relaciona con la materia objeto considerada por esta Autoridad como cubierta por las provisiones de R. 67.1(iv) PCT. En consecuencia, no se formulará opinión con respecto a la aplicabilidad industrial de la materia objeto de estas reivindicaciones (Art. 34(4)(a)(i) PCT).

Re ítem V

1 Documentos Citados:

- D1: WO 00/03745 (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) Enero 27 de 2000 (2000-01-27)
- D2: WO 2204/043405 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) Mayo 27 de 2004 (2004-05-27)
- D3: WO 2004/080490 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION; PAVLIAK, VILIAM, BAKER, STEVEN, MORRIS; PI) Septiembre 23 de 2004 (2004-09-23)
- D4: WO 93/09811 A (UNIVAX BIOLOGICS, INC; FATTOM, ALI, IBRAHIM; WRIGHT, D., CRAIG) Mayo 27 de 1993 (1993-05-27)
- D5: US-B1-6 703 025 (PATTI JOSEPH M ET AL) Marzo 9 de 2004 (2004-03-09)

2. Novedad (Art. 33(2) PCT):

- 2.1 D1 enseña una composición inmunogénica que comprende PS/ A estreptocócico (PNAG) y cápsula de S. aureus tipo 5 (p. 2, l. 26 - p. 3, l. 2; p. 38, l. 8-16), en donde el PS/ A se prepara a partir de S. aureus. La composición se usa para vacuna contra las infecciones estafilocócicas (reivindicación 89). D1 también enseña la conjugación de PS/ A a proteínas inmunogénicas tales como difteria y toxoide tétano (p. 23, l. 14 - p. 24, l. 4) así como composiciones farmacéuticas que comprenden dicha composición inmunogénica que inherentemente también comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable (p. 36, l. 11 - p. 37, l. 29). Así, la revelación de D1 destruye la novedad de las reivindicaciones 1, 3, 9, 10 y 14-17.

Las reivindicaciones 1, 3, 9, 10 y 14-17 también carecen de novedad sobre D2 (p. 2, l. 9 - p. 3, l. 2; p. 17, l. 24 - p. 18, l. 8; p. 32, l. 17 - p. 34, l. 27; reivindicación 89).

- 2.2 La materia objeto de las reivindicaciones 2, 4-8 y 11 es novedosa porque la combinación de características sugerida por cualquiera de dichas reivindicaciones no está revelada en la técnica previa.

JB

3. *Nivel Inventivo (Art. 33(3) PCT):*

- 3.1 La materia objeto de la reivindicación 2 difiere de cualquiera de D1 y D2 por la presencia de antígenos de *S. epidermidis*. D1 y D2 ya proponen la administración combinada de PNAG con otros antígenos (cf. p. 38 de D1 y p. 34). Los antígenos de acuerdo con la reivindicación 3, sin embargo, representan una selección arbitraria de tales antígenos bien conocidos por el experto (c.f. p.e. D4), el podría agregarlos sin alcanzar ningún efecto técnico impredecible. Así, la adición de estos antígenos no establece un nivel inventivo.
- 3.2 Para consideraciones similares también las reivindicaciones 4-8 y 11 carecen de un nivel inventivo sobre cualquiera de D1 y D2.

4. *Aplicabilidad Industrial (Art. 33(4) EPO).*

- 4.1 Para la evaluación de la presente reivindicación 16 sobre la pregunta si es aplicable industrialmente, no existe un criterio unificado en los Estados Contratantes de PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable la materia objeto de las reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero pueden permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.
- 4.2 Se reconoce la aplicabilidad industrial de la materia objeto de las reivindicaciones 1-15 y 17.

5. *Claridad (Art. 6 PCT)*

- 5.1 Las reivindicaciones 5-8 y 11 se refieren a proteínas definidas por nombres genéricos. No es claro cuales proteínas están cubiertas por dichos términos. Por ejemplo, como se puede derivar de D5, el término proteína de enlace a fibrinógeno parece cubrir ClfA y Club (cf. resumen de D5). Por ende, parece haber una coincidencia en la definición y en consecuencia, estas reivindicaciones carecen de concisión.
- 5.2 La reivindicación 13, aunque se refiere a una composición, define características relativas a un método en lugar de una composición. En consecuencia, la categoría de dicha reivindicación no es clara.

57

**OPINIÓN ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
(HOJA SEPARADA)**

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2005/010260

6. Si la prioridad de la presente solicitud no es válida, D3 sería relevante con respecto a la novedad y nivel inventivo (Art. 33(2) y (3) PCT). Adicionalmente, si la presente solicitud entra a fase regional, el documento anterior podría ser relevante sobre la cuestión de novedad.

60

58

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To
see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing (day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below

International application No PCT/EP2005/010260

International filing date (day/month/year) 20 09 2005
--

Priority date (day/month/year) 22 09 2004
--

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC INV A61K39/085 A61K39/16 A61P31/04 A61K39/385
--

Applicant GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S A
--

1 This opinion contains indications relating to the following items. ☒ Box No. I Basis of the opinion ☐ Box No. II Priority ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis 1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability, citations and explanations supporting such statement ☒ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application
2 FURTHER ACTION If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of three months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later. For further options, see Form PCT/ISA/220
3 For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA  European Patent Office D-80298 Munich Tel +49 89 2399 - 0 Tx 523656 epmu d Fax +49 89 2399 - 4465
--

Authorized Officer Ulbrecht, M Telephone No +49 89 2399-7710
--



61

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**International application No
PCT/EP2005/010260

Box No. I Basis of the opinion

- 1 With regard to the language, this opinion has been established on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
- ☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
- 2 With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of
- a. type of material
- ☒ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing
- b. format of material:
- ☒ in written format
- ☒ in computer readable form
- c. time of filing/furnishing
- ☐ contained in the international application as filed
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
- 4 Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No
PCT/EP2005/010260

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of.

☐ the entire international application,

☒ claims Nos 16 (with respect to IA)

because.

☐ the said international application, or the said claims Nos relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*)

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos 16 (with respect to IA)

☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that.

the written form

☐ has not been furnished

☐ does not comply with the standard

the computer readable form

☐ has not been furnished

☐ does not comply with the standard

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See separate sheet for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No
PCT/EP2005/010260

Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/s.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	2,4-8,11
	No: Claims	1,3,9,10,12-17
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-17
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-15,17
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1 Certain published documents (Rules 43b/s 1 and 70.10)

and /or

2 Non-written disclosures (Rules 43b/s 1 and 70.9)

see form 210

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No

PCT/EP2005/010260

Re item III

Claim 16 relates to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of R. 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Art. 34(4)(a)(i) PCT).

Re item V

1. Cited documents:

- D1: WO 00/03745 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 January 2000 (2000-01-27)
- D2: WO 2004/043405 A (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC) 27 May 2004 (2004-05-27)
- D3: WO 2004/080490 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION; PAVLIAK, VILIAM; BAKER, STEVEN, MORRIS; PI) 23 September 2004 (2004-09-23)
- D4: WO 93/09811 A (UNIVAX BIOLOGICS, INC; FATTOM, ALI, IBRAHIM; WRIGHT, D., CRAIG) 27 May 1993 (1993-05-27)
- D5: US-B1-6 703 025 (PATTI JOSEPH M ET AL) 9 March 2004 (2004-03-09)

2 Novelty (Art. 33(2) PCT):

- 2.1 D1 teaches an immunogenic composition comprising streptococcal PS/A (PNAG) and *S. aureus* type 5 capsule (p. 2, l. 26 - p. 3, l. 2; p. 38, l. 8-16) wherein PS/A is prepared from *S. aureus*. The composition is used for vaccination against staphylococcal infections (claim 89) D1 also teaches the conjugation of PS/A to immunogenic proteins such as diphtheria and tetanus toxoids (p. 23, l. 14 - p. 24, l. 4) as well as pharmaceutical compositions comprising the said immunogenic composition which inherently also comprise a pharmaceutical acceptable excipient (p. 36, l. 11 - p. 37, l. 29). Hence, the disclosure of D1 destroys the novelty of claims 1, 3, 9, 10 and 14-17.

Claims 1, 3, 9, 10 and 14-17 also lack novelty over D2 (p. 2, l. 9 - p. 3, l. 2; p. 17, l. 24 - p. 18, l. 8; p. 32, l. 17 - p. 34, l. 27; claim 89).

- 2.2 The subject-matter of claims 2, 4-8 and 11 is novel as the combination of features

suggested by any of said claims is not disclosed in the prior art.

3 *Inventive step (Art. 33(3) PCT):*

3.1 The subject-matter of claim 2 differs from any of D1 and D2 by the presence of S. epidermidis antigens. D1 and D2 already proposes the combined administration of PNAG with other antigens (cf. p. 38 of D1 and p. 34). The antigens according to claim 3, however, represent an arbitrary selection of such antigens well-known to the skilled person (cf. e.g. D4), he would add without achieving any unforeseeable technical effect. Hence, the addition of these antigens does not establish an inventive step.

3.2 For similar considerations also claims 4-8 and 11 lack an inventive step over any of D1 and D2.

4. *Industrial applicability (Art. 33(4) EPC):*

4.1 For the assessment of the present claim 16 on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

4.2 The industrial applicability of the subject-matter of claims 1-15 and 17 is acknowledged.

5. *Clarity (Art. 6 PCT)*

5.1 Claims 5-8 and 11 refer to proteins defined by generic names. It is not clear which proteins are covered by said terms. For instance, as derivable from D5 the term fibrinogen binding protein appears to cover ClfA and ClfB (cf. abstract of D5). Hence, there appears to be an overlap in definition and these claims consequently lack conciseness.

5.2 Claim 13 although referring to a compositions defines features relating to a

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No

PCT/EP2005/010260

method rather than a composition. Consequently, the category of said claim is not clear.

6. Should the priority of the present application not be valid D3 would be relevant with respect to novelty and inventive step (Art. 33(2) and (3) PCT) Furthermore, should the present application be entered into the regional phase, the above document could be relevant to the question of novelty.

ANEXO EXPLICATIVO DE MODIFICACIONES A LAS REIVINDICACIONES

En ejercicio del derecho conferido por el Artículo 28 numeral 1 del Tratado de Cooperación en materia de Patentes PCT, atentamente me permito informar a ese Despacho que el capítulo reivindicatorio tal como fue presentado originalmente en Fase Internacional ha sido modificado.

Las modificaciones realizadas se encuentran plenamente sustentadas en la descripción de la presente invención y en este sentido, no configuran una ampliación del invento o de la divulgación contenida en la solicitud presentada

COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA ESTAFILOCÓCICA

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a composiciones
inmunogénicas que contienen PNAG estafilocócica y polisacárido u
oligosacárido capsular de tipo 5 y/o de tipo 8 de *S. aureus*. También
se describen vacunas, métodos de tratamiento utilizados y procesos
para elaborar una composición que contiene PNAG y polisacáridos
10 capsulares de tipo 5 y/o de tipo 8.

COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA ESTAFILOCÓCICA

Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de composiciones y vacunas inmunogénicas, a su fabricación y al uso de estas composiciones en medicina. Más particularmente, se refiere a composiciones de vacuna que contienen polisacárido PNAG (PIA) y polisacáridos de tipo 5 y/o de tipo 8 de *S. aureus*. También se proporcionan métodos para el tratamiento o prevención de infecciones por estafilococos usando estas vacunas.

Antecedentes de la invención

La cantidad de infecciones adquiridas en la comunidad y de infecciones adquiridas en el hospital ha aumentado en años recientes con el aumento de dispositivos intravasculares. Las infecciones adquiridas en hospitales (nosocomiales) son una causa principal de morbilidad y de mortalidad, más particularmente en Estados Unidos, en donde afectan a más de 2 millones de pacientes anualmente. Después de diversos estudios, se ha determinado que aproximadamente el 6 por ciento de los pacientes estadounidenses adquirirán una infección durante su estancia en el hospital. La carga económica en Estados Unidos se estimó en más de 4.5 billones de dólares en 1992 (Emori y Gaynes, 1993, Clin. Microbiol. Rev. 6; 428). Las infecciones más frecuentes son infecciones del tracto urinario (UTI-33% de las infecciones), seguidas por neumonía (15.5%), infecciones en sitio quirúrgico (14.8%) e infecciones

primarias de la corriente sanguínea (13%) Emori y Gaynes, 1993, Clin. Microbiol. Rev. 6; 428).

Staphylococcus aureus, los estafilococos negativos a la Coagulasa (mayormente *Staphylococcus epidermidis*), enterococcus spp, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* son los patógenos nosocomiales principales Si bien estos patógenos casi ocasionan la misma cantidad de infecciones, la gravedad de los trastornos que pueden producir combinada con la frecuencia de aislados resistentes a antibióticos, mueve la balanza en esta clasificación hacia *S. aureus* y *S. epidermidis* como los patógenos nosocomiales más significativos.

El *Staphylococcus aureus* es la causa más común de infecciones nosocomiales con una morbilidad y una mortalidad significativas (Romero-Vivas et al 1995, Infect. Dis. 21 ; 1417). Es la causa de algunos casos de osteomielitis, endocarditis, artritis séptica, neumonía, abscesos y síndrome de shock tóxico

El *S. epidermidis* es un comensal normal en la piel que también es un patógeno oportuno responsable de infecciones de dispositivos médicos implantados y de infecciones en lugares donde se realiza cirugía Los dispositivos médicos infectados por *S. epidermidis* incluyen estimuladores cardiacos, derivaciones para fluido cerebroespinal, catéteres para diálisis peritoneal ambulatoria continua, dispositivos ortopédicos y válvulas cardiacas protésicas.

Las infecciones con *S. aureus* y *S. epidermidis* se tratan con antibióticos, siendo la penicilina el fármaco de elección, mientras

que la vancomicina se usa para los aislados resistentes a la metilicina. El porcentaje de cepas estafilocócicas que muestran resistencia de amplio espectro a los antibióticos se ha generalizado y está en aumento desde los años 80. (Panlilo *et al* 1992, Infect. Control Hosp. Epidemiol. 13; 582), lo que supone una amenaza para la terapia antimicrobiana efectiva. Además, la reciente aparición de la cepa de *S. aureus* resistente a la vancomicina ha dado lugar al temor de que las cepas de *S. aureus* resistentes a la metilicina aparezcan y se extiendan, para las cuales no hay disponible una terapia efectiva.

Un enfoque alternativo podría ser el uso de la vacunación activa para generar una respuesta inmunológica contra los estafilococos. Varios candidatos para su inclusión como componentes de vacunas han sido identificados. Estos incluyen proteína de enlace de fibronectina (US5840846), análogo de MHC II (US5648240), proteína de enlace de fibrinógeno (US6008341), GehD (US 2002/0169288), proteína de enlace de colágeno (US6288214), SdrF, SdrG y SdrH (WO 00/12689), exotoxinas mutantes SEA y SEB (WO 00/02523) y proteína de enlace de fibronectina de 52kDa (WO 01/60852).

El genoma del *S. aureus* ha sido secuenciado y muchas de las secuencias codificadoras han sido identificadas (EP786519, WO02/094868). Lo mismo es cierto para *S. epidermidis* (WO 01/34809). Como un refinamiento de este enfoque, otros han identificado proteínas que son reconocidas por los sueros

hiperinmunitarios de pacientes que han sufrido de infección por estafilococos (WO01/98499, WO 02/059148).

La primera generación de vacunas dirigidas contra *S. aureus* o contra las exoproteínas que éste produce, han tenido éxito limitado
5 (Lee 1996 Trends Microbiol. 4, 162). Todavía permanece una necesidad de desarrollar vacunas efectivas contra infecciones por estafilococos.

Descripción de las figuras

Figura 1 – Secuencias de polipéptidos de proteínas preferidas.
10 La Tabla 1 proporciona información acerca de cuál proteína está representada por cada SEQ ID.

Figura 2 – Secuencias de nucleótidos que codifican las proteínas preferidas. La Tabla 1 proporciona información sobre qué proteína está codificada por cada SEQ ID.

15 Figura 3 – Purificación de toxina alfa bajo condiciones naturales. El panel A muestra un SDS-PAGE de muestras preparadas durante la purificación de la toxina alfa. Línea 1 - marcadores de peso molecular, línea 2 - fracción soluble que contiene toxina alfa sobre-expresada, línea 3 - flujo a través de la
20 columna de Ni-NTA, línea 4 - fracciones eluidas con 10% de regulador de pH B, línea 5 - fracciones eluidas con 20% de regulador de pH B, línea 6 - fracciones eluidas con 30% de regulador de pH B, línea 7 - fracciones eluidas con 50% de regulador de pH B, línea 8 - fracciones eluidas con 75% de regulador de pH B, línea 9 y 10
25 fracciones eluidas con 100% de regulador de pH B, línea 11

bacterias en T=0 antes de la inducción, línea 12 - bacterias en T=4 horas después de la inducción, línea 13 – lisado de células, línea 14 – fracción soluble, línea 15 – fracción insoluble. El panel B muestra un SDS-PAGE teñido con Coomassie de 10, 5, 2 y 1 μ L de la toxina alfa purificada.

Figura 4 – Purificación de condiciones desnaturalizantes de SdrC. El panel A muestra un SDS-PAGE teñido con Coomassie de muestras preparadas durante la purificación de la toxina alfa. Línea M - marcadores de peso molecular, línea Inicio – supernadante formado a partir de la fracción insoluble que contiene SdrC sobre-expresado, línea FT1 - flujo a través de la columna Ni-NTA, línea C - fracciones eluidas con regulador de pH para lavado C, línea D - fracciones eluidas con regulador de pH D, línea E - fracciones eluidas con regulador de pH E. Panel B muestra un SDS-PAGE teñido con Coomassie de 1, 2, 5 y 10 μ L del SdrC purificado.

Figura 5 – Resultados de ELISA para antisuero con proteínas estafilocócicas en placas recubiertas con proteínas purificadas

Ratones agrupado pre – resultado usando sueros agrupados extraídos de ratones antes de la inoculación. Ratones agrupado post III – resultado usando sueros de ratón agrupados extraídos después de la inmunización. Conejo agrupado pre – resultado usando sueros agrupados extraídos de conejos antes de la inoculación. Conejo agrupado post III – resultado usando sueros de conejo agrupados extraídos después de la inmunización. B1c- control negativo

Figura 6 – Resultados de ELISA para antisuero de ratón

cultivado contra proteínas estafilocócicas en placas recubiertas con estafilococos muertos. El panel A usa placas recubiertas con células enteras muertas con serotipo 5 de *S. aureus*. El panel B usa placas recubiertas con células enteras muertas con serotipo 8 de *S. aureus*.

- 5 El panel C usa placas recubiertas con células enteras muertas de *S. epidermidis*.

La línea marcada con símbolos cuadrados muestra el resultado de ELISA usando antisuero de ratones inmunizados tres veces con la proteína estafilocócica indicada. La línea marcada con símbolos
10 romboidales muestra el resultado de ELISA para los sueros de ratones inmunizados previamente.

Figura 7 – Resultados de ELISA para antisuero de conejo cultivado contra proteínas estafilocócicas en placas recubiertas con estafilococos muertos.

- 15 El panel A usa placas recubiertas con células enteras muertas con serotipo 5 de *S. aureus*. El panel B usa placas recubiertas con células enteras muertas con serotipo 8 de *S. aureus*. El panel C usa placas recubiertas con células enteras muertas de *S. epidermidis*.

La línea marcada con símbolos cuadrados muestra el resultado
20 de ELISA usando antisueros de ratones inmunizados tres veces con la proteína estafilocócica indicada (excepto para HarA, en donde sólo se administró una inmunización). La línea marcada con símbolos de diamante muestra los resultados de ELISA para los sueros de conejos inmunizados previamente.

- 25 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención describe combinaciones particulares de antígenos estafilocócicos que cuando se combinan, conducen a la producción de una composición inmunogénica para tratar o para prevenir infección estafilocócica. Las composiciones inmunogénicas de la invención incorporan PNAG (PIA) y polisacáridos tipo 5 y/o tipo 8 de *S. aureus*. Esta combinación de antígenos es capaz de desencadenar una respuesta inmunogénica contra una gama de infecciones estafilocócicas. El PNAG (PIA) es conservado entre bacterias Gram positivas, y proporciona protección contra una amplia gama de bacterias, mientras que los polisacáridos de tipo 5 y de tipo 8 son potentes inmunogénicos que desencadenan una respuesta inmunogénica contra la mayoría de las cepas de *S. aureus* que son la causa más común de infecciones nosocomiales.

Polisacáridos

Las composiciones inmunogénicas de la invención contienen PIA (también conocido como PNAG) y polisacáridos de tipo 5 y de tipo 8 de *S. aureus*.

PIA (PNAG)

Está claro ahora que las diversas formas de polisacáridos estafilocócicos superficiales identificados como PS/A, PIA y SAA son la misma entidad química - PNAG (Maira-Litran *et al* Vacuna 22; 872-879 (2004)). por lo tanto, el término PIA o PNAG comprende todos estos polisacáridos u oligosacáridos que provienen de ellos

El PIA es una adhesina intracelular polisacárida, y está compuesto de un polímero de glucosamina β -(1→6)-ligada sustituida

con constituyentes N-acetilo y O-succinilo. Este polisacárido está presente tanto en *S. aureus* como en *S. epidermidis* y puede ser aislado de cualquier fuente (Joyce *et al* 2003, Carbohydrate Research 338; 903; Maira-Litran *et al* 2002, Infect. Immun. 70; 4433)

5 Por ejemplo, el PNAG puede ser aislado de la cepa MN8m de *S. aureus* (WO 04/43407).

El PIA aislado de *S. epidermidis* es un constituyente integral de biopelícula. Es responsable de mediar la adhesión célula-célula y probablemente también funciona para proteger la colonia en
10 crecimiento de la respuesta inmunogénica del anfitrión.

Recientemente se demostró que el polisacárido conocido previamente como poli-N-succinil- β -(1 $\rightarrow$ 6)-glucosamina (PNSG) no tiene la estructura esperada dado que la identificación de la N-succinilación era incorrecta (Maira-Litran *et al* 2002, Infect. Immun. 70;
15 4433) Por lo tanto el polisacárido conocido formalmente como PNSG y que ahora se encuentra que es PNAG también está comprendido en el término PIA.

El PIA (o PNAG) puede tener tamaños diferentes que varían desde 400 kDa hasta entre 75 y 400 kDa hasta entre 10 y 75 kDa
20 para oligosacáridos compuestos de hasta 30 unidades de repetición (de glucosamina β -(1 $\rightarrow$ 6)-ligada sustituida con constituyentes N-acetilo y O-succinilo). Cualquier tamaño de polisacárido PIA u oligosacárido puede usarse en una composición inmunogénica de la invención, sin embargo se prefiere un tamaño de más de 40 kDa. El
25 tamaño se puede lograr mediante cualquier método conocido en la

técnica, por ejemplo mediante micro fluidización, irradiación ultrasónica o mediante escisión química (WO 03/53462, EP497524, EP497525)

Los rangos de tamaño preferidos de PIA (PNAG) son 40-400 kDa, 50-350 kDa, 40-300 kDa, 60-300 kDa, 50-250 kDa y 60-200 kDa.

El PIA (PNAG) puede tener grados de acetilación diferentes debido a la sustitución en los grupos amino por acetato. El PIA producido *en vitro* está casi sustituido en los grupos amino (95-100%). De manera alternativa, se puede usar un PIA (PNAG) desacetilado que tenga menos de 60%, preferiblemente menos de 50%, 40%, 30%, 20%, 10% de acetilación. El uso de un PIA (PNAG) desacetilado se prefiere, dado que los epítomos no acetilados del PNAG son eficientes para mediar la eliminación opsónica de las bacterias Gram positivas, preferiblemente *S. aureus* y/o *S. epidermidis*. Mucho más preferiblemente, el PIA (PNAG) tiene un tamaño de entre 40 kDa y 300 kDa y está desacetilado de manera que menos de 60%, 50%, 40%, 30% o 20% de los grupos amino están acetilados.

El término PNAG desacetilado (dPNAG) se refiere a un polisacárido u oligosacárido PNAG en el cual menos de 60%, 50%, 40%, 30%, 20% o 10% de los grupos amino están acetilados.

En una modalidad, el PNAG es desacetilado para formar dPNAG tratando químicamente el polisacárido natural. Por ejemplo, el PNAG natural se trata con una solución básica, de tal forma que el

pH aumente a más de 10. Por ejemplo el PNAG se trata con 0.1-5 M, 0.2-4 M, 0.3-3 M, 0.5-2 M, 0.75-1.5 M o 1 M de NaOH, KOH o NH₄OH. El tratamiento es durante al menos 10 o 30 minutos, o 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 o 20 horas a una temperatura de 20-100, 25-80, 30-60 o 30-50 o 35-45 °C. dPNAG se puede preparar como se describe en WO 04/43405.

El o los polisacáridos incluidos en la composición inmunogénica de la invención preferiblemente están conjugados con una proteína portadora como se describe más adelante o de manera alternativa, no están conjugados.

Polisacáridos tipo 5 y tipo 8 de *S. aureus*

La mayoría de las cepas de *S. aureus* que ocasionan infección en el hombre contiene polisacáridos de tipo 5 o de tipo 8. Aproximadamente 60% de las cepas humanas son de Tipo 8 y aproximadamente 30% son de Tipo 5. Las estructuras de los antígenos polisacáridos capsulares de tipo 5 y tipo 8 se describen en Moreau *et al* Carbohydrate Res. 201 ; 285 (1990) y Fournier *et al* Infect. Immun. 45; 87 (1984). Ambas tienen FucNAc en su unidad de repetición, así como también ManNAcA, lo que puede usarse para introducir un grupo sulfhidrilo

Tipo 5

→ 4)-β-D-ManNAcA(3OAc)-(1→ 4)-α-L-FucNAc(1→ 3)-β-D-FucNAc-(1 →

Tipo 8

→ 3)-β-D-ManNAcA(4OAc)-(1→ 3)-α-L-FucNAc(1→ 3)-β-D-

FucNAc-(1 →

Recientemente (Jones Carbohydrate Research 340, 1097-1106 (2005)) la espectroscopia con NMR produjo una revisión de las estructuras así:

5 Tipo 5

→ 4)-β-D-ManNAcA-(1→ 4)-α-L-FucNAc(3OAc)-(1→ 3)-β-D-

FucNAc-(1 →

Tipo 8

→ 3)-β-D-ManNAcA(4OAc)-(1→ 3)-α-L-FucNAc(1→ 3)-α-D-

10 FucNAc(1 →

Los polisacáridos pueden ser extraídos de la cepa apropiada de *S. aureus* usando métodos que son familiares para el conocedor de la materia, por ejemplo como se describe en US6294177. Por ejemplo, ATCC 12902 es una cepa de *S. aureus* Tipo 5 y ATCC

15 12605 es una cepa de *S. aureus* Tipo 8.

Los polisacáridos son de tamaño natural, o de manera alternativa, pueden ser dimensionados, por ejemplo mediante micro fluidización, irradiación ultrasónica o mediante tratamiento químico. La invención también cubre oligosacáridos provenientes de los

20 polisacáridos tipo 5 y tipo 8 de *S. aureus*.

Los polisacáridos tipo 5 y tipo 8 incluidos en la composición inmunogénica de la invención preferiblemente están conjugados con una proteína portadora como se describe más adelante o de manera alternativa, no están conjugados

25 La composición inmunogénicas de la invención de manera

alternativa, contiene polisacárido de tipo 5 o de tipo 8.

Antígeno 336 de *S. aureus*

En una modalidad, la composición inmunogénica de la invención contiene el antígeno 336 de *S. aureus* que se describe en
5 US 6294177.

El antígeno 336 contiene hexosamina β -ligada, no contiene grupos O-acetilo y específicamente se enlaza a anticuerpos para *S. aureus* Tipo 336 depositados bajo ATCC 55804.

En una modalidad, el antígeno 336 es un polisacárido que es
10 de tamaño natural o de manera alternativa, puede ser dimensionado, por ejemplo mediante micro fluidización, irradiación ultrasónica o mediante tratamiento químico. La invención también cubre oligosacáridos provenientes del antígeno 336

El antígeno 336, cuando se incluye en la composición
15 inmunogénica de la invención preferiblemente está conjugado con una proteína portadora como se describe más adelante, o de manera alternativa, no están conjugados.

Polisacáridos de tipo I, II y III de *S. epidermidis*.

Las cepas ATCC-31432, SE-360 y SE-10 de *S. epidermidis*,
20 son características de tres tipos capsulares diferentes, I, II y III respectivamente (Ichiman y Yoshida 1981, J. Appl. Bacteriol. 51; 229). Los polisacáridos capsulares extraídos de cada serotipo de *S. epidermidis* constituyen polisacáridos de Tipo I, II y III Los polisacáridos se pueden extraer mediante varios métodos,
25 incluyendo el método que se describe en US4197290 o como se

describe en Ichiman *et al* 1991, J. Appl Bacteriol. 71 ; 176

En una modalidad de la invención, la composición inmunogénica contiene polisacáridos u oligosacáridos de tipo I y/o II y/o III de *S. epidermidis*.

5 Los polisacáridos son de tamaño natural o de manera alternativa, pueden ser dimensionados, por ejemplo mediante micro fluidización, irradiación ultrasónica o escisión química. La invención también cubre oligosacáridos extraídos de cepas de *S. epidermidis*.

Estos polisacáridos no están conjugados, o preferiblemente
10 están conjugados como se describe más adelante.

Conjugación de polisacáridos

Entre los problemas asociados con el uso de polisacáridos en vacunación, el hecho es que los polisacáridos *per se* son inmunogénicos deficientes. Las estrategias que se han diseñado
15 para superar esta falta de inmunogenicidad, incluyen en enlace del polisacárido a proteínas portadoras grandes, que proporcionan ayuda de células T presenciales. Se prefiere que los polisacáridos utilizados en la invención estén ligados con una proteína portadora que proporcione ayuda de células T presenciales. Los ejemplos de
20 estos portadores que se usan actualmente para acoplarse a inmunogénicos polisacáridos u oligosacáridos incluyen los toxoides de Difteria y Tétano (DT, DT Crm197 y TT), Hemocianina de Iapa californiana (KLH), exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* (rEPA) y el derivado de proteína purificado de Tuberculina (PPD),
25 proteína D de *Haemophilus influenzae*, neumolisina o fragmentos de

cualquiera de los anteriores. Los fragmentos apropiados para su uso incluyen fragmentos que contienen epítopos de células T auxiliares. En particular, el fragmento de proteína D preferiblemente contendrá el terminal N 1/3 de la proteína. La proteína D es una proteína de
5 enlace con IgD de *Haemophilus influenzae* (EP 0 594 610 B1)

A pesar del uso común de estos portadores y su éxito en la inducción de respuestas de anticuerpo anti polisacáridos, están asociados con varias desventajas. Por ejemplo, se sabe que las respuestas inmunogénicas específicas para el antígeno pueden ser
10 suprimidas por la presencia de anticuerpos preexistentes dirigidos contra el portador, en este caso la toxina tetánica (Di John *et al*; Lancet, 16 de diciembre, 1989). En la población, un porcentaje muy grande de personas tendrán inmunidad pre-existente tanto a DT como a TT, dado que la gente se vacuna rutinariamente con estos
15 antígenos. En el Reino Unido, por ejemplo, 95% de los niños reciben la vacuna de DTR, que contiene tanto DT como TT. Otros autores han descrito el problema de la supresión de epítipo para vacunas péptidas en modelos animales. (Sad *et al*, Immunology, 1991 ; 74:223-227; Schutze *et al*, J. Immunol. 135: 4, 1985; 2319-2322)

20 El KLH se conoce como un potente inmunogénico y ya ha sido usado como un portador para péptidos IgE en pruebas clínicas en seres humanos. Sin embargo, se ha observado algunas reacciones adversas (reacciones similares a DTH o sensibilización a IgE) así como también respuestas de anticuerpo contra anticuerpo.

25 Una proteína portadora alternativa para su uso en la

composición inmunogénica de la invención es una proteína estafilocócica sola o un fragmento de ella, o una proteína de fusión que contiene al menos o exactamente 1, 2, 3 o 4 o más de las proteínas estafilocócicas enumeradas en la siguiente sección, o
5 fragmentos de ellas.

Una nueva proteína portadora que podría ser particularmente ventajosa para su uso en el contexto de una vacuna estafilocócica es el toxoide alfa estafilocócico. La forma natural puede estar conjugada con un polisacárido, dado que el proceso de conjugación
10 reduce la toxicidad. Preferiblemente se usa una toxina alfa desintoxicada genéticamente, tal como las variantes His35Leu o His 35 Arg como portadores, dado que la toxicidad residual es menor. De manera alternativa, la toxina alfa es desintoxicada químicamente mediante tratamiento con un reactivo reticulante, formaldehído o
15 glutaraldehído. Una toxina alfa desintoxicada genéticamente es desintoxicada químicamente de manera opcional, preferiblemente mediante tratamiento con un reactivo reticulante, formaldehído o glutaraldehído para reducir aún más la toxicidad. Otras proteínas estafilocócicas o fragmentos de ellas, particularmente las que se
20 mencionan aquí anteriormente, se pueden usar como proteína portadora para los polisacáridos enumerados antes. La proteína portadora puede ser una proteína de fusión que contiene al menos o exactamente 1, 2, 3, 4 o 5 de las proteínas estafilocócicas enumeradas anteriormente.

25 Los polisacáridos pueden ser ligados a la proteína o proteínas

portadoras mediante cualquier método conocido (por ejemplo, mediante Likhite, patente estadounidense número 4,372,945 de Armor *et al.*, patente estadounidense número 4,474,757, y Jennings *et al.*, patente estadounidense número 4,356,170). Preferiblemente se lleva a cabo la química de conjugación CDAP (véase WO95/08348).

En la CDAP, el reactivo cianilante tetrafluoroborato de 1-ciano-dimetilaminopiridinio (CDAP) preferiblemente se usa para la síntesis de conjugados de polisacárido-proteína. La reacción de cianilación puede realizarse bajo condiciones relativamente suaves, lo que permite la hidrólisis de los polisacáridos sensibles a la alcalinidad. Esta síntesis permite acoplamiento directo con una proteína portadora.

El polisacárido puede ser solubilizado en agua o en una solución salina. El CDAP se puede disolver en acetonitrilo y añadirse inmediatamente a la solución de polisacárido. El CDAP reacciona con los grupos hidroxilo del polisacárido para formar un éster de cianato. Después del paso de activación, se añade la proteína portadora. Los grupos amino de lisina reaccionan con el polisacárido activado para formar un enlace covalente isourea. Después de la reacción de acoplamiento, se le añade un gran excedente de glicina para extinguir los grupos funcionales residuales activados. Luego se hace pasar el producto a través de una columna de permeación de gel para eliminar la proteína portadora y los reactivos residuales que no reaccionaron.

Proteínas

La composición inmunogénica de la invención preferiblemente contiene además una proteína estafilocócica, más preferiblemente una proteína de *S. aureus* o de *S. epidermidis*. Algunas modalidades
5 de la invención contienen proteínas tanto de *S. aureus* como de *S. epidermidis*. Las composiciones inmunogénicas de la invención incluyen una proteína aislada que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85% de identidad, preferiblemente al menos 90% de identidad, más preferiblemente al menos 95% de
10 identidad, mucho más preferiblemente al menos 97-99% o identidad exacta con la de cualquier secuencia de la figura 1.

Cuando se menciona específicamente una proteína aquí, preferiblemente es una referencia a una proteína de longitud completa, natural o recombinante, u opcionalmente una proteína
15 madura en la cual se ha eliminado cualquier secuencia de señal. La proteína puede ser aislada directamente de la cepa estafilocócica o producida mediante técnicas de ADN recombinante. Se puede incorporar fragmentos inmunogénicos de la proteína en la composición inmunogénica de la invención. Estos son fragmentos
20 que contiene al menos 10 aminoácidos, preferiblemente 20 aminoácidos, más preferiblemente 30 aminoácidos, más preferiblemente 40 aminoácidos o 50 aminoácidos, mucho más preferiblemente 100 aminoácidos, tomados de manera contigua de la secuencia de aminoácidos de la proteína. Además, estos fragmentos
25 inmunogénicos típicamente son reactivos inmunológicamente con los

anticuerpos generados contra la proteínas estafilocócicas o con los anticuerpos generados mediante infección de un anfitrión mamífero con estafilococos o contienen epítopos de células T. Los fragmentos inmunogénicos también incluyen fragmentos que cuando se administran en una dosis efectiva, (ya sea solos o como un hapteno unido a un portador), desencadenan una respuesta inmunogénica protectora contra la infección estafilocócica, más preferiblemente es protector contra infección por *S. aureus* y/o *S. epidermidis*. Un fragmento inmunogénico como este puede incluir, por ejemplo, la proteína que carece de una secuencia guía en el terminal N, y/o un dominio transmembrana y/o un dominio ancla en el terminal C. En un aspecto preferido, el fragmento inmunogénico de acuerdo con la invención contiene sustancialmente todo el dominio extracelular de una proteína que tiene al menos 85% de identidad, preferiblemente al menos 90% de identidad, más preferiblemente al menos 95% de identidad, mucho más preferiblemente al menos 97-99% de identidad, con la de la secuencia seleccionada de la Figura 1 en la longitud completa de la secuencia del fragmento.

En una modalidad, las composiciones inmunogénicas de la invención pueden contener proteínas de fusión de proteínas estafilocócicas, o fragmentos de proteínas estafilocócicas. Estas proteínas de fusión se pueden elaborar de manera recombinante, y pueden contener una porción de al menos 2, 3, 4, 5 o 6 proteínas estafilocócicas. De manera alternativa, una proteína de fusión puede contener múltiples porciones de al menos 2, 3, 4 o 5 proteínas

estafilocócicas. Estas pueden combinar diferentes proteínas estafilocócicas o fragmentos de ellas en la misma proteína. De manera alternativa, la invención también incluye proteínas de fusión individuales de proteínas estafilocócicas o fragmentos de ellas, como una proteína de fusión con secuencias heterólogas tal como una proveedora de epítopos de células T o etiquetas de purificación, por ejemplo: β -galactosidasa, glutatión-S-transferasa, proteína verde fluorescente (GFP), etiquetas de epítipo tales como FLAG, etiqueta myc, poli histidina, o proteínas superficiales virales tales como hemaglutinina del virus de la influenza, o proteínas bacterianas tales como toxoide tetánico, toxoide diftérico, CRM197.

Proteínas

En una modalidad, la composición inmunogénica de la invención contiene además una o más de las proteínas mencionadas más adelante. Muchas de las proteínas preferidas caen en las categorías de proteínas de enlaces de componente extracelular, proteínas transportadoras o toxinas y reguladores de virulencia. La composición inmunogénica de la invención además contiene opcionalmente a proteína de enlace de componente extracelular estafilocócica o una proteína transportadora estafilocócica o una toxina estafilocócica o regulador de virulencia. La composición inmunogénica de la invención contiene opcionalmente al menos o exactamente 1, 2, 3, 4, 5 o 6 proteínas estafilocócicas.

Tabla 1

La siguiente tabla presenta los números de SEQ ID de las

secuencias de proteína y de las secuencias de ADN que se encuentran en la Figura 1 y en la Figura 2 respectivamente. SA indica una secuencia de *S. aureus* y SE indica una secuencia de *S. epidermidis*

5

10

15

20

Nombre	Secuencia de proteínas	Secuencia de ADN
Transportador ABC inmunodominante SA SE		
	SEQ ID 1	SEQ ID 34
	SEQ ID 2	SEQ ID 35
Receptor de laminina SA SE		
	SEQ ID 3	SEQ ID 36
	SEQ ID 4	SEQ ID 37
Antígeno secretor A SsaA SA1 SA2 SE		
	SEQ ID 5	SEQ ID 38
	SEQ ID 6	SEQ ID 39
	SEQ ID 7	SEQ ID 40

25

	SitC		
	SA	SEQ ID 8	SEQ ID 41
	SE	SEQ ID 9	SEQ ID 42
5	IsA / PisA (IssA)		
	SA	SEQ ID 10	SEQ ID 43
	SE	SEQ ID 11	SEQ ID 44
10	EbhA / B		
	SA EbhA	SEQ ID 12	SEQ ID 45
	SA EbhB	SEQ ID 13	SEQ ID 46
	SE EbhA	SEQ ID 14	SEQ ID 47
15	SE EbhB	SEQ ID 15	SEQ ID 48
	Acumulación-asoc. pro Aap		
	SA	SEQ ID 16	SEQ ID 49
	SE	SEQ ID 17	SEQ ID 50
20	Proteína activadora de ARNIII		
	RAP	SEQ ID 18	SEQ ID 51
	SA		
	SE	SEQ ID 19	SEQ ID 52
25			

	FIG / SdrG		
	SA	SEQ ID 20	SEQ ID 53
	SE	SEQ ID 21	SEQ ID 54
5	Proteína fijadora de elastina		
	EbpS	SEQ ID 22	SEQ ID 55
	SA	SEQ ID 23	SEQ ID 56
	SE		
10	Proteína extracelular EFB SA	SEQ ID 24	SEQ ID 57
	Toxina alfa SA	SEQ ID 25	SEQ ID 58
	SBI SA	SEQ ID 26	SEQ ID 59
15	IsdA SA	SEQ ID 27	SEQ ID 60
	IsdB SA	SEQ ID 28	SEQ ID 61
	SdrC SA	SEQ ID 29	SEQ ID 62
	CfiA SA	SEQ ID 30	SEQ ID 63
20	FnbA SA	SEQ ID 31	SEQ ID 64
	CifA SA	SEQ ID 32	SEQ ID 65
	Coagulasa SA	SEQ ID 33	SEQ ID 66
25	FnbB SA	SEQ ID 67	SEQ ID71

MAP SA	SEQ ID 68	SEQ ID 72
SdrC SA	SEQ ID 69	SEQ ID 73
SdrG SA	SEQ ID 70	SEQ ID 74

5

Proteínas de enlaces de componente extracelular

Las proteínas de enlaces de componente extracelular son proteínas que se unen a componentes extracelulares del anfitrión. El término incluye las adhesinas, pero no se limita a ellas. Los

10 ejemplos de proteínas de enlaces de componente extracelular incluyen receptor de laminina (Naidu *et al* J. Med. Microbiol. 1992, 36; 177), proteína de enlace de SitC/MntC/saliva (US5801234, Wiltshire y Foster Infec. Immun. 2001, 69; 5198), EbhA (Williams *et al* Infect Immun. 2002, 70; 6805), EbhB, Proteína de enlace de

15 elastina (EbpS) (Park *et al* 1999, J. Biol. Chem. 274; 2845), EFB (FIB) (Wastfelt y Flock 1995, J. Clin. Microbiol. 33; 2347), SBI (Zhang *et al* FEMS Immun. Med. Microbiol. 2000, 28; 211), autolisina (Rupp *et al* 2001, J Infect. Dis. 183; 1038), ClfA (US6008341, McDevitt *et al* Mol. Microbiol 1994, 11 ; 237), SdrC, SdrG (McCrea

20 *et al* Microbiology 2000, 146; 1535), SdrH (McCrea *et al* Microbiology 2000, 146; 1535), Lipasa GehD (US2002/0169288), SasA, FnbA (Flock *et al* Mol Microbiol. 1994, 12; 599, US6054572), FnbB (WO 97/14799, Booth *et al* 2001 Infec. Immun. 69; 345), proteína de enlace de colágeno Cna (Visai *et al* 2000, J. Biol Chem. 275;

25 39837), ClfB (WO 99/27109), FbpA (Phonimdaeng *et al* 1988 J. Gen

Microbiol 134; 75), Npasa (Flock 2001 J. Bacteriol. 183; 3999),
 IsaA/PisA (Lonenz *et al* FEMS Immuno. Med. Microbiol. 2000, 29;
 145), SsaA (Lang *et al* FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2000, 29;
 213), EPB (Hussain y Hermann Simposio en Staph Dinamarca 14-17
 5 2000), SSP-1 (Veenstra *et al* 1996, J. Bacteriol. 178; 537), SSP-2
 (Veenstra *et al* 1996, J Bacteriol 178; 537), proteína de enlace de
 heparina HBP de 17 kDa (Fallgren *et al* 2001, J. Med. Microbiol. 50;
 547), proteína de enlace de vitronectina (Li *et al* 2001, Curr.
 Microbiol 42; 361), proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa,
 10 Fig (WO 97/48727) y MAP (US5648240)

Proteína de enlace de SitC/MntC/saliva

Esta es una proteína transportadora ABC, la cual es un
 homólogo de adhesina PsaA en *S. pneumoniae*. Es una lipoproteína
 altamente inmunogénica de 32 kDa que está distribuida en la pared
 15 celular bacterial (Cockayne *et al* Infect. Immun. 1998 66; 3767). Se
 expresa en *S. aureus* y *S. epidermidis* como una lipoproteína de 32
 kDa y un homólogo de 40 kDa está presente en *S. hominis*. En *S.*
epidermidis, es un componente de un operón regulado por hierro
 Muestra considerable homología con ambas adhesinas, incluyendo
 20 FimA de *Streptococcus parasanguis*, y con lipoproteínas de una
 familia de transportadores ABC con funciones de transporte de ion
 metálico probadas o supuestas. Por lo tanto la SitC está incluida
 como una proteína de enlace extracelular y como un transportador de
 ion metálico.

25 La proteína de enlace de saliva descrita en US 5,801,234

también es una forma de SitC y puede ser incluida en una composición inmunogénica de la invención.

ClfA y ClfB

Ambas de estas proteínas tienen actividad de enlace de
5 fibrinógeno y impulsan la formación de agrupamientos de *S. aureus*
en la presencia de plasma. Ellas contienen un motivo LPXTG común
a las proteínas asociadas a la pared.

La ClfA es como se describe en US6008341 y la ClfB es como
se describe en WO 99/27109.

10 **Coagulasa (FbpA)**

Esta es una proteína de enlace de fibrinógeno que impulsa la
formación de agrupamientos de *S. aureus* en la presencia de plasma.
Es como se describe en las referencias relacionadas con la
coagulasa : Phonimdaeng *et al* (J. Gen. Microbio. 1988, 134:75-83),
15 Phonimdaeng *et al*. (Mol Microbiol 1990; 4:393- 404), Cheung *et al*.
(Infect Immun 1995; 63:1914-1920) y Shopsisin *et al*. (J. Clin.
Microbiol. 2000; 38:3453-3456).

Los fragmentos preferidos para su inclusión en la composición
inmunogénica de la invención incluyen la proteína madura en la cual
20 el péptido señal ha sido eliminado (aminoácidos 27 hasta el término
C).

La coagulasa tiene tres dominios distintos. Los aminoácidos
59-297 que forman una región en doble espiral, los aminoácidos 326-
505 que son una región rica en prolina y en glicina y el dominio del
25 terminal C desde el aminoácido 506 hasta el 645, el cual tiene una

conformación en lámina beta. Cada uno de estos dominios es un fragmento que puede ser incorporado en la composición inmunogénica de la invención.

SdrG

5 Esta proteína está descrita en WO 00/12689. La SdrG se encuentra en los estafilococos negativos a la coagulasa, y es una proteína asociada a la pared celular, que contiene una secuencia LPXTG.

10 La SdrG contiene un péptido señal (aminoácidos 1-51), una región que contiene sitios de enlace de fibrinógeno y sitios de enlace de colágeno (aminoácidos 51-825), dos dominios CnaB (aminoácidos 627-698 y 738-809), una región de repetición de SD(aminoácidos 825-1000) y un dominio ancla (aminoácidos 1009-1056).

15 Los fragmentos preferidos de SdrG incluyen polipéptidos en los cuales el péptido señal y/o las repeticiones de SD y el dominio ancla han sido eliminados. Estos incluyen polipéptidos que contienen o que consisten en aminoácidos 50-825, aminoácidos 50-633, aminoácidos 50-597 (SEQ ID NO 2 de WO 03/76470), aminoácidos 273-597 (SEQ ID NO 4 de WO 03/76470), aminoácidos 273-577 (SEQ ID NO 6 de
20 WO 03/76470) aminoácidos 1-549, aminoácidos 219-549, aminoácidos 225-549, aminoácidos 219-528, aminoácidos 225-528 de SEQ ID NO: 70 o 20 o 21.

25 Preferiblemente, un polipéptido SdrG que tiene una secuencia con al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o 100% de homología con la secuencia de SEQ ID NO: 70, 20 o 21 está

incorporado en la composición inmunogénica de la invención. Las composiciones de la invención opcionalmente contienen un fragmento de los polipéptidos SdrG descritos anteriormente.

Los fragmentos preferidos tienen el péptido señal y/o el dominio de repetición de SD y/o el dominio ancla eliminado. Por ejemplo, las secuencias que corresponden a los aminoácidos 1-713, 1-549, 225-549, 225-529, 24-717, 1-707, 1-690, 1-680, 1-670, 1-660, 1-650, 1-640, 1-630, 1-620, 1-610, 1-600, 34-707, 44-697, 36-689 de SEQ ID 70 o las secuencias que tienen 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con la SEQ ID 70 o 20 o 21.

Los fragmentos preferidos con el péptido señal eliminado tienen un residuo metionina en el término N del fragmento para asegurar la traducción correcta.

Un fragmento más preferido tiene la siguiente secuencia:

15 MEENSVQDVKDSNTDDELSDSNDQSSDEEKNDVINNNQSINTDD
NNQIIKKEETNNYDGIKRSEDRTESTTNVDENEATFLQKTPQDNTHLT
EEEVKESSSVESSNSSIDTAQQPSHTTINREESVQTSDNVEDSHVSDF
ANSKIKESNTESGKEENTIEQPNKVKEDSTTSQPEGYTNIDEKISNQDE
LLNLPINEYENKARPLSTTSAQPSIKRVTVNQLAAEQGSNVNHLIK
20 VTDQSITEGYDDSEGVKAHDAENLIYVTFEVDDKVKSGDTMTVDIDKN
TVPSDLTDSFTIPKIKDNSGEIATGTYDNKNKQITYTFTDYVDKYENIKA
HLKLTSYIDKSKVPNNNTKLDVEYKTALSSVNKTITVEYQRPNENRTAN
LQSMFTNIDTKNHTVEQTIYINPLRYSAKETNVNISGNGDEGST
IIDDSTIIKVYKVGDNQNLPSNRIYDYSEYEDVTNDDYAQLGNN
25 NDVNINFGNIDSPYIIKVISKYDPNKDDYTTIQQTVTMQTTINEYTGEFRT

ASYDNTIAFSTSSGQQGGDLPPPEKTYKIGDYVWEDVDKDG IQNTNDNE
 KPLSNVLVTLTYPDGTSKSVRTDEDGKYQFDGLKNGLT YKITFETPEGY
 TPTLKHS GTNPALDSEGN SVWVTINGQDDMTIDSGFYQTPKYSLGNY

VWYDTNKDGIQGDDEKGISGVKVT LKDENGNIISTTTT DENGKYQ

5 FDNLNSGNYIVHFDKPSGMTQTTTDSGDDDEQDADGEEVHVTITDHDD
 FSIDNGYYDDE

EbhA y EbhB

EbhA y EbhB son proteínas que se expresan tanto en *S. aureus* como en *S. epidermidis* (Clarke y Foster Infect. Immun. 2002, 70; 6680, Williams *et al* Infect. Immun. 2002, 20; 6805) y las cuales se
 10 enlazan a la fibronectina. Dado que la fibronectina es un componente importante de la matriz extracelular, la EbhA y la EbhB tienen una función importante en la adherencia de los estafilococos a la matriz extracelular del anfitrión.

15 Las proteínas Ebh son grandes, tienen un peso molecular de 1.1 mega Dalton. Es ventajoso usar un fragmento de la proteína Ebh en lugar de la secuencia completa, debido a la facilidad de producción y formulación. La región central de la proteína contiene repeticiones imperfectas que contienen sitios de enlace de
 20 fibronectina. Los fragmentos que contienen uno o más de los dominios de repetición descritos más adelante son los fragmentos preferidos para su incorporación en la composición inmunogénica de la invención

Las proteínas Ebh contienen unidades de repetición
 25 imperfectas de 127 aminoácidos de longitud, las cuales están

67

caracterizadas porque contienen la secuencia de consenso:

L G {10}A.{13}Q.{26}L...M..L. {33}A

Preferiblemente

. {19}L.G.{10}A.{13}Q. {26}L...M..L.{33}A. {12}

5 Más preferiblemente

. ..I/V..A ..1/V..AK ALN/DG..NL..AK..A.{6}L..LN.AQK..L..QI/V..

A. V .V.{6}A..LN/D.AM..L...I/V.D/E ..TK.S.NY/F.N/DAD..K..AY/F..AV..

A .I/V.N/D.... .

10 En donde "." significa cualquier aminoácido y "{10}" significa cualesquiera 10 aminoácidos y I/V indica elecciones alternativas de aminoácido .

Mediante referencia a la secuencia descrita en Kuroda *et al* (2001) Lancet 357; 1225-1240, y en la Tabla 2, las secuencias de repetición dentro de las proteínas Ebh se deduce fácilmente.

15 Los fragmentos preferidos para ser incluidos en la composición inmunogénica de la invención incluyen proteínas que están constituidas por uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más de 10 de las 127 unidades de repetición del aminoácido. Estos fragmentos pueden consistir en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 20 8, 9, 10 o más repeticiones de la región de repetición 127 del aminoácido, o pueden consistir en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más repeticiones con residuos adicionales de aminoácidos presentes en cualquiera de los extremos o en ambos extremos del fragmento. Otro fragmento preferido es el polipéptido H2 de 44 kDa, que abarca tres 25 repeticiones (aminoácidos 3202-3595) como se describe en Clarke *et*

al Infection and Immunity 70, 6680- 6687, 2002. Estos fragmentos preferiblemente serán capaces de fijar la fibronectina y/o de producir anticuerpos que sean reactivos contra la proteína Ebh completa.

5 Las proteínas Ebh son capaces de enlazarse a la fibronectina. Los fragmentos preferidos de estas secuencias de polipéptidos mantienen la capacidad de enlazarse a la fibronectina. El enlace a la fibronectina se puede evaluar mediante ELISA según se describe en Clarke *et al* (*Infection and Immunity* 70; 6680-6687 2002).

10 Todavía adicionalmente, los fragmentos preferidos son los que contienen un epítipo de célula B o de auxiliar T, por ejemplo los fragmentos/péptidos que se describen en las Tablas 3 y 4.

Tabla 2: Secuencias de repetición en la secuencia de longitud completa de Ebh.

15 La secuencia de longitud completa de Ebh se describe en Kuroda *et al* (2001) *Lancet* 357; 1225- 1240 La siguiente tabla muestra los residuos de aminoácidos en los cuales el aminoácido 127 principia y finaliza las repeticiones en la secuencia de longitud completa.

20

	Principio	Final
1	3204	3330
2	3331	3457
3	3457	3583

25

5

10

15

20

25

4	3583	3709
5	3709	3835
6	3835	3961
7	3961	4087
8	4200	4326
9	4326	4452
10	4452	4578
11	4578	4704
12	4704	4830
13	4830	4956
14	4956	5082
15	5082	5208
16	5208	5334
17	5334	5460
18	5460	5586
19	5585	5711
20	5711	5837

5

10

15

20

25

21	5837	5963
22	5963	6089
23	6089	6215
24	6215	6341
25	6341	6467
26	6467	6593
27	6593	6719
28	6719	6845
29	6845	6971
30	6971	7097
31	7097	7223
32	7223	7349
33	7349	7475
34	7475	7601
35	7601	7727
36	7727	7853
37	7852	7978

5

10

38	7978	8104
39	8104	8230
40	8230	8356
41	8356	8482
42	8482	8608
43	8604	8730
44	8858	8984

Tabla 3. Predicción de epítipo de células B para una repetición del aminoácido 127:

La secuencia de longitud completa se describe en Kuroda et al (2001) Lancet 357; 1225-1240. Una de estas repeticiones, codificada por los aminoácidos 3204-3331 de la secuencia de longitud completa, se escogió para llevar a cabo una predicción de epítipo

MDVNTVNQKAASVKSTKDALDGQQNLQRAKTEATNAITHASDLN
QAQKNALTQQVNSAQNVHAVNDIKQTTQSLNTAMTGLKRGVANHNQV
VQSDNYVNADTNKK NDYNNAYNHANDIINGNAQHPVI

25

Principio	Final	Secuencia de epítipos	Inicio	Fin
5	10	TVNQKA	3208	3213
14	19	KSTKDA	3217	3222
21	33	DGQQNLQRAKTEA	3224	3236

5

42	51	DLNQAQKNAL	3245	3254
66	74	DIKQTTQSL	3269	3277
100	112	ADTNKKNDYNNAY	3303	3315
117	123	DIINGNA	3320	3326

Las columnas "principio" y "final" presenta la posición de los epítomos de células B predichos en la repetición del aminoácido 127.

Las columnas "inicio" y "fin" presentan la posición de los epítomos de células B predichos en la secuencia de Ebh de longitud completa.

Tabla 4: Predicción de epítomo de células T auxiliares en Ebh :

La secuencia de longitud completa se describe en la base de datos TrEMBL, referencia de secuencia Q8NWQ6. Una de estas repeticiones, codificada por los aminoácidos 3204-3331 de la secuencia de longitud completa, se escogió para llevar a cabo una predicción de epítomo:

MDVNTVNQKAASVKSTKDALDGQQNLQRAKTEATNAITHASDLN
QAQBCNALTQQVNSAQNVHAVNDIKQTTQSLNTAMTGLKRGVANHNQ
VVQSDNYVNADTNKK NDYNNAYNHANDIINGNAQHPVI

20

Posición en la repetición	Secuencia de epítomo	Posición en la secuencia
1	MDVNTVNQK	3204
3	VNTVNQKAA	3206

25

5

10

15

20

25

6	VNQKAASVK	3209
26	LQRAKTEAT	3229
37	ITHASDLNQ	3240
43	LNQAQKNAL	3246
51	LTQAQKNA	3254
55	VNASAQNVHA	3258
61	VHAVNDIKQ	3264
64	VNDIKQTTQ	3267
67	IKQTTQSLN	3270
74	LNTAMTGLK	3277
78	MTGLKRGVA	3281
81	LKRGVANHN	3284
85	VANHNQVVQ	3288
91	VVQSDNYVN	3294
92	VQSDNYVNA	3295
97	YVNADTNKK	3301
98	VNADTNKKN	3302

104

5

108	YNNAYNHAN	3311
112	YNHANDIIN	3315
118	IINGNAQHP	3321
119	INGNAQHPV	3322

La columna "Posición de repetición" presenta la posición de los epítomos de células T predichos en la repetición

La columna "Posición en la secuencia" presenta la posición de los epítomos de células T predichos en la secuencia de Ebh de longitud completa.

Los fragmentos de las proteínas de la invención pueden ser empleados para producir el correspondiente polipéptido de longitud completa mediante síntesis de péptidos; por lo tanto, estos fragmentos se pueden emplear como productos intermedios para producir las proteínas de longitud completa de la invención.

Se prefiere particularmente a las variantes en las cuales varios, 5-10, 1-5, 1-3, 1-2 o 1 aminoácidos están sustituidos, eliminados, o añadidos en cualquier combinación.

20 **Proteína de enlace de elastina (EbpS)**

La EbpS es una proteína que contiene 486 aminoácidos con un peso molecular de 83kDa. Está asociada con la membrana citoplásmica de *S. aureus* y tiene tres regiones hidrofóbicas que mantienen la proteína en la membrana (Downer *et al* 2002, J. Biol. Chem 277; 243; Park *et al* 1996, J. Biol. Chem. 271 ; 15803).

105

Dos regiones entre los aminoácidos 1-205 y 343-486 están expuestas superficialmente en la cara exterior de la membrana citoplásmica. El dominio de enlace del ligando EbpS está localizado entre los residuos 14-34 en el término N (Park *et al* 1999, J. Biol. Chem. 274; 2845).

Un fragmento preferido para ser incorporado en la composición inmunogénica de la invención es el fragmento expuesto superficialmente que contiene la región de enlace a elastina (aminoácidos 1-205). Algunos de los fragmentos preferidos no contienen el lazo entero expuesto, pero deben contener la región de enlace a elastina (aminoácidos 14-34). Un fragmento alternativo que podría usarse consiste en los aminoácidos que forman el segundo lazo expuesto superficialmente (aminoácidos 343-486) También son posibles fragmentos que contengan hasta 1, 2, 5, 10, 20, 50 aminoácidos menos en uno o en ambos extremos.

Receptores de laminina

El receptor de laminina de *S. aureus* juega un papel importante en la patogenicidad. Una característica clave de la infección es la invasión del torrente sanguíneo, lo que permite la formación de abscesos metastásicos diseminada ampliamente. La invasión del torrente sanguíneo requiere la habilidad para extravasarse a través de la membrana de base vascular. Esto se logra mediante el enlace a la laminina a través del receptor de laminina (Lopes *et al* Science 1985, 229; 275).

Los receptores de laminina están expuestos superficialmente y

están presentes en muchas cepas de estafilococos, incluyendo *S. aureus* y *S. epidermidis*.

SBI

La Sbi es una segunda proteína de enlace a IgG además de la
5 proteína A, y se expresa en la mayoría de las cepas de *S. aureus*
(Zhang *et al* 1998, Microbiology 144; 985).

El término N de la secuencia de Sbi tiene una secuencia de señal típica con un sitio de escisión después del aminoácido 29. Por lo tanto, un fragmento preferido de Sbi para ser incorporado en una composición inmunogénica de la invención comienza en el residuo de aminoácido 30, 31, 32 o 33 y continúa hasta el término C de la Sbi, por ejemplo de SEQ ID NO: 26.

El dominio de enlace de IgG de Sbi ha sido identificado como una región hacia el término N de la proteína de los aminoácidos 41-92. Este dominio es homólogo con el dominio de enlace a IgGs de la proteína A.

El dominio de enlace de IgG de Sbi mínimo contiene la siguiente secuencia:

QTTQNNYVTDQOKAFYQVLHLKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLEK

20

☆☆ ☆☆☆ ☆ ☆☆☆ ☆ ☆ ☆ ☆ ☆ ☆

* indica aminoácidos que son similares entre dominios de enlace a IgGs

El fragmento preferido de Sbi para ser incluido en la composición inmunogénica de la invención contiene un dominio de
25 enlace a IgG. Este fragmento contiene la secuencia de consenso

para un dominio de enlace a IgG según se indica mediante * tal como se muestra en la secuencia anterior. Preferiblemente el fragmento contiene o consiste en la secuencia completa mostrada anteriormente. Más preferiblemente, el fragmento contiene o consiste

5 en los aminoácidos 30-92, 33-92, 30-94, 33-94, 30-146, 33-146, 30-150, 33-150, 30-160, 33-160, 33-170, 33-180, 33-190, 33-200, 33-205 o 33-210 de Sbi, por ejemplo de SEQ ID NO:26.

El fragmento preferido puede contener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 sustituciones de aminoácido de las secuencias indicadas.

10 Los fragmentos preferidos pueden contener repeticiones múltiples (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10) del dominio de enlace de IgG.

EFB - FIB

La Fib es una proteína de enlace de fibrinógeno de 19 kDa que es secretada en el medio extracelular por *S. aureus*. Es producida

15 por todos los aislados de *S. aureus* sometidos a prueba (Wastfelt y Flock 1995, *J. Clin. Microbiol.* 33; 2347) El *S. aureus* forma agrupaciones en la presencia de fibrinógeno y se enlaza a las superficies recubiertas con fibrinógeno. Esta capacidad facilita la colonización estafilocócica de catéteres y células endoteliales.

20 La Fib contiene a secuencia de señal en el término N de la proteína con un sitio de escisión simulado aproximadamente en el aminoácido 30. Por lo tanto, el fragmento preferido para ser introducido en la composición inmunogénica de la invención podría contener la secuencia de la proteína madura (aproximadamente

25 desde el aminoácido 30 hasta el término C de la proteína).

Fbe - EfB/FIG

La Fbe es una proteína de enlace de fibrinógeno que se encuentra en muchos aislados de *S. epidermidis* y tiene un peso molecular deducido de 119 kDa (Nilsson *et al* 1998. Infect. Immun. 66; 2666). Su secuencia está relacionada con la del factor de agrupamiento de *S. aureus* (ClfA). Los anticuerpos contra Fbe pueden bloquear el enlace de *S. epidermidis* a placas recubiertas con fibrinógeno y a catéteres (Pei y Flock 2001, J. Infect. Dis. 184; 52).

10 La Fbe tiene una secuencia de señal simulada con un sitio de escisión entre los aminoácidos 51 y 52. Por lo tanto un fragmento preferido de Fbe que contiene la forma madura de Fbe se extiende desde el aminoácido 52 hasta el término C (aminoácido 1,092).

El dominio de Fbe desde el aminoácido 52 hasta el aminoácido 15 825 es responsable de el enlace al fibrinógeno. Por lo tanto un fragmento preferido de Fbe consiste en, o contiene, los aminoácidos 52- 825.

La región entre el aminoácido 373 y 516 de Fbe muestra la mayor conservación entre Fbe y ClfA. El fragmento preferido, por lo 20 tanto, contendrá los aminoácidos 373-516 de la Fbe.

Los aminoácidos 825 - 1041 de la Fbe contienen una región altamente repetitiva compuesta por ácido aspártico y residuos de serina repetidos en tándem.

IsaA/PisA

25 La IsaA es una proteína de 29 kDa, también conocida como

PisA, que ha demostrado ser una proteína inmunodominante estafilocócica durante la sepsis en pacientes de hospital (Lorenz et al/ 2000, FEMS Immunol Med. Microb. 29; 145).

Se piensa que los primeros 29 aminoácidos de la secuencia de
5 IsaA son una secuencia de señal. Por lo tanto, un fragmento preferido de IsaA para ser incluido en una composición inmunogénica de la invención podría contener residuos de los aminoácidos 30 en adelante, hasta el final de la secuencia codificada.

Proteína de enlace de fibronectina

10 La proteína de enlace de fibronectina A contiene varios dominios que están involucrados en el enlace a la fibronectina (WO 94/18327). Estos se denominan D1, D2, D3 y D4. Los fragmentos preferidos de proteína de enlace de fibronectina A o B comprenden o consisten en D1, D2, D3, D4, D1-D2, D2-D3, D3-D4, D1-D3, D2-D4 o
15 D1-D4.

La proteína de enlace de fibronectina contiene una secuencia de señal de 36 aminoácidos. Por ejemplo:

VKNNLRYGIRKHKLGAA SVFLGTMIWGMGQDKEAA

Opcionalmente, la proteína madura, omitiendo esta secuencia
20 de señal, está incluida en la composición inmunogénica de la invención.

Proteínas transportadoras

La pared celular de las bacterias Gram positivas actúa como una barrera que previene la difusión libre de metabolitos en la
25 bacteria. Una familia de proteínas orquesta el paso de nutrientes

esenciales en la bacteria y por lo tanto es esencial para la viabilidad de la bacteria. El término proteína transportadora cubre proteínas involucradas en el paso inicial de enlace a metabolitos, tales como hierro, así como también los involucrados en transportar realmente el
5 metabolito en la bacteria.

El hierro molecular es un co-factor esencial para el crecimiento bacteriano. Se secretan sideróforas que fijan el hierro libre y luego se capturan mediante receptores superficiales bacterianos que suministran hierro para transportarlo a través de la membrana
10 citoplásmica. La absorción de hierro es crítica para el establecimiento de infecciones humanas, de tal forma que la generación de una respuesta inmunogénica contra esta clase de proteínas conduce a una pérdida de viabilidad estafilocócica.

Los ejemplos de proteínas transportadoras incluyen el
15 transportador inmunodominante ABC (Burnie *et al* 2000 *Infect. Immun.* 68; 3200), IsdA (Mazmanian *et al* 2002 PNAS 99; 2293), IsdB (Mazmanian *et al* 2002 PNAS 99; 2293), el transportador Mg²⁺, SitC (Wiltshire y Foster 2001 *Infect. Immun.* 69; 5198) y el transportador ABC Ni

20 Transportador inmunodominante ABC

El transportador inmunodominante ABC es una proteína muy bien conservada que puede ser capaz de generar una respuesta inmunogénica que tiene protección cruzada contra diferentes cepas estafilocócicas (Mei *et al* 1997, *Mol. Microbiol.* 26; 399). Los
25 anticuerpos contra esta proteína se han encontrado en pacientes con

septicemia (Burnie *et al* 2000, Infect. Immun. 68; 3200)

Los fragmentos preferidos de transportador inmunodominante ABC incluirán los péptidos DRHFLN, GNYD, RRYPF, KTTLLK, GVTTSLS, VDWLR, RGFL, más preferiblemente
 5 KIKVYVGNYDFWYQS, TVIVVSHDRHFLYNNV y/o TETFLRGFLGRMLFS, dado que estas secuencias contienen epítomos que son reconocidos por el sistema inmunológico humano.

IsdA-IsdB

Los genes *isd* (determinantes superficiales regulados por
 10 hierro) de *S. aureus* codifican las proteínas responsables de el enlace a hemoglobina y del paso de hierro del grupo hemo hacia el citoplasma, en donde actúa como un nutriente esencial. IsdA y IsdB están localizadas en la pared celular de los estafilococos. La IsdA parece estar expuesta en la superficie de la bacteria, dado que es
 15 susceptible de digestión por la proteinasa K. La IsdB fue digerida parcialmente, lo que sugiere que está expuesta parcialmente sobre la superficie de la bacteria (Mazmanian *et al* 2003 Science 299; 906).

La IsdA y la IsdB son ambas proteínas de 29 kDa que se enlazan al grupo hemo. Su expresión está regulada por la
 20 disponibilidad y hierro por medio del represor Fur. Su expresión será alta durante la infección en un anfitrión, en donde la concentración de hierro será baja

También son conocidas como FrpA y FrpB (Morrissey *et al* 2002, Infect. Immun. 70; 2399). FrpA y FrpB son proteínas con una
 25 alta carga. Han demostrado que proporcionan una contribución

112

principal a la adhesión al plástico.

En una modalidad, la composición inmunogénica de la invención contiene un fragmento de lsdA y/o lsdB que es como se describe en WO 01/98499 o en WO 03/11899.

5 **Toxinas y reguladores de virulencia**

Los miembros de esta familia de proteínas incluyen toxinas tales como la toxina alfa, hemolisina, enterotoxina B y TSST-1, así como también proteínas que regulan la producción de toxinas tales como RAP.

10 **Toxina alfa (Hla)**

La toxina alfa es un importante determinante de virulencia producida por la mayoría de las cepas de *S. aureus*. Es una toxina formadora de poros con actividad hemolítica. Se ha demostrado que los anticuerpos contra la toxina alfa neutralizan los efectos perjudiciales y letales de la toxina alfa en modelos animales (Adlam
15 *et al* 1977 *Infect. Immun.* 17; 250). Las plaquetas humanas, las células endoteliales y las células mononucleares son susceptibles a los efectos de la toxina alfa.

La alta toxicidad de la toxina alfa requiere que sea
20 desintoxicada antes de usarse como inmunogénico. Esto se puede lograr mediante tratamiento químico, por ejemplo mediante tratamiento con formaldehído, glutaraldehído o con otros reactivos reticulantes o conjugándolo químicamente con polisacáridos bacterianos o con LTA, como se describe más adelante.

25 Otra manera de eliminar la toxicidad es introducir mutaciones

puntuales que eliminan toxicidad mientras que mantienen la antigenicidad de la toxina. La introducción de una mutación puntual en el aminoácido 35 de la toxina alfa en donde se reemplaza un residuo de histidina con un residuo de leucina, da como resultado la
5 eliminación de toxicidad, mientras que mantiene la inmunogenicidad (Menzies y Kemodle 1996; Infect. Immun. 64; 1839). La histidina 35 parece ser crítica para la oligomerización apropiada requerida para la formación de poros, y la mutación de este residuo conduce a la pérdida de toxicidad.

10 Cuando se incorpora en composiciones inmunogénicas de la invención, la toxina alfa preferiblemente es desintoxicada mediante reemplazo de His 35, más preferiblemente reemplazando His 35 con Leu o Arg. En una modalidad alternativa, la toxina alfa es desintoxicada mediante la conjugación con otros componentes de la
15 composición inmunogénica, preferiblemente con polisacáridos capsulares o con LTA, mucho más preferiblemente con polisacárido tipo V de *S. aureus* y/o con polisacárido tipo VIII de *S. aureus* y/o con PIA.

Proteína activadora de ARN III (RAP)

20 La RAP no es en sí misma una toxina, pero es un regulador de factores de expresión de virulencia. La RAP es producida y secretada por estafilococos. Activa el sistema regulador de agr de otros estafilococos y activa la expresión y la liberación subsiguiente de factores de virulencia tales como hemolisina, enterotoxina B y
25 TSST-1.

114

Una respuesta inmunogénica generada contra RAP podría no eliminar la bacteria, pero podría interferir con su patogenicidad. Esto tiene la ventaja de proporcionar presión menos selectiva para que emerjan nuevas cepas resistentes.

- 5 Podría haber una segunda ventaja en producir una respuesta inmunogénica que pudiera ser instrumental para reducir la morbilidad de la infección.

Es particularmente ventajoso combinar la RAP con otros antígenos en una vacuna, particularmente en donde el antígeno
10 adicional podría proporcionar una respuesta inmunogénica que sea capaz de eliminar la bacteria.

Otras proteínas Inmunodependientes

Proteína asociada a la acumulación (Aap)

La Aap es una proteína de 140 kDa que es esencial para la
15 acumulación de cepas de *S. epidermidis* sobre las superficies (Hussain *et al* Infect. Immun. 1997, 65; 519). Las cepas que expresan esta proteína producen significativamente mayores cantidades de biopelícula y la Aap parece estar involucrada en la formación de biopelícula. Los anticuerpos contra la Aap son capaces
20 de inhibir la formación de biopelícula y de inhibir la acumulación de *S. epidermidis*.

Antígeno secretor estafilocócico SsaA

La SsaA es una proteína fuertemente inmunogénica de 30 kDa que se encuentra tanto en *S. aureus* como en *S. epidermidis* (Lang *et al* 2000 *FEMS Immunol. Med Microbiol.* 29; 213). Su expresión
25

durante la endocarditis sugiere un papel en la virulencia específico para la patogénesis de la enfermedad infecciosa.

La SsaA contiene una secuencia conductora en el terminal N y un sitio de escisión de peptidasa señal. El péptido conductor es
5 seguido por una región hidrofílica de aproximadamente 100 aminoácidos desde el residuo 30 hasta el residuo 130.

Un fragmento preferido de SsaA para ser incorporado en la composición inmunogénica de la invención se elabora de la proteína madura (aminoácidos 27 hasta el término C o aminoácidos 30 hasta
10 el término C)

Otros fragmentos preferidos contienen el área hidrofílica de SsaA desde el aminoácido 30 hasta el aminoácido 130.

Combinaciones preferidas

Las infecciones estafilocócicas progresan a través de
15 diferentes etapas. Por ejemplo, el ciclo de vida estafilocócico implica la colonización del comensal, la iniciación de la infección accediendo a tejidos adyacentes o el torrente sanguíneo, multiplicación anaeróbica en la sangre, interrelación entre los determinantes de virulencia de *S. aureus* y los mecanismos de defensa, e inducción de
20 complicaciones, incluyendo endocarditis, formación de abscesos metastásicos y síndrome de sepsis. Diferentes moléculas en la superficie de la bacteria estarán involucradas en diferentes pasos del ciclo de infección. Dirigiendo la respuesta inmunogénica contra una combinación de antígenos en particular involucrados en diferentes
25 procesos de infección estafilocócica, son afectados múltiples

aspectos de la función estafilocócica, y esto puede dar como resultado buena eficacia de la vacuna.

En particular, las combinaciones de ciertos antígenos de diferentes clases, algunos de los cuales están involucrados en la adhesión a células anfitrionas, algunos de los cuales están involucrados en la adquisición de hierro o en otras funciones de transporte, algunos de los cuales son toxinas o reguladores de virulencia y antígenos inmunodominantes, pueden desencadenar una respuesta inmunogénica que proteja contra múltiples etapas de la infección.

Algunas combinaciones de antígenos son particularmente efectivas para inducir una respuesta inmunogénica. Esta se puede medir ya sea en análisis en modelos animales como se describe en los ejemplos, y/o se puede usar un análisis opsonofagocigótico como se describe en los ejemplos. Sin desear estar limitado por la teoría, se piensa que estas combinaciones efectivas de antígenos se hacen posibles por una cantidad de características de la respuesta inmunogénica a la combinación de antígenos. Los antígenos por sí solos usualmente están expuestos sobre la superficie de las células estafilocócicas, tienden a ser conservados, pero también tienen a no estar presentes en cantidad suficiente sobre la superficie de la célula para que tenga lugar una respuesta bactericida óptima usando anticuerpos producidos contra el antígeno solo. La combinación de los antígenos de la invención puede dar como resultado una formulación que produzca una combinación ventajosa de anticuerpos

que interactúen con la célula estafilocócica más allá de un umbral crítico. En este nivel crítico, suficientes anticuerpos de suficiente calidad se enlazan a la superficie de la bacteria para permitir ya sea la eliminación eficiente por complemento o la neutralización de la bacteria. Esto se puede medir en un modelo animal o en un análisis de opsonización como se describe en los ejemplos.

Las composiciones inmunogénicas preferidas de la invención contienen una pluralidad de proteínas seleccionadas de al menos dos categorías diferentes de proteína, que tienen diferentes funciones con los estafilococos. Los ejemplos de estas categorías de proteínas con proteínas de enlace extracelular, proteínas transportadoras tales como proteínas de adquisición de Fe, toxinas o reguladores de virulencia y otras proteínas inmunodependientes.

En una modalidad preferida, la composición inmunogénica de la invención contiene además una cantidad de proteínas mayor o igual que 2, 3, 4, 5 o 6 seleccionadas de 2 o 3 grupos diferentes seleccionados de:

- Grupo a) proteínas de enlaces de componente extracelular;
- Grupo b) proteínas transportadoras;
- Grupo c) toxinas o reguladores de virulencia.

En una modalidad preferida, la composición inmunogénica de la invención contiene además una cantidad de proteínas mayor o igual que 2, 3, 4, 5 o 6 seleccionadas de 2 o 3 de los siguientes grupos:

- grupo a) - al menos una proteína de enlace de

componente extracelular estafilocócica o fragmento de ella, que se selecciona del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, 5 Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig y MAP;

- grupo b) - al menos un proteína transportadora 10 estafilocócica o fragmento de ella, que se selecciona del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC y transportador ABC Ni;

- grupo c) - al menos un regulador de virulencia 15 estafilocócico, toxina o fragmento de ella que se selecciona del grupo que consiste en toxina alfa (Hla), toxina alfa H35R mutante, proteína activadora de ARN III (RAP)

En una modalidad preferida, la composición inmunogénica de la invención contiene al menos una proteína que se selecciona del grupo a) y una proteína adicional que se selecciona del grupo b) y/o 20 del grupo c).

En una modalidad adicional, la composición inmunogénica de la invención contiene al menos un antígeno que se selecciona del grupo b) y una proteína adicional que se selecciona del grupo c) y/o del grupo a).

25 En una modalidad adicional, la composición inmunogénica de la

119

invención contiene al menos un antígeno que se selecciona del grupo c) y una proteína adicional que se selecciona del grupo a) y/o del grupo b).

Una combinación preferida de proteínas en la composición
5 inmunogénica de la invención contiene receptor de laminina y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

10 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SitC y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R
15 de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene EbhA y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador
20 Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene EbhB y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste
25 en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador

Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene EbpS y 1, 2, 3, 4
5 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la
10 composición inmunogénica de la invención contiene EFB(FIB) y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

15 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SBI y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R
20 de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene autolisina y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que
25 consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante

H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene ClfA y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SdrC y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA. Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SdrG y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa y RAP.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SdrH y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene Lipasa GehD y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, 5 transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SasA y 1, 2, 3, 4 10 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene FnbA y 1, 2, 3, 4 15 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la 20 composición inmunogénica de la invención contiene FnbB y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

25 Una combinación de proteínas preferida adicional en la

composición inmunogénica de la invención contiene Cna y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene ClfB y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene FbpA y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene Npasa y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene IsaA/PisA y 1, 2,

3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

5 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SsaA y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R
10 de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene EPB y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales seleccionados del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador
15 Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SSP-1 y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que
20 consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SSP-2 y 1, 2, 3,
25 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que

consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la
5 composición inmunogénica de la invención contiene HPB y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

10 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene proteína de enlace de vitronectina y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, Site,
15 transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene proteína de enlace de fibrinógeno y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se
20 seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, Site, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la
25 composición inmunogénica de la invención contiene coagulasa y 1, 2,

3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

- 5 Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene Fig y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R
10 de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA

- Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene MAP y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador
15 Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

- Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene transportador ABC inmunodominante y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se
20 seleccionan del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, Proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de
25 vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP,

toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene IsdA y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene IsdB y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, Proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene SitC y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva,

EbhA, EbhB, Proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de
5 fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP, toxina alfa, mutante H35L o H35R de toxina alfa, RAP, Aap y SsaA

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene toxina alfa y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que
10 consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP- 2, HBP, proteína de enlace de vitronectina,
15 proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP, transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la composición inmunogénica de la invención contiene variante de
20 toxina alfa H35L o H35R y 1, 2, 3, 4 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA,
25 Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de

enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP, transportador inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni, Aap y SsaA.

Una combinación de proteínas preferida adicional en la
 5 composición inmunogénica de la invención contiene RAP y 1, 2, 3, 4
 o 5 antígenos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste
 en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva,
 EbhA, EbhB, Proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI,
 autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB,
 10 Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP,
 proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de
 fibrinógeno, coagulasa, Fig, MAP, transportador inmunodominante
 ABC, IsdA, IsdB, transportador Mg²⁺, SitC, transportador ABC Ni,
 Aap y SsaA

15 En las combinaciones anteriores y siguientes, las proteínas
 especificadas pueden estar presentes opcionalmente en la
 composición inmunogénica de la invención como un fragmento o
 proteína de fusión como se describió aquí anteriormente.

Combinaciones de tres proteínas

20 Una composición inmunogénica preferida de la invención
 contiene además tres componentes de proteínas en una combinación
 de toxina alfa, una proteína de enlace de componente extracelular
 (preferiblemente una adhesina) y una proteína transportadora
 (preferiblemente una proteína de enlace de hierro).

25 En una combinación como esta, la toxina alfa puede ser

desintoxicada químicamente, o desintoxicada genéticamente mediante la introducción de mutación o mutaciones puntuales, preferiblemente la mutación en el punto His35Leu. La toxina alfa está presente como base libre, o de manera alternativa, está conjugada
 5 con un polisacárido o con un componente LTA de la composición inmunogénica

Las combinaciones preferidas incluyen:

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y una proteína de enlace de componente extracelular que se
 10 selecciona del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, Proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de
 15 vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig y MAP.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdB y una proteína de enlace de componente extracelular que se selecciona del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína
 20 de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, Proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, Lipasa GehD, SasA, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig y
 25 MAP

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y una adhesina que se selecciona del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, autolisina, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, SSP-1, SSP-2, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig y MAP. Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdB y una adhesina que se selecciona del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, SSP-1, SSP-2, proteína de enlace de vitronectina, proteína de enlace de fibrinógeno, coagulasa, Fig y MAP.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y receptor de laminina.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y EbhA.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y EbhB.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y EbpS.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y EFB (FIB).

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y SdrG.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y CifA.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y CifB.

5 Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y FnbA

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y coagulasa.

10 Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y Fig.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y SdrH.

Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y SdrC.

15 Una composición inmunogénica que contiene toxina alfa, IsdA y MAP.

Una composición inmunogénica que contiene IsaA y Sbi.

Una composición inmunogénica que contiene IsaA y IsdB

Una composición inmunogénica que contiene IsaA y IsdA.

20 Una composición inmunogénica que contiene IsaA y SdrC. Una composición inmunogénica que contiene IsaA y Ebh o fragmento de ella como se describió aquí anteriormente.

Una composición inmunogénica que contiene Sbi y SdrC.

25 Una composición inmunogénica que contiene Sbi y Ebh o fragmento de ella como se describió aquí anteriormente.

Una composición inmunogénica de la invención que contiene IsaA, Sbi o SdrC

Selección de antígenos expresados en diferentes linajes clonales

5 El análisis de la aparición de factores de virulencia en relación con la estructura de la población de *Staphylococcus aureus* mostró la presencia variable de genes de virulencia en las poblaciones naturales de *S. aureus*.

Entre los aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, al menos
 10 cinco linajes clonales mostraron ser muy frecuentes (Booth *et al.*, 2001 Infect Immun 69(1) 345-52) La alfa-hemolisina (*hla*), proteína A de enlace de fibronectina (*fnbA*) y factor de agrupamiento A (*clfA*) mostraron estar presentes en la mayoría de los aislados, sin considerar la identidad del linaje, lo que sugiere un papel importante
 15 de estas proteínas en la supervivencia del *S. aureus* (Booth *et al.*, 2001 Infect Immun. 69(1) 345-52). Más aún, de acuerdo con Peacock *et al.* 2002 las distribuciones de *fnbA*, *clfA*, coagulasa, *spa*, *map*, *pvl* (leucocidina Panton-Valentine), *hlg* (toxina gamma), toxina alfa e *ica* parecieron no estar relacionadas con la estructura clonal
 20 subyacente, lo que sugiere una transferencia horizontal considerable de estos genes.

Por el contrario, otros genes de virulencia tales como la proteína de enlace de fibronectina B (*fnbB*), beta-hemolisina (*hlyB*), proteína de enlace de colágeno (*cna*), TSST-1 (*tst*) y gen de
 25 resistencia a la meticilina (*mecA*) están fuertemente asociados con

linajes específicos (Booth *et al.*, 2001 Infect Immun. 69(1):345-52). De manera similar, Peacock *et al* 2002 (Infect Immun. 70(9):4987-96) demostraron que las distribuciones de las enterotoxinas, *tst*, las exfolatinas (*eta* y *etb*), beta- y delta-toxinas, los genes *sdr* (*sdrD*, *sdrE* y *bbp*), *cna*, *ebpS* y *efb* dentro de la población, son todos
5 altamente significativos con relación a los complejos clonales derivados de MLST.

Los datos de MLST no proporcionan evidencia de que las cepas responsables de la enfermedad nosocomial representen una
10 sub población distinta de las cepas que ocasionan enfermedad adquirida en la comunidad o de las cepas recuperadas de portadores asintomáticos (Feil *et al.*, 2003 J Bacteriol 185(11):3307-16).

Las composiciones inmunogénicas preferidas de la invención son efectivas contra estafilococos de diferentes linajes clonales.

15 En una modalidad, la composición inmunogénica contiene 1, 2, 3, 4, preferiblemente al menos 1 proteína que se expresa en la mayoría de los aislados de estafilococos. Los ejemplos de estas proteínas incluyen alfa-hemolisina (*hla*), proteína A de enlace de fibronectina (*fnbA*) y factor de agrupamiento A (*clfA*), coagulasa, *spa*,
20 *map*, *pvl* (leucocidina Pantón-Valentine), *hlg* (toxina gamma), *ica*, transportador inmunodominante ABC, RAP, autolisina (Rupp *et al* 2001, J. Infect Dis. 183; 1038), receptores de laminina, SitC, IsaA/PisA, SPOIIIIE (), SsaA, EbpS, SasF (Roche *et al* 2003, Microbiology 149; 643), EFB(FIB), SBI, ClfB, IsdA, IsdB, FnbB,
25 Npasa, EBP, Sialoproteína II de enlace ósea, IsaB/PisB (Lorenz *et al*

FEMS Immuno Med. Microb. 2000, 29, 145), SasH (Roche *et al* 2003, Microbiology 149; 643), MRPI, SasD (Roche *et al* 2003, Microbiology 149; 643), SasH (Roche *et al* 2003, Microbiology 149, 643), precursor de aureolisina (AUR)/Sepp1 y autolisina novedosa

5 En una modalidad alternativa, 2 o más proteínas que se expresan en diferentes conjuntos de cepas clonales están incluidas en la composición inmunogénica de la invención. Preferiblemente la combinación de antígenos permitirá que sea generada una respuesta inmunogénica que sea efectiva contra múltiples cepas clonales,
10 mucho más preferiblemente contra todas las cepas clonales. Las combinaciones preferidas incluyen FnbB y betahemolisina, FnbB y Cna, FnbB y TSST-1, FnbB y mecA, FnbB y SdrD, FnbB y SdrF, FnbB y EbpS, FnbB y Efb, beta-hemolisina y Cna, beta-hemolisina y TSST-1, beta-hemolisina y mecA, beta-hemolisina y SdrD, beta-hemolisina
15 y SdrF, beta-hemolisina y EbpS, beta-hemolisina y Efb, Cna y TSST-1, Cna y mecA, Cna y SdrD, Cna y SdrF, Cna y EbpS, Cna y Efb, TSST-1 y mecA, TSST-1 y SdrD, TSST-1 y SdrF, TSST-1 y EbpS, TssT-1 y Efb, MecA y SdrD, MecA y SdrF, MecA y EbpS, MecA y Efb, SdrD y SdrF, SdrD y EbpS, SdeD y Efb, SdrF y EbpS, SdrF y Efb, y,
20 EbpS y Efb.

Las combinaciones preferidas descritas aquí anteriormente pueden ser combinadas con componentes adicionales descritos anteriormente.

Protección contra *S. aureus* y *S. epidermidis*

25 En una modalidad preferida de la invención, la composición

inmunogénica proporciona una respuesta inmunogénica efectiva contra más de una cepa de estafilococos, preferiblemente contra cepas tanto de *S. aureus* como de *S. epidermidis*. Más preferiblemente, se genera una respuesta inmunogénica protectora
5 contra los serotipos de tipo 5 y 8 de *S. aureus*. Más preferiblemente, se genera una respuesta inmunogénica protectora contra los serotipos I, II y III de *S. epidermidis*.

Un uso de la composición inmunogénica de la invención es prevenir infecciones nosocomiales, por ejemplo en pacientes de
10 cirugía electiva, mediante inoculación antes del tratamiento en el hospital. En esta etapa, es difícil predecir con exactitud a cuáles cepas estafilocócicas estará expuesto el paciente. Por lo tanto, es ventajoso inocularlo con una vacuna que sea capaz de generar una respuesta inmunogénica efectiva contra diversas cepas de
15 estafilococos.

Una respuesta inmunogénica efectiva se define como una respuesta inmunogénica que da protección significativa en un modelo de exposición con ratón o en un análisis de opsonofagocitosis como se describe en los ejemplos. La protección significativa en un modelo
20 de exposición con ratón, por ejemplo la del ejemplo 5, se define como un aumento en la LD50 en comparación con ratones inoculados con portador de al menos 10%, 20%, 50%, 100% o 200%. La protección significativa en un modelo de exposición con rata del algodón, por ejemplo la del ejemplo 8, se define como una
25 disminución en la media Log de CFU/nariz observada de al menos

11/17

10%, 20%, 50%, 70% o 90%. Se sabe que la presencia de anticuerpos opsonizantes está correlacionada con la protección, por lo tanto está indicada una protección significativa por una disminución de al menos 10%, 20%, 50%, 70% o 90% en un análisis de opsonofagocitosis, por ejemplo el del ejemplo 7.

Varias de las proteínas que incluyen el transportador inmunodominante ABC, proteína activadora de ARN II, receptores de laminina, SitC, IsaA/PisA, SsaA, EbhA/EbhB, EbpS y Aap están bien conservados entre *S. aureus* y *S. epidermidis*, y el ejemplo 8 muestra que IsaA, ClfA, IsdB, SdrG, HarA, FnbpA y Sbi pueden generar una respuesta inmunogénica de reacción cruzada (por ejemplo reacción cruzada entre al menos una cepa de *S. aureus* y al menos una cepa de *S. epidermidis*). La PIA también es bien conservada entre *S. aureus* y *S. epidermidis*.

Por lo tanto, en una modalidad preferida, la composición inmunogénica de la invención contendrá PIA y polisacáridos tipo 5 y tipo 8 y contendrá además una, dos, tres o cuatro de las proteínas anteriores.

Vacunas

En una modalidad preferida, la composición inmunogénica de la invención está mezclada con un excipiente aceptable para uso farmacéutico, más preferiblemente con un adyuvante, para formar una vacuna.

Las vacunas de la presente invención preferiblemente están auxiliadas. Los adyuvante apropiados incluyen una sal de aluminio

tal como gel de hidróxido de aluminio (alum) o fosfato de aluminio, pero también pueden ser una sal de calcio, magnesio, hierro o zinc, o pueden ser una suspensión insoluble de tirosina acilada, o de azúcares acilados, polisacáridos catiónica o aniónicamente
5 producidos, o polifosfazenos.

Se prefiere que el adyuvante sea seleccionado para que sea un inductor preferencial de un tipo de respuesta TH1 o TH2. Los altos niveles de citocinas de tipo Th1 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunogénicas mediadas por células para un antígeno
10 dado, mientras que los altos niveles de citocinas de tipo Th2 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunogénicas humorales al antígeno

Es importante recordar que la distinción de la respuesta inmunogénica de tipo Th1 y de tipo Th2 no es absoluta. En realidad,
15 un individuo admitirá una respuesta inmunogénica que se describe como predominantemente Th1 o predominantemente Th2. Sin embargo, con frecuencia es conveniente considerar las familias de citocinas en términos de lo que se describe en clones de células T CD4 +ve por Mosmann y Coffman (Mosmann, T.R. y Coffman, R.L.
20 (1989) *TH1 y TH2 cells. different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology*, 7, p145-173). Tradicionalmente, las respuestas de tipo Th1 están asociadas con la producción de citocinas INF- γ e IL-2 por los linfocitos T. Otras citocinas con frecuencia asociadas directamente
25 con la inducción de las respuestas inmunogénicas de tipo Th1 no son

producidas por las células T, tal como la IL-12. En contraste, las respuestas de tipo Th2 están asociadas con la secreción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10. Los sistemas adyuvantes que promueven una respuesta predominantemente Th1 incluyen: lípido A monofosforilado o un derivado de él, particularmente lípido A monofosforilado 3-des-O-acilado (3D-MPL) (para su preparación, véase GB 2220211 A); y una combinación de lípido A monofosforilado, preferiblemente lípido A monofosforilado 3-des-O-acilado, junto con cualquier sal de aluminio (por ejemplo, fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio) o una emulsión de aceite en agua. En estas combinaciones, el antígeno y 3D-MPL están contenidos en las mismas estructuras en partículas, lo que permite un suministro más eficiente de señales antígenas e inmunoestimuladoras. Los estudios han demostrado que el 3D-MPL es capaz de mejorar más la inmunogenicidad de un antígeno adsorbido en alum [Thoelen et al. *Vaccine* (1998) 16:708-14; EP 689454-B1].

Un sistema mejorado implica la combinación de un lípido A monofosforilado y un derivado de saponina, particularmente la combinación de QS21 y el 3D-MPL según se describe en WO 94/00153, o una composición menos reactógena en donde la QS21 es extinguida con colesterol según se describe en WO 96/33739. Una formulación adyuvante particularmente potente que involucra QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión de aceite en agua está descrita en WO 95/17210, y es una formulación preferida. Preferiblemente la vacuna contiene adicionalmente una saponina, más preferiblemente

QS21. La formulación también puede contener una emulsión de aceite en agua y tocoferol (WO 95/17210). La presente invención también proporciona un método para producir una formulación para vacuna que comprende mezclar una proteína de la presente
5 invención junto con un excipiente aceptable para uso farmacéutico, tal como 3D-MPL. Las CpG no metiladas que contienen oligonucleótidos (WO 96/02555) también son inductores preferenciales de una respuesta TH 1 y son apropiadas para su uso en la presente invención.

10 Las composiciones preferidas de la invención son las que forman una estructura de liposoma. Las composiciones en donde la fracción esterol/saponina activa inmunológicamente forma una estructura ISCOM también forman un aspecto de la invención.

La proporción de QS21:esterol típicamente estará en el orden
15 de 1:100 hasta 1:1 peso por peso. Preferiblemente está presente un exceso de esterol, la proporción de QS21:esterol es de al menos 1:2 p/p. Típicamente para la administración a seres humanos, QS21 y el esterol estarán presentes en una vacuna en el rango desde aproximadamente 1 μ g hasta aproximadamente 100 μ g,
20 preferiblemente desde aproximadamente 10 μ g hasta aproximadamente 50 μ g por dosis.

Los liposomas preferiblemente contienen un lípido neutro, por ejemplo fosfatidilcolina, que preferiblemente es no cristalina a temperatura ambiente, por ejemplo fosfatidilcolina de yema de
25 huevo, dioleoil fosfatidilcolina o dilauril fosfatidilcolina. Los

liposomas también pueden contener un lípido cargado que aumente la estabilidad de la estructura liposoma-QS21 para los liposomas compuestos de lípidos saturados. En estos casos, la cantidad de lípido cargado preferiblemente es de 1-20% p/p, mucho más preferiblemente 5-10%. La proporción de esteroles con respecto a fosfolípido es de 1-50% (mol/mol), mucho más preferiblemente 20-25%.

Preferiblemente las composiciones de la invención contienen MPL (lípido A monofosforilado 3-desacilado), también conocido como 3D-MPL). El 3D-MPL se conoce a partir de GB 2 220 211 (Ribi) como una mezcla de 3 tipos de lípido A monofosforilado des-O-acilado con 4, 5 o 6 cadenas aciladas, y es fabricado por Ribi Immunochem, Montana. Una forma preferida se describe en la solicitud de patente internacional 92/116556. Las composiciones apropiadas de la invención son aquellas en donde los liposomas están preparados inicialmente sin MPL, y luego se les añade el MPL, preferiblemente como partículas de 100 nm. El MPL por lo tanto no está contenido en la membrana de la vesícula (conocidas como MPL fuera). Las composiciones en donde el MPL está contenido dentro de la membrana de la vesícula (conocidas como MPL dentro) también forman un aspecto de la invención. El antígeno puede estar contenido dentro de la membrana de la vesícula o contenido fuera de la membrana de la vesícula. Preferiblemente los antígenos solubles están fuera y los antígenos hidrofóbicos o lipidados están contenidos ya sea dentro o fuera de la membrana.

Las preparaciones para vacuna de la presente invención pueden usarse para proteger o para tratar un mamífero susceptible de infección, por medio de administrar dicha vacuna por ruta sistémica o mucosa. Estas administraciones pueden incluir inyección por las rutas intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o por medio de administración mucosa a los tractos oral/alimentario, respiratorio, genitourinario. La administración intranasal de vacunas para el tratamiento de neumonía o de otitis media se prefiere (dado que el acarreo nasofaríngeo de neumococos puede ser prevenido más efectivamente, atenuando así la infección en su etapa más temprana). Si bien la vacuna de la invención puede ser administrada como una sola dosis, los componentes de ella pueden ser co-administrados también juntos en el mismo momento o en diferentes momentos (por ejemplo se puede administrar polisacáridos neumocócicos por separado, al mismo tiempo, o 1-2 semanas después de la administración de cualquier componente de proteína bacterial de la vacuna para la coordinación óptima de las respuestas inmunogénicas una con respecto a la otra). Para su co-administración, el adyuvante opcional Th1 puede estar presente en cualquiera o en todas las diferentes administraciones, sin embargo se prefiere su éste está presente en combinación con el componente de proteína bacterial de la vacuna. Además para una sola ruta de administración, se puede usar dos diferentes rutas de administración. Por ejemplo, se puede administrar polisacáridos IM (o ID) y las proteínas bacterianas se pueden administrar IN (o ID).

Además, las vacunas de la invención se pueden administrar IM para dosis de sensibilización e IN para dosis de refuerzo.

La cantidad de antígeno conjugado en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta
5 inmunoprotectora sin efectos secundarios en vacunas típicas. Esta cantidad variará dependiendo de cuál inmunogénico específico se emplee y de cómo esté presentado. Generalmente, se espera que cada dosis contendrá 0.1-100 μg de polisacárido, preferiblemente 0 1-50 μg para conjugados de polisacárido, preferiblemente 0.1-10
10 μg , más preferiblemente 1-10 μg , de los cuales 1 hasta 5 μg es un rango más preferido. Sin embargo, para el serotipo 6B, la dosis preferida contendrá 3-10 μg de polisacárido. El contenido de antígenos de proteína en la vacuna típicamente estará en el rango de 1-100 μg , preferiblemente 5-50 μg , mucho más típicamente en el
15 rango de 5 – 25 μg . Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo separadas adecuadamente.

La preparación de vacuna está descrita en general en Vaccine Design ("The subunit y adjuvant approach" (eds Powell M. F. &
20 Newman M.J.) (1995) Plenum Press New York). La encapsulación dentro de liposomas está descrita por Fullerton, patente estadounidense número 4,235,877.

Las vacunas de la presente invención pueden ser almacenadas en solución o liofilizadas. Preferiblemente la solución es liofilizada
25 en la presencia de un azúcar tal como sacarosa, trehalosa o lactosa

Es todavía preferible además que estén liofilizadas y sean reconstituidas extemporáneamente antes de su uso. La liofilización puede dar como resultado una composición más estable (vacuna) y puede conducir posiblemente a títulos de anticuerpo más altos en la presencia de 3D-MPL y en la ausencia de un adyuvante basado en aluminio.

Anticuerpos e inmunización pasiva

Otro aspecto de la invención es un método para preparar una inmunoglobulina para su uso en la prevención o tratamiento de infección estafilocócica, que comprende los pasos de inmunizar a un receptor con la vacuna de la invención y aislar la inmunoglobulina del receptor. Una inmunoglobulina preparada mediante este método es un aspecto adicional de la invención. Una composición farmacéutica que contiene la inmunoglobulina de la invención y un portador aceptable para uso farmacéutico es un aspecto adicional de la invención que puede usarse en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedad estafilocócica. Un método para el tratamiento o prevención de infección estafilocócica que comprende un paso de administrar a un paciente una cantidad efectiva de la preparación farmacéutica de la invención es un aspecto adicional de la invención.

Los inóculos para la producción de anticuerpo policlonal se preparan típicamente dispersando la composición de antígenos en un diluyente tolerable fisiológicamente, tal como salina u otros adyuvantes apropiados para uso humano, para formar una

composición acuosa. Una cantidad de inóculo inmunoestimulante se administra a un mamífero, y el mamífero inoculado se mantiene luego durante un tiempo suficiente para que la composición antigénica induzca anticuerpos protectores

5 Los anticuerpos se pueden aislar en la extensión deseada mediante técnicas bien conocidas, tales como cromatografía por afinidad (Harlow and Lane Antibodies; a laboratory manual 1988).

Los anticuerpos pueden incluir preparaciones de suero de una variedad de animales usados comúnmente, por ejemplo cabras, 10 primates, burros, cerdos, caballos, cerdos de guinea, ratas o humanos. Se le extrae sangre a los animales y se recuperan los sueros

Una inmunoglobulina producida de acuerdo con la presente invención pueden incluir anticuerpos completos, fragmentos o sub 15 fragmentos de anticuerpos Los anticuerpos pueden ser inmunoglobulinas completas de cualquier clase, por ejemplo IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, anticuerpos quiméricos o anticuerpos híbridos con especificidad dual para dos o más antígenos de la invención. También pueden ser fragmentos, por ejemplo F(ab')₂, Fab', Fab, Fv y 20 similares, incluyendo fragmentos híbridos. Una inmunoglobulina también incluye proteínas naturales, sintéticas o diseñadas genéticamente, que actúan como un anticuerpo fijándose a antígenos específicos para formar un complejo.

Una vacuna de la presente invención se puede administrar a un 25 receptor que luego actúa como una fuente de inmunoglobulina,

producida en respuesta a la exposición de la vacuna específica. Un sujeto tratado así, podría donar plasma para el cual la globulina hiperinmunogénica podría ser obtenida por medio de metodología convencional de fraccionamiento de plasma. La

5 hiperinmunoglobulina podría ser administrada a otro sujeto con el fin de impartirle resistencia contra infección estafilocócica o tratarla. Las hiperinmunoglobulinas de la invención son particularmente útiles para el tratamiento o prevención de enfermedad estafilocócica en niños, individuos comprometidos inmunológicamente o cuando se

10 requiere tratamiento y no hay tiempo para que el individuo produzca anticuerpos en respuesta a la vacunación.

Un aspecto adicional de la invención es una composición farmacéutica que contiene dos o más anticuerpos monoclonales (o fragmentos de ellos, preferiblemente humanos o humanizados)

15 reactivos contra al menos dos constituyentes de la composición inmunogénica de la invención, la cual podría ser usada para tratar o para prevenir infección con bacterias Gram positivas, preferiblemente estafilococos, más preferiblemente *S. aureus* o *S. epidermidis*.

20 Estas composiciones farmacéuticas contienen anticuerpos monoclonales que pueden ser inmunoglobulinas completas de cualquier clase, por ejemplo IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, anticuerpos quiméricos o anticuerpos híbridos con especificidad para dos o más antígenos de la invención. También pueden ser fragmentos, por

25 ejemplo F.(ab')₂, Fab', Fab, Fv y similares, incluyendo fragmentos

MH

híbridos.

Los métodos para elaborar anticuerpos monoclonales son bien conocidos en la técnica y pueden incluir la fusión de esplenocitos con células de mieloma (Kohler y Milstein 1975 Nature 256, 495; 5 Antibodies - a laboratory manual Harlow y Lane 1988). De manera alternativa, se puede obtener fragmentos monoclonales de Fv examinando una biblioteca que muestre fagos apropiados (Vaughan TJ *et al* 1998 Nature Biotechnology 16; 535). Los anticuerpos monoclonales pueden ser humanizados o parcialmente humanizados 10 mediante métodos conocidos.

Métodos

La invención también comprende métodos para elaborar las composiciones inmunogénicas y vacunas de la invención.

Un proceso preferido de la invención, es un método para 15 elaborar una vacuna que comprende los pasos de mezclar antígenos para elaborar la composición inmunogénica de la invención y añadir un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

Métodos de tratamiento

La invención también comprende métodos de tratamiento de 20 infección estafilocócica, particularmente infecciones nosocomiales adquiridas en el hospital.

Esta composición inmunogénica o vacuna de la invención es particularmente ventajosa de usar en casos de cirugía electiva. Estos pacientes conocerán la fecha de la cirugía con anterioridad, y 25 podrían ser inoculados previamente. Dado que no se sabe si el

paciente estará expuesto a infección por *S. aureus* o por *S. epidermidis*, se prefiere inocularlo con una vacuna de la invención que lo proteja contra ambos, como se describió aquí anteriormente. Preferiblemente los adultos de más de 16 que están esperando
5 cirugía electiva, se tratan con las composiciones inmunogénicas y vacunas de la invención.

También es ventajoso inocular a los trabajadores de la salud con la vacuna de la invención.

Las preparaciones para vacuna de la presente invención
10 pueden usarse para proteger o para tratar a un mamífero susceptible de infección, por medio de administrar dicha vacuna por vía sistémica o mucosa. Estas administraciones pueden incluir inyección por medio de las rutas intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o por medio de administración a los tractos
15 oral/alimentario, respiratorio, genitourinario.

La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una dosis que induce una respuesta inmunoprotectora sin efectos secundarios adversos significativos en las vacunas típicas. Esta cantidad variará dependiendo de qué inmunogénico específico
20 se emplee y de cómo se presenta. El contenido de proteína de la vacuna típicamente estará en el rango de 1 -100 μg , preferiblemente 5-50 μg , mucho más comúnmente en el rango de 10 – 25 μg . Generalmente, se espera que cada dosis contenga 0.1-100 μg de polisacárido cuando esté presente, preferiblemente 0.1-50 μg ,
25 preferiblemente 0.1-10 μg , de los cuales 1 hasta 5 μg es el rango

146

más preferible. Una cantidad óptima para una vacuna en particular, se puede determinar mediante estudios estándar que involucran observación de respuestas inmunogénicas apropiadas en sujetos. Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o
5 más inmunizaciones de refuerzo separadas adecuadamente.

Si bien las vacunas de la presente invención se pueden administrar por cualquier ruta, la administración de las vacunas descritas en la piel (ID) forma una modalidad de la presente invención. La piel humana contiene una cutícula exterior "callosa"
10 denominada el stratum corneum, la cual cubre la epidermis. Debajo de esta epidermis está una capa denominada la dermis, la cual a su vez cubre el tejido cutáneo. Los investigadores han demostrado que la inyección de una vacuna en la piel, y en particular en la dermis, estimula una respuesta inmunogénica, la cual también puede estar
15 asociada con una cantidad de ventajas adicionales. La vacunación intradérmica con las vacunas descritas aquí forma una característica preferida de la presente invención.

La técnica convencional de inyección intradérmica "procedimiento Mantoux", comprende los pasos de limpiar la piel, y
20 luego estirarla con una mano, y con el bisel de una aguja calibrada delgada (calibre 26-31) dirigido hacia arriba, se inserta la aguja en un ángulo de entre 10-15°. Una vez que el bisel de la aguja es insertado, se baja el cilindro de la aguja y se empuja más mientras se proporciona una ligera presión para elevarlo bajo la piel. Luego
25 se inyecta el líquido muy lentamente, formando una ampolla o

protuberancia sobre la superficie de la piel, y luego se retira lentamente la aguja.

Más recientemente, se han descrito dispositivos que están diseñados específicamente para administrar agentes líquidos en o a través de la piel, por ejemplo los dispositivos que se describen en WO 99/34850 y EP 1092444, también los dispositivos de inyección presurizada descritos por ejemplo en WO 01/13977; US 5,480,381, US 5,599,302, US 5,334,144, US 5,993,412, US 5,649,912, US 5,569,189, US 5,704,911, US 5,383,851, US 5,893,397, US 5,466,220, US 5,339,163, US 5,312,335, US 5,503,627, US 5,064,413, US 5,520, 639, US 4,596,556, US 4,790,824, US 4,941,880, US 4,940,460, WO 97/37705 y WO 97/13537. Los métodos alternativos de administración intradérmica de las preparaciones para vacuna pueden incluir jeringas y agujas convencionales, o dispositivos diseñados para el suministro balístico de vacunas sólidas (WO 99/27961), o parches transdérmicos (WO 97/48440, WO 98/28037); o aplicados a la superficie de la piel (suministro transdérmico o transcutáneo WO 98/20734; WO 98/28037).

Cuando las vacunas de la presente invención se van a administrar en la piel, o más específicamente en la dermis, la vacuna tiene poco volumen de líquido, particularmente un volumen de entre aproximadamente 0.05 mL y 0.2 mL.

El contenido de antígenos en las vacunas cutáneas o intradérmicas de la presente invención puede ser similar a las dosis

151

convencionales que se encuentran en las vacunas intramusculares (véase más arriba). Sin embargo, es una característica de las vacunas cutáneas o intradérmicas que las formulaciones puedan ser de "dosis baja". De acuerdo con esto, los antígenos de proteína en las vacunas de "dosis baja" preferiblemente están presentes en tan poco como 0.1 hasta 10 μg , preferiblemente 0.1 hasta 5 μg por dosis; y los antígenos polisacáridos (preferiblemente conjugados) pueden estar presentes en el rango de 0.01-1 μg , y preferiblemente entre 0.01 y 0.5 μg de polisacárido por dosis.

10 Como se usa aquí, el término "suministro intradérmico" significa el suministro de la vacuna a la región de la dermis en la piel. Sin embargo, la vacuna no necesariamente será colocada exclusivamente en la dermis. La dermis es la capa en la piel ubicada entre aproximadamente 1.0 y aproximadamente 2.0 mm desde la superficie en la piel humana, pero hay una cierta cantidad de variación entre individuos y en diferentes partes del cuerpo. En general, se puede esperar alcanzar la dermis yendo 1.5 mm por debajo de la superficie de la piel. La dermis está ubicada entre el stratum corneum y la epidermis en la superficie y la capa subcutánea que está por debajo. Dependiendo del modo de suministro, la 20 vacuna estará localizada finalmente sólo o principalmente dentro de la dermis, o puede ser distribuida finalmente dentro de la epidermis y la dermis.

Una modalidad preferida de la invención es un método de 25 prevención o tratamiento de infección o enfermedad estafilocócica

que comprende el paso de administrar la composición inmunogénica o vacuna de la invención a un paciente que lo necesita.

En una modalidad preferida, el paciente está esperando por cirugía electiva.

5 Una modalidad preferida adicional de la invención es el uso de la composición inmunogénica de la invención en la fabricación de una vacuna para el tratamiento o prevención de infección o enfermedad estafilocócica, preferiblemente infección estafilocócica posterior a una cirugía

10 El término 'infección estafilocócica' comprende infección ocasionada por *S. aureus* y/o *S. epidermidis* y otras cepas estafilocócicas capaces de ocasionar infección en un mamífero, preferiblemente en un anfitrión humano.

Los términos "que contiene", "contienen" y "contiene" que se
15 usan aquí, tienen la intención de los inventores de ser sustituibles opcionalmente con los términos "que consiste en" "consisten" y "consiste", respectivamente, en cada caso.

Todas las referencias o solicitudes de patente citadas dentro de esta especificación de patente están incorporadas aquí mediante
20 referencia.

Con el fin de que esta invención sea comprendida mejor, se presentan los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son para propósitos de ilustración solamente, y no deben ser interpretados como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera

25 **Ejemplos**

Ejemplo 1. Construcción de plásmido para expresar proteínas recombinantes

A: Clonación.

Se diseñaron sitios de restricción apropiados en
 5 oligonucleótidos específicos para el gen estafilocócico, los cuales
 permitieron la clonación direccional del producto de PCR en el
 plásmido de expresión pET24d o pQE-30 de *E.coli* de tal forma que
 se pudiera expresar una proteína como una proteína de fusión que
 contuviera una etiqueta (His)₆ de cromatografía por afinidad en el
 10 término C o N.

Los sensibilizadores usados fueron:

	Toxina	alfa	-	5'-
	CGCGGATCCGCAGATTCTGATATTAATATTAAAAC-3' y			
	5'CCCAAGCTTTTAATTTGTCATTTCTTCTTTTTC-3'			
15	EbpS	-	5'-CGCGGATCCGCTGGGTCTAATAATTTTAAAGATG-3'	
	y 5'CCCAAGCTTTTATGGAATAACGATTTGTTG-3'			
	ClfA	-	5'-CGCGGATCCAGTGAAAATAGTGTTACGCAATC-3' y	
	5'CCCAAGCTTTTACTCTGGAATTGGTTCAATTTTC-3'			
	FnbpA	-	5'-CGCGGATCCACACAAACAACACTGCAACTAACG-3' y	
20	5'CCCAAGCTTTTATGCTTTGTGATTCTTTTCAAACS'			
	Sbi	-	5'-CGCGGATCCAACACGCAACAACTTC-3' y	
	5'GGAAGTGCAGTTATTTCCAGAATGATAATAAATTAC-3'			
	SdrC	-	5'-CGCGGATCCGCAGAACATACGAATGGAG-3' y	
	5'CCCAAGCTTTTATGTTTCTTCTTCGTAGTAGC-3'			
25	SdrG	-	5'-CGCGGATCCGAGGAGAATTCAGTACAAG-3' y	

5'CCCAAGCTTTTATTTCGTCATCATAGTATCCG-3'

Ebh - 5'-AAAAGTACTCACCACCACCACCACC-3' y

5'AAAAGTACTCACTTGATTCATCGCTTCAG-3'

Aaa - 5'-GCGCGCCATGGCACAAGCTTCTACACAACATAC-3' y

5 5'GCGCGCTCGAGATGGATGAATGCATAGCTAGA-3'

IsaA - 5'-

GCATCCATGGCACCATCACCATCACCACGAAGTAAACGTTGATCAAG

C-3' y 5'-AGCACTCGAGTTAGAATCCCCAAGCACCTAAACC-3'

HarA - 5'-GCACCCATGGCAGAAAATACAAATACTTC-3' y

10 5'TTTTCTCGAGCATTTTAGATTGACTAAGTTG-3'

Autolisina glucosaminidasa - 5'-

CAAGTCCCATGGCTGAGACGACACAAGATCAAC-3' y 5'-

CAGTCTCGAGTTTTACAGCTGTTTTTGGTTG-3'

Autolisina amidasa - 5'-

15 AGCTCATATGGCTTATACTGTTACTAAACC-3' y

5'GCGCCTCGAGTTTATATTGTGGGATGTCG-3'

IsdA - 5'-CAAGTCCCATGGCAACAGAAGCTACGAACGCAAC-3'

y 5'ACCAGTCTCGAGTAATTCTTTAGCTTTAGAGCTTG-3'

IsdB - 5'-TATTCTCGAGGCTTTGAGTGTGTCCATCATTTG-3' y

20 5' GAAGCCATGGCAGCAGCTGAAGAAACAGGTGG-3'

MRPII - 5'-GATTACACCATGGTTAAACCTCAAGCGAAA-3' y

5'AGGTGTCTCGAGTGCGATTGTAGCTTCATT-3'

Los productos de la PCR fueron introducidos primero en el vector de clonación pGEM-T (Novagen) usando células bacteriales

25 Top10, de acuerdo con las instrucciones del fabricante Esta

11/05

construcción intermedia se elaboró para facilitar la clonación adicional en un vector de expresión. Los transformantes que contenían el inserto de ADN fueron seleccionados mediante análisis de enzima de restricción. Después de la digestión, se analizó una
5 alícuota de $\sim 20\mu\text{L}$ de la reacción mediante electroforesis en gel de agarosa (0.8 % agarosa en un regulador de pH Tris-acetato-EDTA (TAE)). Los fragmentos de ADN se visualizaron mediante iluminación con rayos UV después de electroforesis en gel y de tinción con bromuro de etidio. Un estándar molecular de tamaño de ADN
10 (cadena de 1 Kb, Life Technologies) se sometió a electroforesis en paralelo con las muestras de prueba y se usó para estimar el tamaño de los fragmentos de ADN. El plásmido purificado de transformantes seleccionados para cada clonación fue digerido luego secuencialmente hasta que estuvo completo con enzimas de
15 restricción apropiadas según lo recomendado por el fabricante (Life Technologies). El fragmento de ADN se purificó luego usando columnas con espín, con base de gel de sílice antes de la ligación con el plásmido pET24d o pQE-30. La clonación de Ebh (fragmento H2), AaA, IsdA, IsdB, HarA, Atl-amidasa, Atl-glucosamina, MRP, IsaA
20 se llevó a cabo usando el plásmido pET24d y la clonación de ClfA, SdrC, SdrE, FnbpA, SdrG/Fbe, toxina alfa y Sbi se llevó a cabo usando el plásmido pQE-30.

B: Producción de vector de expresión

Para preparar el plásmido de expresión pET24d o pQE-30 para
25 ligación, se digirió de manera similar hasta su terminación con las

enzimas de restricción apropiadas. Se usó un exceso molar de aproximadamente 5 veces de los fragmentos digeridos para el vector preparado, para programar la reacción de ligación. Se realizó una reacción de ligación estándar de $\sim 20 \mu\text{L}$ ($\sim 16^\circ\text{C}$, ~ 16 horas), usando métodos bien conocidos en la técnica, se realizó usando ADN T4 ligasa (~ 2.0 unidades / reacción, Life Technologies). Una alícuota de la ligación ($\sim 5 \mu\text{L}$) se usó para transformar células electrocompetentes M15(pREP4) o BT21 ::DE3 de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Después de un periodo de excrecencia de ~ 2 -3 horas a 37°C en ~ 1.0 mL de caldo de cultivo LB, las células transformadas se colocaron en placas de agar LB que contenían ampicilina ($100 \mu\text{g/mL}$) y/o kanamicina ($30 \mu\text{g/mL}$). Se incluyeron antibióticos en la selección. Las placas se incubaron durante la noche a 37°C durante ~ 16 horas. Se escogieron colonias individuales de Ap^R/Kan^R con palillos estériles y se usaron para "parchar" placas LB Ap^R/Kan^R recién inoculadas, así como también un cultivo en ~ 1.0 mL de caldo LB Ap/ Kan. Tanto las placas con parche como el cultivo en caldo fueron incubados durante la noche a 37°C en una incubadora estándar (placas) o en un baño de agua con agitación. Se empleó un análisis de PCR basado en células enteras para verificar que los transformante contenían el inserto de ADN. Aquí, el cultivo en caldo LB Ap/Kan de ~ 1.0 mL de un día para otro, fue transferido a un tubo de polipropileno de 1.5 mL y se recolectaron las células mediante centrifugación en una microcentrífuga Beckmann (~ 3 min., temperatura ambiente, $-12,000$

X g). Los gránulos de células fueron suspendidos en $\sim 200\mu\text{L}$ de agua estéril, y se usó una alícuota de $\sim 10\mu\text{L}$ para programar un volumen final de $\sim 50\mu\text{L}$ de reacción PCR que contuviera ambos sensibilizadores de amplificación directa e inversa. El paso de
5 desnaturalización a 95°C se aumentó a 3 minutos para asegurar la alteración térmica de las células bacterianas y la liberación de ADN plásmido. Se usó un ciclizador térmico ABI Modelo 9700 y un perfil de amplificación térmica de tres pasos de 32 ciclos, es decir, 95°C , 45 seg, $55-58^\circ\text{C}$, 45 seg, 72°C , 1min., para amplificar el fragmento
10 BASB203 de las muestras transformante lisadas. Después de la amplificación térmica, se analizó una alícuota de $\sim 20\mu\text{L}$ de la reacción mediante electroforesis en gel de agarosa (0.8 % de agarosa en un regulador de pH Tris-acetato-EDTA (TAE)). Los fragmentos de ADN se visualizaron mediante iluminación con rayos
15 UV después de electroforesis en gel y de tinción con bromuro de etidio. Un estándar molecular de tamaño de ADN (cadena de 1 Kb, Life Technologies) se sometió a electroforesis en paralelo con las muestras de prueba y se usó para estimar el tamaño de los productos de la PCR. Los transformantes que produjeron el producto
20 de PCR del tamaño esperado fueron identificados como cepas que contenían una construcción de expresión de proteína. Las cepas que contenían el plásmido de expresión fueron analizadas luego para determinar la expresión inducible de proteína recombinante.

C: Análisis de expresión de transformantes positivos a la
25 **PCR**

Una alícuota del cultivo sembrado durante la noche (~1.0 mL) fue inoculada en un matraz Erlenmeyer de 125 mL que contenía ~25 mL de caldo de cultivo LB Ap/Kan, y se cultivó a 37 °C con agitación (~250 rpm) hasta que la turbidez del cultivo alcanzó una O.D. 600 de ~0.5, es decir, fase semi logarítmica (usualmente de aproximadamente 1.5 - 2.0 horas). En este tiempo, aproximadamente la mitad del cultivo (~12.5 mL) fue transferida a un segundo matraz de 125 mL y se indujo la expresión de proteína recombinante mediante la adición de IPTG (solución madre 1.0 M preparada en agua estéril, Sigma) para una concentración final de 1.0 mM. La incubación tanto de los cultivos inducidos por IPTG como de los no inducidos, continuó durante ~4 horas más a 37 °C con agitación. Se sacaron muestras (~1.0 mL) de ambos cultivos inducido y no inducido después del periodo de inducción, y se recolectaron las células mediante centrifugación a temperatura ambiente durante ~3 minutos. Se suspendieron los gránulos de células individuales en ~50 µL de agua estéril, luego se mezclaron con un volumen igual de regulador de pH para muestras para SDS-PAGE 2X Laemmli que contenía 2-mercaptoetanol, y se colocaron en un baño de agua hirviendo durante ~3 min para desnaturalizar la proteína. Se cargaron volúmenes iguales (~15 µL) tanto de lisados celulares crudos inducidos por IPTG como de lisados celulares no inducidos, en gel de poliacrilamida con 12% de Tbs/glicina (1 mm de espesor, Mini-gels, Novex) por duplicado. Las muestras de lisado inducidas y no inducidas fueron sometidas a electroforesis junto con marcadores

de peso molecular teñidos previamente (véase Blue, Novex) bajo condiciones convencionales usando un regulador corriente estándar de SDS/Tris/glicina (BioRad). Después de la electroforesis, un gel se tiñó con azul Commassie brillante R250 (BioRad) y luego se eliminó el teñido para visualizar la nueva proteína o proteínas inducibles por IPTG. El segundo gel se elctrotransfirió sobre una membrana de PVDF (tamaño de poro de 0.45 micras, Novex) durante ~2 h a 4 °C usando un aparato para transferencia BioRad Mini-Protean II y regulador de pH para transferencia metanol de Towbin (20 %). El bloqueo de la membrana y las incubaciones del anticuerpo se realizaron de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Se usó un anticuerpo monoclonal (His)₃ anti-RGS, seguido por un segundo anticuerpo de conejo anti-ratón conjugado con HRP (QiaGen), para confirmar la expresión y la identidad de la proteína recombinante. La visualización del patrón reactivo del anticuerpo anti-His se logró usando un sustrato insoluble ABT o usando hiperpelícula con el sistema de quimioluminiscencia Amersham ECL.

Ejemplo 2: Producción de proteína recombinante

Cepa bacteriana

Se usó una cepa de expresión recombinante de *E. coli* M15(pREP4) que contenía un plásmido (pQE30) o BL21::DE3 que contenía plásmido pET24d codificador de proteína estafilocócica para producir masa celular para la purificación de proteína recombinante

Medios

El medio de fermentación usado para la producción de proteína recombinante consistió en caldo de cultivo 2X YT (Difco) que contenía 100 $\mu\text{g/mL}$ de Ap y/o 30 $\mu\text{g/mL}$ de Km. Se le añadió antiespumante al medio para la fermentadora en 0.25 mL/L (Antifoam 5 204, Sigma). Para inducir la expresión de la proteína recombinante, se le añadió IPTG (Isopropil β -D-Tiogalactopiranosida) a la fermentadora (1 mM, final)

Producción de proteínas recombinantes

Bajo condiciones naturales

10 Se añadió IPTG en una concentración final de 1 mM, y el cultivo se dejó crecer durante 4 horas adicionales. Luego se centrifugó el cultivo a 6,000 rpm durante 10 minutos y se resuspendió el granulado en regulador de pH fosfatado (50 mM de K₂HPO₄, KH₂PO₄ pH 7) incluyendo un coctel inhibidor de proteasa.

15 Esta muestra fue sometida a lisis por presión francesa usando una presión de 1500 bar (2 corridas). Después de centrifugación durante 30 minutos a 15,000 rpm, se reservó el supernadante para purificación adicional, y se le añadió NaCl hasta 0.5 M. La muestra se cargó luego en una resina Ni-NTA (columna XK 16 Pharmacia,

20 resina Ni-NTA Qiagen) acondicionada en 50 mM de K₂HPO₄, KH₂PO₄ con pH 7. Después de cargar la muestra, se lavó la columna con regulador de pH A (0.2 M NaH₂PO₄ pH7, 0.3M NaCl, 10% de glicerol). Para eluir la proteína unida, se usó un paso gradiente en donde se le añadieron diferentes proporciones de regulador de pH B

25 (0.2 M de NaH₂PO₄ con pH7, 0.3 M de NaCl, 10% de glicerol y 200

mM de imidazol) al regulador de pH A. La proporción de regulador de pH B fue aumentada gradualmente desde 10% hasta 100%. Después de la purificación, las fracciones eluidas que contenían la proteína fueron agrupadas, concentradas y dializadas contra 0.002 M de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ con pH 7, 0.15 M de NaCl.

Este método se usó para purificar ClfA, SdrG, IsdA, IsaB, HarA, Atl-glucosamina y toxina alfa.

Bajo condiciones desnaturalizantes

Se añadió IPTG a una concentración final de 1 mM y el cultivo se dejó crecer durante 4 horas adicionales. Luego se centrifugó el cultivo a 6,000 rpm durante 10 minutos y se resuspendió el granulado en regulador de pH fosfatado (50 mM de K_2HPO_4 , KH_2PO_4 con pH 7) incluyendo un coctel inhibidor de proteasa. Esta muestra se sometió a lisis por presión francesa usando una presión de 1500 (2 corridas). Después de centrifugación durante 30 minutos a 15,000 rpm, se lavó el granulado con regulador de pH fosfatado incluyendo 1 M de urea. La muestra se centrifugó durante 30 min a 15000 rpm y se resuspendió el granulado en 8 M de urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.5 M de NaCl, 0.01 M de Tris-HCl pH 8 y se mantuvo durante la noche a temperatura ambiente. La muestra fue centrifugada durante 20 minutos a 15000 rpm y se recolectó el supernadante para purificación adicional. La muestra se cargó luego en una resina de Ni-NTA (columna XK 16 Pharmacia, resina Ni-NTA Qiagen) acondicionada en 8 M de urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.5 M de NaCl, 0.01 M de Tris-Hcl con pH 8. Después del paso del flujo a

través, la columna se lavó sucesivamente con regulador de pH A (8M de Urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.5 M de NaCl, 0.01 M de Tris, pH 8.0), regulador de pH C (8M de Urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.5 M de NaCl, 0.01 M de Tris, pH 6.3), regulador de pH D (8M de Urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.5 M de NaCl, 0.01 M de Tris, pH 5.9) y regulador de pH E (8 M de Urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.5 M de NaCl, 0.01 M de Tris, pH 4.5) La proteína recombinante se eluyó de la columna durante los lavados con regulador de pH D y E. La proteína recombinante desnaturizante se pudo solubilizar en una solución desprovista de urea. Para este fin, la proteína desnaturizante contenida en 8M de urea fue dializada sucesivamente contra 4 M de urea, 0.1 M de Na_2PO_4 , 0.01 M de Tris-HCl, pH7.1, 2 M de urea, 0.1 M de NaH_2PO_4 , 0.01 M de Tris-HCl, pH 7.1, 0.5 M de arginina y 0.002 M de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ con pH7.1, 0.15 M de NaCl, 0.5 M de arginina.

Este método se usó para purificar Ebh (fragmento H2), AaA, SdrC, FnbpA, Sbi, Atl-amidasa y IsaA.

Las proteínas purificadas fueron analizadas por SDS-PAGE. Los resultados para una proteína purificada bajo condiciones naturales (toxina alfa) y una proteína purificada bajo condiciones desnaturizantes (SdrC) se muestran en las Figuras 3 y 4.

Ejemplo 3. Preparación de Polisacáridos

Se prepara PNAG como se describe en Joyce *et al* 2003, Carbohydrate Research 338; 903- 922.

Los polisacáridos tipo 5 y tipo 8 son extraídos de *S. aureus* como se describe en Infection and Immunity (1990) 58(7); 2367.

El LTA es extraído de estafilococos como se describe en Fischer W, *et al* Eur. J. Biochem. (1983) 133; 523 o como se describe en Morath *et al* J. Exp. Med. 2001 , 193, 393-397.

Química de activación y acoplamiento

5 Se disuelve el polisacárido natural en NaCl 2 M o en agua. La concentración óptima del polisacárido se evalúa para todos los serotipos, y está entre 2mg/mL y 5mg/mL.

De una solución madre de 100 mg/mL en acetonitrilo, se le añade CDAP (proporción CDAP/PS:0.75 mg/mg de PS) a la solución
10 de polisacárido. 1.5 minutos después, se le añade 0.2 M de trietilamina para obtener el pH de activación específico (pH 8.5-10.0). La activación del polisacárido se realiza con este pH durante 2 minutos a 25 °C Se añade la proteína portadora al polisacárido activado en una cantidad suficiente para dar una proporción molar de
15 1/1 y la reacción de acoplamiento se realiza en el pH específico durante 1 hora.

Luego se extingue la reacción con glicina durante 30 minutos a 25 °C y durante la noche a 4°C.

Los conjugados se purifican mediante filtración en gel usando
20 una columna de filtración con gel Sephacryl 500HR equilibrada con 0.2 M de NaCl.

Se determinan los contenidos de carbohidratos y proteínas de las fracciones eluidas. Los conjugados se agrupan y se filtran de manera estéril en una membrana esterilizante de 0.22 µm. Se
25 determinan las proporciones de PS/Proteína en las preparaciones de

conjugados.

Caracterización:

Cada conjugado se caracteriza según su contenido de proteína y polisacárido.

- 5 Se mide el contenido de polisacárido mediante la prueba con Resorcinol y el contenido de proteína se mide mediante la prueba Lowry. Se determina la proporción final de PS/PD ratio (p/p) mediante la proporción de las concentraciones.

Contenido residual de DMAP (ng/ μ g PS):

- 10 La activación del polisacárido con CDAP introduce un grupo cianato en el polisacárido y se libera DMAP (4-dimetilamino-piridina). El contenido residual de DMAP se determina mediante un análisis específico desarrollado, y se valida en GSK.

Contenido de polisacárido libre (%):

- 15 Se determina el contenido de polisacárido libre en los conjugados mantenidos a 4 °C o almacenados durante 7 días a 37 °C en el supernadante obtenido después de la incubación con anticuerpos portadores α y sulfato de amonio saturado, seguido por una centrifugación.
- 20 Se usa un ELISA α -PS/ α -PS para la cuantificación de polisacárido libre en el supernadante. La ausencia de conjugado se controla también mediante un ELISA de portador α /PS α .

Ejemplo 4. Formulación

Composiciones adyuvantes

- 25 La proteína, ya sea individualmente o junta, de los ejemplos

anteriores, puede ser formulada con la combinación de polisacáridos estafilocócicos y como adyuvante, la formulación puede contener una mezcla de lípido A monofosforilado 3 des-O-acilado (3D-MPL) e hidróxido de aluminio, o de lípido A monofosforilado 3 des-O-acilado (3D-MPL) y fosfato de aluminio, o de 3D-MPL y/o QS21 opcionalmente en una emulsión de aceite/agua, y opcionalmente formulado con colesterol, o sal de aluminio sola, preferiblemente fosfato de aluminio.

3D-MPL: es una forma químicamente desintoxicada del lipopolisacárido (LPS) de la bacteria Gram-negativa *Salmonella minnesota*.

Experimentos realizados en GSK Biologicals han demostrado que el 3D-MPL combinado con diversos vehículos mejora fuertemente tanto el tipo de inmunidad celular humoral como el TH1.

15 QS21 : es una saponina purificada de un extracto crudo de la corteza del árbol Quillaja Saponaria Molina, la cual tiene una fuerte actividad adyuvante. activa tanto la linfoproliferación específica para antígeno como la CTL para diversos antígenos.

La vacuna que contiene un antígeno de la invención que
20 contiene 3D-MPL y alum se puede preparar de manera análoga a la que se describe en WO93/19780 o en 92/16231.

Experimentos realizados en GSK Biologicals han demostrado un claro efecto sinérgico de combinaciones de 3D-MPL y QS21 en la inducción de las respuestas inmunogénicas celulares tanto humoral
25 como de tipo TH1. Las vacunas que contienen un antígeno de estos

se describen en US 5750110.

La emulsión de aceite/agua está compuesta de dos aceites (un tocoferol y escualeno), y de PBS que contiene Tween 80 como emulsificante. La emulsión contenía 5% de escualeno, 5% de tocoferol, 0.4% de Tween 80 y tuvo un tamaño promedio de partícula de 180 nm y se conoce como SB62 (véase WO 95/17210).

Experimentos realizados en GSK Biologicals han probado que la adjunción de esta emulsión de aceite en agua a MPL/QS21 aumenta adicionalmente sus propiedades inmunoestimulantes.

10 **Preparación de emulsión SB62 (concentrada 2 veces)**

Se disuelve Tween 80 en salina fosfatada regulada (PBS) para dar una solución al 2% en la PBS. Para proporcionar 100 mL de emulsión concentrada 2 veces, se sometieron a vórtice 5g de DL alfa tocoferol y 5 mL de escualeno hasta mezclar por completo. Se le añadió 90 mL de solución de PBS/Tween y se mezcló completamente. La solución resultante se hizo pasar entonces a través de una jeringa y finalmente se microfluidizó usando una máquina para microfluidos M110S. Las gotitas resultantes de aceite tenían un tamaño de aproximadamente 180 nm.

20 **Ejemplo 5**

Experimentos con animales

Se obtuvieron ratones CD-1 hembras de 8 a 10 semanas de edad en Charles River Laboratories, Kingston, Mass. Para los estudios de letalidad, cinco grupos de 9 a 11 ratones CD-1 se expusieron por vía intraperitoneal (i.p.) con diluciones en serie de S.

aureus cultivados en placas CSA. Los tamaños inoculares abarcan desde $\sim 10^{10}$ hasta 10^8 CFU/ratón. La mortalidad se evalúa sobre una base diaria durante 3 días. La dosis letal del 50% (LD_{50}) se estima usando un modelo Probit de la relación dosis-respuesta. La hipótesis nula de las LD_{50} comunes fue sometida a prueba mediante la prueba de índice de probabilidad. La bacteremia subletal se inicia exponiendo grupos de 8 a 20 ratones por vía intravenosa (i.v.) con $\sim 2 \times 10^8$ CFU/ratón o por vía i.p. con $\sim 2 \times 10^7$ CFU/ratón. Después de la inoculación, se extrae sangre de la cola de grupos de animales por separado, en momentos especificados, y se estiman los niveles de bacteremia mediante conteos en placa cuantitativos realizados por duplicado en placas de agar con soya trípticas con 5% de sangre de oveja (Becton Dickinson Microbiology Systems). La significación estadística se determina con la modificación Welch de la prueba t de Student no apareada.

Ejemplo 6

Metodología general para determinar respuestas de anticuerpos en diversos mamíferos

Los sueros fueron analizados mediante ELISA con respecto a los anticuerpos IgG para los polisacáridos estafilocócicos. De manera resumida, se recubren polisacáridos capsulares purificados de ATCC (Rockville, Md, 20852) a $25 \mu\text{g/mL}$ en salina fosfatada regulada (PBS) en placas para microtitulación de alta enlace (Nunc Maxisorp) durante la noche a 4°C . Las placas se bloquean con 10% de suero fetal de ternera (FCS), 1 hora a 37°C . Las muestras de

suero se incuban previamente con 20 $\mu\text{g/mL}$ del polisacárido de pared celular c (Statens Serum Institute, Copenhagen) y 10% de FCS a temperatura ambiente durante 30 minutos para neutralizar los anticuerpos para este antígeno. Las muestras se diluyen luego dos veces en la microplaca en 10% de FCS en PBS, y se equilibran a temperatura ambiente durante 1 hora con agitación. Después de lavarse, las microplacas se equilibran con anticuerpo monoclonal Fc anti IgG humana marcados con peroxidasa (HP6043-HRP, Stratech Scientific Ltd) diluidos 1:4000 en 10% de FCS en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. El análisis ELISA se realiza para medir la IgG de rata usando IgG de cabra anti-rata AffiniPure conjugado con peroxidasa de Jackson ImmunoLaboratories Inc. (H+L) (código 112-035-003) a 1:5000. Las curvas de titulación se refieren a suero estándar para cada serotipo usando comparación logarítmica logística mediante el software SoftMax Pro. Las concentraciones de polisacáridos usadas para recubrir la placa ELISA son de 10-20 $\mu\text{g/mL}$. El color se revela usando 4 mg de OPD (Sigma) por 10 mL de regulador citrato 0.1 M con pH 4.5, con 14 μL de H_2O_2 durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La reacción se detiene con 50 μL de HCl, y la densidad óptica se lee a 490 nm con relación a 650 nm. Las concentraciones de IgG se determinan mediante referencia de titulación con respecto a la curva de calibración modelada usando una ecuación logarítmica logística de 4 parámetros calculada mediante el software SoftMax Pro.

La prueba ELISA para medir la IgG murina y de rata con respecto a los polisacáridos estafilocócicos es similar, con las siguientes excepciones. Se empleó IgG anti-ratón de cabra AffiniPure conjugado con peroxidasa (H+L) e IgG anti-rata de cabra AffiniPure (H+L) de Jackson ImmunoLaboratories Inc. para detectar el enlace a IgG.

El HP6043-HRP reacciona igualmente con IgG purificada humana y de Rhesus, y por ello este reactivo se usa para antisuero de Rhesus.

10 La prueba ELISA de la proteína se realiza de manera similar a la ELISA del polisacárido con las siguientes modificaciones. La proteína es recubierta durante la noche a 2.0 $\mu\text{g/mL}$ en PBS. Las muestras de suero se diluyen en PBS que contiene 10% de suero fetal bovino y 0.1 % de alcohol polivinílico. El anticuerpo en suero humano fijado se detecta usando anticuerpo purificado por afinidad de cabra conjugado con peroxidasa Sigma para Fc de IgG humana (referencia A-2290).

Ejemplo 7

Análisis de opsonofagocitosis.

20 La eliminación opsonofagocitósica *in vitro* de *S. aureus* por leucocitos humanos polimorfonucleares (PMN) se realiza como se describe en Xu *et al* 1992 Infect. Immun. 60; 1358. Los PMN humanos se preparan a partir de sangre heparinizada mediante sedimentación en 3% de dextran T- 250. La mezcla de reacción opsónica (1 mL) contiene $\sim 10^6$ PMN en medio RPMI 1640

complementado con 10% de suero fetal de ternera inactivado por calor, $\sim 10^8$ CFU de *S. aureus*, y 0.1 mL del suero o preparación de IgG de prueba. Se usa suero de conejo hiperinmunizado como control positivo, y se usó 0.1 mL de suero de conejo no inmune como una fuente completa para las muestras de IgG. Las mezclas de la reacción se incuban a 37 °C, y se transfieren las muestras bacteriales a 0, 60, y 120 min en agua y se diluyen subsiguientemente, se diseminan en placas de agar de soya trípticas y se incuban a 37 °C para el conteo bacterial después de incubación de un día para otro.

Ejemplo 8

Immunogenicidad de proteínas estafilocócicas en ratones y conejos

Se inmunizó a los animales con proteínas estafilocócicas purificadas con el fin de generar sueros hiperinmunes. Se inmunizó a los ratones tres veces (días 0, 14 y 28) con 10 μ g de cada una de las proteínas auxiliadas en Specol. Los conejos se inmunizaron tres veces (días 0, 21 y 42) con 20 μ g de cada una de las proteínas, auxiliadas en Specol. Se recolectaron los sueros inmunes y se evaluaron en ELISA en células enteras anti proteína y en células enteras anti muertas.

ELISA Anti-Proteína:

Se recubrió la proteína purificada a 1 μ g/mL en salina fosfatada regulada (PBS) en placas para microtitulación de alta enlace (Nunc Maxisorp) durante la noche a 4° C Las placas fueron bloqueadas

AA

con PBS-BSA 1 %, durante 30 min a temperatura ambiente con agitación. Luego se diluyeron las muestras de la prueba 1/1000 y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora con agitación. Después del lavado, se detectó anticuerpo murina o de conejo fijado usando IgG anti-ratón de cabra AffiniPure conjugada con peroxidasa de Jackson ImmunoLaboratories Inc. (ref: 115-035-003) o IgG anti-conejo de cabra AffiniPure (H+L) (ref: 11-035-003) diluida 1:5000 en PBS-Tween al 0.05%. Los anticuerpos de detección se incubaron durante 30 min. a temperatura ambiente con agitación. Se reveló el color usando 4 mg OPD (Sigma) + 5 μ L H₂O₂ por 10 mL pH 4.5 0.1 M regulador citrato de pH durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se detuvo la reacción con 50 μ L de HCl, y la densidad óptica se leyó a 490 nm con relación a 650 nm. La O.D para una dilución de 1/1000 de Post III se comparó con la O.D. obtenida con la misma dilución de sueros previamente inmunizados.

Los resultados generados con sueros de ratones y conejo se presentan en la Figura 5. SE observó una buena seroconversión contra cada antígeno. La evaluación de suero dirigido contra SBI fue impedida debido a la actividad de enlace a Ig de esta proteína.

20 **ELISA en células enteras anti muertas:**

Se recubrieron células enteras muertas (inactivadas por calor o por formaldehído) de *S. aureus* tipo 5 y 8 o de la cepa Hay de *S. epidermidis* a 20 μ g/mL en salina fosfatada regulada (PBS), en placas para microtitulación de alta enlace (Nunc Maxisorp) durante la noche a 4° C con evaporación. Las placas fueron bloqueadas con

PBS-BSA 1% 30 min a temperatura ambiente con agitación. Se neutralizó la proteína A mediante la adición de 10 µg/mL de anti-proteína A de pollo purificada por afinidad (ref. ICL: CPA-65A-2) diluida en PBS-Tween al 0.05% seguida por incubación durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se diluyeron las muestras de prueba dos veces en la microplaca en PBS-0.05% de una dilución inicial a 1/10 y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Después del lavado, se detectó el anticuerpo murino o de ratón fijado usando IgG anti-ratón de cabra AffiniPure conjugada con peroxidasa (H+L) de Jackson ImmunoLaboratories Inc. (ref: 115-035-003) o IgG anti-conejo de cabra AffiniPure (H+L) (ref: 11-035-003) diluido 1:5000 en PBS-Tween al 0.05%. Estos anticuerpos de detección se incubaron durante 30 min. a temperatura ambiente con agitación. Se reveló el color usando 4 mg OPD (Sigma) + 5 µL H₂O₂ por 10 mL pH 4.5 0.1 M de regulador citrato durante 15 minutos en la oscuridad, a temperatura ambiente. Se detuvo la reacción con 50 µL HCl, y la densidad óptica se leyó a 490 nm con relación a 650 nm.

Se debe notar que los niveles de expresión de proteínas en estafilococos variarán dependiendo de las condiciones de cultivo. Por lo tanto, un resultado negativo puede reflejar la elección de condiciones de cultivo incorrectas en lugar de una carencia de inmunogenicidad.

Los resultados usando sueros de ratón se muestran en la Tabla 5 y algunos de los gráficos se muestran en la figura 6. Se observa un débil reconocimiento de la cepa 5 de *S. aureus* con el suero

dirigido contra SdrC, FnbpA, Ebh, Sbi e IsaA. El reconocimiento de la cepa 8 de *S aureus* solamente se observa con el suero dirigido contra Sbi Se observa un débil reconocimiento de Hay de *S. epidermidis* con el suero dirigido contra Atl amidasa, MRP, IsdA, IsaA, Ebh, Aaa y Sbi.

Una selección de los resultados generados usando suero de conejo se muestra en la figura 7 y se resume en la Tabla 6. Se observó un reconocimiento muy bueno de las tres cepas con IsaA y con IsdB. Se observó un débil reconocimiento de las tres cepas con HarA, a pesar de que los animales solamente recibieron una inyección en lugar de las tres inyecciones usadas para las otras proteínas

Tabla 5

15

20

25

174

172

5

10

15

20

25

Nombre de la proteína	Reacción en SA5	Reacción en SA8	Reacción en SE Hay
IsaA	(+)	(+)	(+)
ClfA	-	(+)	(+)
Amidasa Atl	-	-	++
SdrG	-	-	-
Glucosamidasa	-	-	-
IsdA	-	-	++
Toxina alfa	-	-	-
SdrC	++	-	-
Ebh	+	-	+
AaA	-	-	++
MRP	-	-	++
Sbi	++	++	+++
FnbpA	+	+	(+)

175

Tabla 6

	Nombre de la proteína	Reacción en SA5	Reacción en SA8	Reacción en SE Hay
5	IsaA	+++	+++	+++
	CifA	+	++	++
	Amidasa Atl	-	++	+
10	IsdB	+++	+++	+++
	SdrG	+	+	+
	Glucosamidasa	-	-	-
	HarA (1 inyect)	+	+	+
15	IsdA	-	-	-
	Toxina alfa	-	-	+
	SdrC	-	-	-
	Ebh	-	+	-
20	AaA	-	-	-
	MRP	-	-	++
	Sbi	-	+++	-
25	FnbpA	-	++	++

17/06

Ejemplo 8**Eficacia de combinaciones de proteínas estafilocócicas en un modelo de colonización nasal**

Se inoculó a quince grupos de tres ratas del algodón con combinaciones de ocho antígenos estafilocócicos y cinco ratas del algodón que actuaron como controles fueron tratadas sin antígeno. Estos dieciséis grupos son los siguientes:

- Grupo 1 - Atl-glucosamina, Atl-amidasa, AAA, toxina alfa, SdrC, SdrG, Ebh, Sbi
- 10 Grupo 2 - Atl-glucosamina, Atl-amidasa, IsdA, IsdB, ClfA, SdrC, Ebh, FnbpA
- Grupo 3 - Atl-glucosamina, Atl-amidasa, HarA, IsdA, MRP, IsdB, AAA, toxina alfa
- Grupo 4 - Atl-glucosamina, HarA, IsdA, AAA, ClfA, IsaA, Ebh, 15 Sbi
- Grupo 5 - HarA, MRP, AAA, toxina alfa, ClfA, SdrC, Ebh, FnbpA
- Grupo 6 - IsdA, IsdB, AAA, toxina alfa, ClfA, SdrG, Sbi, FnbpA
- Grupo 7 - Atl-aminidasa, IsdA, MRP, AAA, IsaA, SdrG, Ebh, FnbpA
- 20 Grupo 8 - Control
- Grupo 9 - Atl-glucosamina, IsdA, MRP, toxina alfa, IsaA, SdrC, Sbi, FnbpA
- Grupo 10 - Atl-glucosamina, MRP, IsdB, AAA, ClfA, IsaA, SdrC, SdrG
- 25 Grupo 11- Atl-amidasa, MRP, IsdB, toxina alfa, ClfA, IsaA, Ebh,

Sbi

Grupo 12 - Atl-glucosamina, HarA, IsdB, toxina alfa, IsaA, SdrG, Ebh, FnbpA

Grupo 13 - Atl-amidasa, HarA, IsdB, AAA, IsaA, SdrC, Sbi,
5 FnbpA

Grupo 14 - Atl-glucosamina, Atl-amidasa, HarA, MRP, ClfA, SdrG, Sbi, FnbpA

Grupo 15 - Atl-amidasa, HarA, IsdA, toxina alfa, ClfA, IsaA, SdrC, SdrG

10 Grupo 16 - HarA, IsdA, MRP, IsdB, SdrC, SdrG, Ebh, Sbi

Cada mezcla de antígenos contenía 3 μ g de cada antígeno mezclado con un adyuvante elaborado de liposomas que contenía MPL y QS21. Las ratas del algodón fueron inoculadas tres veces los días 1, 14 y 28 del experimento. Dos semanas después de la
15 inoculación, se evaluó la eficacia de las inmunizaciones usando un análisis de colonización nasal como se describe en Kokai-Kun *et al* (2003) *Antimicrob Agents. Chemother.* 47; 1589-1597.

Se llevó a cabo un análisis clásico de regresión lineal múltiple de los datos, usando el software "Design Expert 6". La presencia de
20 un antígeno se codificó como +1 y la ausencia de un antígeno se codificó como -1 Usando la ecuación del modelo fue posible determinar cuáles antígenos fueron los antígenos clave que produjeron una gran disminución en la cantidad de colonias por nariz.

25

1113

Resultados

Los resultados del análisis de colonización nasal se muestran en la Tabla 7. El grupo de control tuvo una media logarítmica de CFU/nariz de 3.51335 y se pudo observar una disminución en la colonización nasal para todos los grupos de rata del algodón inoculados con proteínas estafilocócicas. Los grupos 4, 9 y 13 mostraron la mayor disminución en la colonización nasal con una disminución por encima de 2 log en CFU/nariz. Los grupos 12 y 16 también dieron buenos resultados, mostrando una disminución de aproximadamente 2 log en CFU/nariz.

Tabla 7

Grupo	Media observada Log/CFU/nariz	Log/CFU/nariz predicho
1	1.77527	2.03560
2	2.90435	2.52684
3	1.96556	2.23033
4	1.27748	1.21872
5	1.67304	1.93128

5

10

15

6	2.79745	2.98193
7	2.21481	2.30705
8	3.51355	3.47317
9	1.22480	1.44080
10	2.03085	1 93204
11	2.02522	1.81581
12	1 53402	1.70996
13	1 36063	1 49100
14	2 31201	1.73909
15	2 22979	1 98223
16	1 58109	1 44004

La contribución de antígenos específicos dentro de la mezcla de antígenos se calculó usando análisis de regresión múltiple de los datos de colonización nasal. El modelo final contiene los siete mejores antígenos. Los resultados para estos antígenos se muestran en la Tabla 8. Dentro del contexto de la mezcla de proteínas, la inclusión de HarA dio la mayor disminución en la colonización nasal, seguida por IsaA, Sbi, SdrC, autolisina-glucosamina, MRP y Ebh.

25

Tabla 8 Efectos en diferencia de log CFU/nariz e índice de CFU/nariz para los siete mejores antígenos en el modelo y valores de p correspondientes.

5	Antígeno	Prob > F	Efecto estimado	Tasa de reducción	Efecto acumulativo	Tasa acumulativa
	HarA	0.033	-0.596	3 9	-0.596	3.9
10	IsaA	0.046	-0.558	3 6	-1.154	14.3
	Sbi	0.077	-0.491	3 1	-1.645	44.2
	SdrC	0 22	-0.337	2 2	-1.982	96.0
15	Atl- glucos	0.238	-0 324	2.1	-2.306	202 2
	MRP	0.239	-0.323	2 1	-2.629	425.3
	Ebn	0.297	-0.286	1 9	-2.914	821.0

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunogénica que contiene PNAG estafilocócico y polisacárido u oligosacárido capsular de tipo 5 y/o de tipo 8 de *S. aureus*

2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, que contiene además polisacárido u oligosacárido capsular de tipo 5 de *S. aureus*.

3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 o 2, que contiene además polisacárido u oligosacárido capsular de tipo I y/o de tipo II y/o de tipo III de *S. epidermidis*.

4. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizada además porque el PNAG proviene de una bacteria estafilocócica.

5. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 4, que además contiene una proteína estafilocócica o un fragmento de ella.

6. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una proteína de enlace de componente extracelular seleccionada del grupo que consiste en receptor de laminina, proteína de enlace de SitC/MntC/saliva, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de

vitronectina, coagulasa, y MAP.

7. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una proteína transportadora seleccionada del grupo que
5 consiste en transportadora inmunodominante ABC, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, transportadora ABC SitC y Ni

8. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, caracterizada además porque la proteína estafilocócica o fragmento de ella es una toxina o regulador de virulencia seleccionada del
10 grupo que consiste en toxina alfa (Hla), toxina alfa mutante H35R, proteína activadora de ARN III (RAP).

9. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 5 hasta 8 que contiene 2 o más proteínas estafilocócicas seleccionadas de al menos 2 grupos diferentes
15 seleccionados de:

a) al menos una proteína de enlace de componente extracelular estafilocócica o fragmento de ella, seleccionada del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC,
20 SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, y MAP;

b) al menos una proteína transportadora estafilocócica o fragmento de ella seleccionada del grupo que consiste en
25 transportadora ABC inmunodominante, IsdA, IsdB, transportadora de

Mg²⁺, transportadora ABC SitC y Ni;

- c) al menos un regulador de virulencia estafilocócico, toxina o fragmento de ella seleccionado del grupo que consiste en toxina alfa (Hla), mutante H35R de toxina alfa, proteína activadora de ARN II (RAP).

10. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 9, caracterizada además porque un polisacárido estafilocócico se conjuga con un portador de proteína.

11. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, caracterizada además porque el PNAG está conjugado con un portador de proteína.

12. La composición inmunogénica de la reivindicación 10 u 11, caracterizada además porque el portador de proteína contiene una proteína estafilocócica o fragmento de ella seleccionado del grupo que consiste en receptor de laminina, EbhA, EbhB, proteína de enlace de elastina (EbpS), EFB (FIB), SBI, autolisina, ClfA, SdrC, SdrG, SdrH, lipasa GehD, FnbA, FnbB, Cna, ClfB, FbpA, Npasa, IsaA/PisA, SsaA, EPB, SSP-1, SSP-2, HBP, proteína de enlace de vitronectina, coagulasa, MAP, transportadora ABC inmunodominante, IsdA, IsdB, transportadora de Mg²⁺, SitC, transportadora ABC NI, toxina alfa (Hla), mutante H35R de toxina alfa, y proteína activadora de ARN II (RAP).

13. La composición inmunogénica de la reivindicación 10 u 11, caracterizada además porque el portador de proteína se selecciona del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide

181

diftérico, CRM197, proteína D de *Haemophilus influenzae*, exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa*, neumolisina neumocócica y toxoide alfa.

14. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 13, la cual es capaz de generar una respuesta inmunogénica efectiva contra *S. aureus* y *S. epidermidis*.

15. Una vacuna que contiene la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 14 y un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

10 16 Un método para elaborar una vacuna, que comprende los pasos de mezclar antígenos para elaborar la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 14 y añadir un excipiente aceptable para uso farmacéutico.

15 17. Un método para prevenir o tratar infección estafilocócica, que comprende el paso de administrar la vacuna de la reivindicación 15 a un paciente que lo necesita.

18 Un uso de la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1 hasta 14, en la fabricación de una vacuna para el tratamiento o prevención de infección estafilocócica.

Fig. 1

SEQ ID NO 1 secuencia de polipéptido

MLQVTVSLRFGDRKLPEDVNTKPTTEGNCYGLIGANGAKSTFLKILSGELDSQTHVSLCKVERLAVLKQDHYAYEDER
VLDVVIKGHERLYEYMKKEKDEIYMKPDPSPDEDDGIRAAELGEPFAMNGWKAZADAANLISGLGIDPTLHOKKMAELENH
KIKVLLAQSLFGEPDVLILLDEPTNOLDIPATSWLEDFLNFONTVIVVSHDRHFLNHVCTHIADLDPGKIKVYVGYDPM
YQSSQLAQMAQEQNKKKKKEKKELODPTARFSANASKSKQATSRKKQLEKIELDDIQPSSRRYPFVKPTPEREIGNDLL
IVQHLSTIDGKVLONVSFTMNPNDKAILIGDGEIAKTTLKILAGEMEPPDEGSPKMGVTTSLSYFPKONSEFPBGVNM
NLVNLROYAPEDQTEFLRGFLQPMLEPSEET/KKKASVLSGGEKVRCHLSKMMLESANVLLDEPTNHLDLRSITAVL
DGLKSPKGSIIPTSYDFEFINTIANKVIDINAGQGVSKDIPYEEYLOEIGVLK

SEQ ID NO 2 secuencia de polipéptido

MLQVTVSLRFGDRKLPEDVNTKPTTEGNCYGLIGANGAKSTFLKILSGELDSQTHVSLCKVERLAVLKQDHYAYEDER
VLDVVIKGHERLYEYMKKEKDEIYMKPDPSPDEDDGIRAAELGEPFAMNGWKAZADAANLISGLGIDPTLHOKKMAELENH
KIKVLLAQSLFGEPDVLILLDEPTNOLDIPATSWLEDFLNFONTVIVVSHDRHFLNHVCTHIADLDPGKIKVYVGYDPM
YQSSQLAQMAQEQNKKKKKEKKELODPTARFSANASKSKQATSRKKQLEKIELDDIQPSSRRYPFVKPTPEREIGNDLL
TVENLSTIDGKVLONVSFTMNPNDKAILIGDGEIAKTTLKILAGEMEPPDEGSPKMGVTTSLSYFPKONSEFPBGVNM
NLVNLROYAPEDQTEFLRGFLQPMLEPSEET/KKKASVLSGGEKVRCHLSKMMLESANVLLDEPTNHLDLRSITAVN
DGLKSPKGSIIPTSYDFEFINTIANRVINDLQAGALSKEVPYSEYLOEIGVLQNM

SEQ ID NO: 3 secuencia de polipéptido

MP:ITDYYAREVLDSRG:PTVEVEVLTESGAFGRALVPSGASTGEHEAVELRDGDKSRYLGKGVTKAVENVNETIAPETI
EGEFSVLDQVSTDKMIALDGTNPKGKLGANAILGVSTAVARAAADLLGQPLYKYLGGFNGKQLPVPKXIIIVHGGSHSDA
PIAPQEFMILPVGATTFKESLRWGTETFHNLKSLSKRQLETAVGDEGGFAPKFEGETEDAVETIIQAIKAAGYKPGEEVF
LGFDCCASSEFYENCYDYSTFEGEHCAKRTAAEQVDYLEQLVNDKYPITIEDGMDENDWEGWKQLTERIGDRVOLVGDDL
FVNTETELAKGTENGIGNSILIKVNTIGTLTETFDALIEAKQKAGYTAVVSHRSGETEDTTIADIAVATNAGQIKTGSLSR
TDRIAKYNQLLRIEDELFEET
AKYDGIKSFYNLDK

SEQ ID NO 4 secuencia de polipéptido

MP:ITDYYAREVLDSRG:PTVEVEVLTESGAFGRALVPSGASTGEHEAVELRDGDKSRYLGKGVTKAVENVNETIAPETI
EGEFSVLDQVSTDKMIALDGTNPKGKLGANAILGVSTAVARAAADLLGQPLYKYLGGFNGKQLPVPKXIIIVHGGSHSDA
PIAPQEFMILPVGATTFKESLRWGTETFHNLKSLSKRQLETAVGDEGGFAPKFEGETEDAVETIIQAIKAAGYKPGEEVF
LGFDCCASSEFYENCYDYSTFEGEHCAKRTAAEQVDYLEQLVNDKYPITIEDGMDENDWEGWKQLTERIGDRVOLVGDDL
FVNTETELAKGTENGIGNSILIKVNTIGTLTETFDALIEAKQKAGYTAVVSHRSGETEDTTIADIAVATNAGQIKTGSLSR
TDRIAKYNQLLRIEDELFEETAKFETKSFYNLDK

SEQ ID NO: 5 secuencia de polipéptido

MKKIVTATATAGLATIATAGHDAQAQAEQNGYNSHDAISYSYTYTIDAQGNHYHTWKGNNHPSQLNQDNGYYSYTY
YSYKNIASYNHYNSYQYN:YTTINISOTATINNYTQSGAGYSTTSMVHVTTTAAPSSNGRSISNGYASGSNLYTSGOCT
YVFDKVGKIGSTWGNASNAWAAASSGYTVINTPKVGAIMOTTQGYGHVAYVEGVNSNGSVRSVSENYGHCAGVYTS
RTISAHQAGSYNFIH

SEQ ID NO 6 secuencia de polipéptido

MKKIATATATAGLATIATAGHDAQAQAEQNGYNSHDAISYSYTYTIDAQGNHYHTWKGNNHPSQLNQDNGYYSYTY
NGYINNYNSYNGYSYNNYSR/KNYSNNHQS/YNIRIYNSYNTNSYRTGGLCASYSTSSNNVQVTTTMAPSSNGRSISSQYT
SGRFLYTSOCTYY/FDRVGKIGSTWGNASNAWAAARAGYT/INTPKAGAIQTTQCAIGHVAYVESVNSNGSVRS
MNYG/GPGVTSRTISASQAGYNFIH

SEQ ID NO 7 secuencia de polipéptido

MKKIATATATAGLATIATAGHDAQAQAEQNGYNSHDAISYSYTYTIDAQGNHYHTWKGNNHPSQLNQDNGYYSYTY
YNGYINNYNSYNGYSYNNYSR/KNYSNNHQS/YNIRIYNSYNTNSYRTGGLCASYSTSSNNVQVTTTMAPSSNGRSISSQYT
SGRFLYTSOCTYY/FDRVGKIGSTWGNASNAWAAARAGYT/INTPKAGAIQTTQCAIGHVAYVESVNSNGSVRS
MNYG/GPGVTSRTISASQAGYNFIH

ABK

TSRTISASQAASYNYTH

SEQ ID NO 8 secuencia de polipéptido

MKKLVPLLLALLLLVAACOTGGKQSSDKSNGKLKVVTTNSILYDMAKQVGGDNDIHSIVPVGQDPHEYEYVKPKDICKLT
 JADVILYNGLNLETGNGWFEKALBOAGKSLKDKKVIASXDVKPIYLMGEEGNKDKQDPHAWLSLNGIKYVKTIOQTFI
 JNDKTKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDSKDKFNDIPKEQRAMITSEGAIFYFSKOYGITPGYIWEINTEKQGTPEOMRQA
 IEFVKCHKLKLHLLVETSVOKKAMESLSEFTKKDIFGEVYTD8IGKEGTKQDSYYKMKSNIEYVHGSML

SEQ ID NO 9 secuencia de polipéptido

MKKILALAIAPFLIILAACGNHSHHEHSHSEGLKVVTTNSILYDMVKRVGGNKVDVHSIVPVGQDPHEYEYVKPKDICKLT
 DADVIFYNGLNLETGNGWFEKALDQAGKSTKDKNVIASXNVKPIYLMGEEGNKDKQDPHAWLSLNGIKYVKTIOKSLB
 INDKKDKSTYEKQGNAYISKLEELNKDSKKNKFDIPKQQRAMITSEGAIFYFAQQFDVKPGYIWEINTEKQGTPEOMRQA
 IKPVKDXHLKHLVETSVOKKAMESLSEETKKDIYGVFTD8IGKEGTKQDSYYKMKSNIDTIHGSML

SEQ ID NO 10 secuencia de polipéptido

MKKTIMAS6LAVAGVTGYAAGTGHQAHAEEVNDQAHVLDLAHKHODOLNAAPIKDAYDIHFVKDGFQYNYFTSNGTTW
 SN5YFAANGOTAGFCN'AGADY'TSYNGGSDVQSVSYNAQSSNSKVEAVSAFTYHNYSTSTSSSVRLSNGNTAGATGSS
 AAQIMAQRTGVSASTHAAI IARRRNGQVNAYNPSGASGLPQTMPGWGPTNTVDOQINAAYKAYKAQGLQANGP

SEQ ID NO 11 secuencia de polipéptido

MKKTIVIA9ILAVSLGIAOYGLSGHEAHASETTNVDAHLVDLAQHNPEELNAKPVQAGAYDIHFVDNGYQYNYFTSKGSEW
 SN5YAVAGSDADY'TEYSSNQSVSANTQSSNTNVQVSAFTS6ESRYSYSTSTTSYAPSHNYSSHSSSVRLSNGNTAGSVG
 SYAAQAQAARTQVSASTNEHI IARLBNGLHARNASGAAGLPQTMPGWGPTNTVDOQINAAYKAYKAQGLSANGH

SEQ ID NO 12 secuencia de polipéptido

MNYRDKIQKPGIRKYTVGTFSTVIA TLVFLGNTSQAHAETNQPASVVVKQKQOSNMEOTENRESQVNSQNSQNSQSLB
 ATHENEQPNNSQANLVNQKVAQSSTTNDQPASQNVMTKKDBATAATTQPKESKHKQNESQSANKQNGNDNRAAKVENH
 EAWVVTASDSSDNGNVOHNRSLQAFPDANTHDYRPIIDRENADSGTFNYVKGITFDKINTLLGSNDPIMNKDLQLAYKELE
 QAVALLXTPQRQQTBRRSNRIOIKNVESHAAEPRSVSDYQMANSSYYVEJAMDGSGYPVQTYINASSKGAOPYNLPTTPH
 HTLKASDSKEIALMTAKQTODGYQWTKFNKGHAPHONKI FWFALPADQVPVGRDFTVNSDGTNVQWSHGAGAGANKP
 LQOMNFGVNDPDRSHDPKIRRSQOVIYSWPTVHVYSLEDLSRASDYFSKAGATPATKAFGRQNFYINGQKPAESPCV
 PKVYTFIGQGDAGYTFISFKTGFTVNLYYAAGGRALBYNQLFMYSQLYVESTQDHOOHLHGLRQVYVRYTIRIGITKARVE
 VSQGVQTKKYLESTHNTEDFDVDDPLSYVKTPSNKVLGPYPTNANTNAFRPGVOELNEYQLSQLFTDOKLOEAARTN
 PIRLXIGFEYPDGYGHSSETLVFVNLTVLPEIQHIIKPKFNTDTONIABKPFKQAGHPVYVYAGNQGNASVNLGGSVTS
 IQPLRLKLTSENEFTDKMQITCIPRTLHIENSTNRTNNAERNEI LVGNLLPGDYFOTIRPQRKQLFEIRVKPHTPTI
 TTTABQLRGTALQKVPVWISCIPLDPSALVYLVAPTNQTTNGGSEADJPSGYTILATGTPDGVHNTITIRPDQYVVFIP
 PVGKQIRAVVYNNKVVAGNMSNAVITLPCDIPPTINNPVGINAKYRGDEVNFTMGVSDRHSIGIKNTITITLPSGWT9NL
 TKSDNKGSLAITGRVSHQAFNSDITPKVGATONVMTTNDSSQKHSIHVGKISEDAPHVLGNTEKVVVNPPTAVSN
 DEKOSIITAFMNKQNIIRGYLASTDPVTVDNNGVTLHYRDSSTLDTATNMTYEPPVVKSEYQTANAAXTATVTIAKQO
 SFNIGDIKQYFTLSNGQALPHGTFTNITSDRTIPTAQEVSQMNAGTQLYHIVASNAYHKOTEDFYISLKIIVOVKQPEGDO
 RYRTSTYDLTTEISKVKQAFINANRDVITLADGDISVTNTPNGANVSTITVNIKORLTKSPASNLAMNPLRNVNFP
 QDYTVTNAKIANRPTDGLSNDHKSILYRYDATLGQITTTNDILTMLKATTVPGLRNNITGNEKAQAEAGORPNV
 RTTGYSQSNATIDGQROFTLIGQVIO:LDIINPSNGYGGCPVTNSNTRANHSNSTVNVNEPAANGAGAFIDHVVKSN9
 THNASDAVYKAQLYLTPYGPQYVEHLNQNTGNTTDAINIVFVPSDLVNPTISVQNYTNHQVFSGETFTNTITANDHFGV
 QSVTVPNTSQTITGTVDMNIQIVSATAPHVTSATSKTINLLATDTSGETATTSFNUVTKPLRDKYRVGTSSTAANPVR IAN
 ISNNATV5QADQTTIINSLTPTSNAPNRYATASANEITSKTVSNVERTCNMAKVTVTVTHQDGTSTVTVPVKHVPEI
 VAHSHYTVQGDFFPAGNGSSAADYFKLENGSAIPDATITWVGQAPKQDNTRIGEDITVTAHILIDGETTPTTKTATYKV
 VRTVPKHVFETARGVLYPGVSDHYDAKQYVKPVNMSKSTNAQHMMFQVGTYOPNKDVVGI6TRLIRVTVYDNRQTEDLTI
 LSKVKPDPFRIDANSVYKAGLTNQEIKVNLVLYN5SVKLPKADNTPLNV:NIHSGSGFSSVTVSDALPNQGIKAKSGI
 SMNVYTYTQDEHQVVTYTRNESVDSNDSASVTVPOLGATTEGAVFIKQGDGDFGKHVERFIQNPFGATVANHDSFD
 TWQNTVGNTHKTAVVTLP5GQOTRNVFVVKYYPVANAKAPSRUVKQONLTHGTNAIDYITFDPTNTNGITAAWANRQO
 PNNQQAGVQHLNVDV:YPGISAARKVPVTVMVYQFEFPQTITYTTITVKTILASGTQASGYAHNQNASGLPTDGFYKWRD
 TTGTNDANKAAMNKPNTAQVVMKYDVIYNGHTFATSLPAKFVVKDVPAPKPTVTETAGATIIAPGANQTVNTHAGNVT
 TYADKLVIKRNGNVVTTFTRRMNTSPHVKHESADNVTOIVOTNNGITVAAGTFNPADTIOVVATQSGSTISDBQRSDDF
 TVVAPQPNQATTKIWNQGHIDIITPNKPGHLINPTQAMOLAYTEKVGNGAENSKTINVVRGQNNQMTIANKPDYVTLDAQ
 TGKVTFNAKTIKPNSSITITPICAGTGH5VSSNPSTLTAPAANTVNTTEIVKDYGSNVTAAEINNAVQVANKRTATIKNGT
 AMPTNLAQGSTTTIPVTYNDGCTE5VQESIFTKADIKRELIITAKNRLDDPVSTEGKKPGTITQYNNAMHNAQOQINTAK
 TEAQQVINNERATPOQVSDALTKVRAAQTKIDQAKALLQNKEDNSQLVTSKNNLQSSVNVQVPSTAGHTQOSIDNVNAKKR
 BAETETAAQRVIDNGDA:TAQOISDEKHRVDNALTALNQAKHDIADTHALBQAVQQLNRTOTTITGKKPASITAYNNSIR

ALQSDLTSAKNSAKAI IQKPIRTVQEVQSALTNVRNVRNLTQAINQLVPLADNSALRTAKTKLDEEINKSVTTDGMTQS
 SIQAYENAKRAGQTETTNAQNV INKGDATDQQAIEEKTKEEYNSLXQAIAGLTPDLAPLQATQQLONDIDQPTSTTG
 MTSASVAAFNDKLSAHTTKIQIDRVLASHPDVATIRQNVTAJNAAKTALDOARHGLTVDKAPLENAKHQLOHSIDTQTS
 TTGMTQDSINAYNAKLTAAARKVQQINQVLAQSPTVDQIDTNTSAANQAKSDLDHARQALTPOKAPLQNAKTQLEQSINO
 PTDTTGMTTASLNAYNQKLQANROKLTBINQVLNQNPTVQINNDKVAEANKAKDQNLNTARQGLTLDRQALTTLNGASNL
 NQAAQKNFTQQINAAQNHAALETIKSNI TALHTAMTKLKDGVADSNITIKSGQNYTDATPANKQAYDNVNAAKOVIQETT
 NPTMUVITVNOKAASVKSTKDALOGQONLQRAKTEATNAITIDAGDLNOAQKHALTQOVNSAQNVQAVNDIKOTTQS LNTA
 MTOLKRGVANNDIOVVSQSNVYNADTNKIDYKNAYNKANDI INGNQHPVITPSDVNNALSNVTSKEHALNGEAKLNAAK
 QEANTALQHLKNTNRFVQRONLQSQINGAHQIDAVNTIKQUATNLISAMGNLRQAVADKQVKTEDYADADTAKQNAYS
 AVSSAETI INQTAIPTMSVCDVNRATGAVTTNKALNGDKLVQSKTDAARAIDALPHLKNAQKADVKSKINAASNIAGV
 NTVKQOQTDLNTAKGNLQGANDEOTLNSQNYQDATPSKKTAYTNNAVQAAXDILNKSNGQNKTKDQVTEAMNQVNSAKN
 NLDGTRLLDQAKQTAQQLNNMTHLTAAQKTNLTWQINSCTTVAGVHTVQSNANTLDOAMNTLRQSIANNDATKASEDYV
 DAMNDKQTAYNNAVAAABETI INANSUPERNPSTITOKAEQVNSSEKALNGDENIATAKQMAKTYLNTLTGTTDAQKHNLI
 SOISSATRVSGQDVTVKQNAQHTLDOAMNHLONGINNESQVKSSEKYRDAOTNRKQBYDNAITAAKAILNKSTGPTTAQNAV
 EALQRVNTAKDALNGDAKJIAAQNAKQHLGTLTHITTAQRNDLTWQIS

SEQ ID NO 13 secuencia de polipéptido

MKNLQTAINDKSGTLASQNFLEADQKUNAYNQASAAETILNKQTPNTAKTAVEQALNBNVNSAKHIALNGTQNLNNAKO
 AAITAINGASDLNQKOKDALKAQANGAQRVSNANDVQRNATLNTAMGQLQHAIDKNTTLASSKYVNVADSTKQNAYTTK
 VTNAEHIISSPTFVVTTPEVTAANQVNSAKQELNGDERLRVAKQKANTAIIDALTOINTPQAKLKEOVGQAMRLBDVQ
 SVQNTGQSLNNAMKGLRDSIANETTVKASQNYTDASPMNQSTYNSAVSNAGKI INQTNHPTKPTSAITQATTQVNNAKNG
 LKGAENLRNAQNTAKQNLNLTSLHLTNQKSAISSQIDRAGRVSEVTAAKNAATELNAQMGNLQAIHNDQNTVKQNVFTD
 ADKAKRDAYTNASRAETILNKTOGANTSQKQVFAAIONVTSIAKVALNGDQNVTHAKNAKQALNHLTSINNAQKRDLT
 KIDQATTVAGVEAVSNTGTQLNTAMNHLONGINDKANTLASBNYHDADSDEKKTAYTQAVTNAENILNKQSGSNLDAKAVE
 NALSQVNTAKKALNGNHLQEAQSNANTTINGLQHLTTAQKDKLQOVQQAQNVAGVDTVKSSANTLNGAMGTLRNSIQD
 NTATKNGQNYLDATERKKNYINAVDSAGVINATSNPHNDANAINOIATQVTSIKIALDGTHTNLTAQKQATNAIDGAT
 NLNKAQNDALKAGVNTSAQRVAFTSIQQTANHLNTAMGQLQNGICDENATKOTQYRDAEQSKKTAYDQAVAAAKAILNK
 QTGNSNDKAAVDRALQQVTSKDALNGDAKLAEAKAAARQKLTGTLNHTNAQRTALQGOINQATTVDGVHTVKTNANTLO
 GAMNSLQCAINDKJATLRNQNYLQADSEKRNAYTQAVTAASGILNKQTTGGNTSKADVDNALNAVTRAKAALNGAENLRNA
 KTSATNTINGLPNLTLQKQKONLKHQVBOAQNVVGVNGVKDKONTLNTAMGALRTSIQNDNTTKSQNYLSDSNKNVNT
 TAVKYNANQVINAATMPPNDANAINDMAKQVNTTKAALNGAQLAQAKTNATNTINMAQDLNQKQKQVNNAAQRVSD
 ANNVQHTATELNGAMTALKAATADKERTKASGNVYNADQEKQAYDSKVTAENIINOTPNATLTVNDVNSAASQVNAAK
 TALSGDNHLRVAKENYNTIDGLAQKLVQKAKLKEQVQSATTLDOVQTVNNSQTINAMKGLRDSIANEATIKAGQNY
 TDASPNRNEYDSAVTAAKAIIINQTSNPTHEPNTITQATSVQTTKEHALNGAQLAQAKTTAKNNLNLTSINNAQKDAL
 TRNIDGATTVAGVNTSAQRVAFTSIQQTANHLNTAMGQLQNGICDENATKOTQYRDAEQSKKTAYDQAVAAAKAILNK
 VEOALQNVNSTKTALKGDAKLNBAKAAKQTLGTLTHLNNAGRNALDNEITQATHVEGVNTVKAQKQQLDQAMQLETSI
 RDQTTQLQSONYQDADDAKRTAYSQAVNAAATILNKTAGQNTPKADVERANQAVTOQANTALNGIQHLERAKQAANTAITN
 ASDLNTKQKEALKAOVTSAGKVSAAANGVEHTATELMTANTALKRAIDAKADTKASGNVYNADANQKQAYDEKVTAAEHLV
 SGTPTPTLTPSPDVNTAAATQVNTAKTQALNGHNLQVAKQNTAIDGLTSLNGPQKAKLKEQVGOATTLPNVQTVRDNAGT
 LNTAMKGLRDSIANEATIKAGQNYTDASQKQKQNYKNAVTAAKAIIICOTTSPSHIAQEIINQAKDQVTAQDQALNGQENLR
 TAQTNKQHLNGLSDLTNAQKDAAKRQIEGATHVNSVTPAQNHADALNTAMTNLNGIQDQNTIKQGVNFTDAEAKKNA
 YTHAVTQAEQILNKAQGPNTAKDQVETALQNVQRAKNEIANGONVANAKTTAONALNHLTSINNAQKAAKLSQIEGATTV
 AGVQVSTKASELNTAMSNLQRGINDZAATKAAQKYTEADRDQKTAYNDAVTAAXTLLDKTAGSHDNKVAVEQALQRVNT
 AKTALNGDARLNEAKNTAKOQLATM5HLTNAQKANLTEQIEROTTVAGVQQTQANACTLNQAMNQLROSIAKXDAKTSSE
 UYQDANADLQNAYNDAVTNABGIISATMNPKQPDITINOLASQVNSAKSALNGDEKLAAYKQAKSDIGRLTOLNNAQRT
 AANAEDVQAPNLAADVTAARQKATSLNTANGSLKHALAEKONTKRSVNTDADOPKQOAYDTAVTQAEALTNANGSNANET
 QVQALNQLWQALQNDLNGDNKVAQAKETAKRALASYSNLNAQSTAAITSQIDNATTVADVTAAQNTANTELNTAMGQLQNG
 INDQNTVKQGVNFTDADQKQKDAYTNVTHAQOILDKANGQNTKQAVEAALNQVTTAKNALNGDANVROAKSDAKANLQ
 TLTHLNNAGKQDLTSQIEGATTVNGVNSVTKAQDLQAMQRLRSAIANKDQTKASENYIDADPTKKTAFDINAITQAESY
 LNKDHCTNKDKQAVEQAISQVSTENALNGDANLQCKTEATQAIIDNLTLQNTPQKTALKQOVNAAQRVSGVTDLKN5AT
 SLNRAMDQLKQAIQGDHDTIVAGGNVNTNASPKQGAYTDAVYAAKXIVNGSPNVITNAADVTAATQRVNNAETSLNGDTNL
 ATAKQQAADALRQXTHLSDAQKQSIITGQIDSATOVTVQSVKDNATHLNDAMNQLRNSIANKDEVKAQSPYVDADTDKON
 AYNTAVTSAENITKATSOPTLOPSAVTQAAQVYNTKIALNGAQLNAKQKQETTANINRLSHLNUAQKQDINTQVNTAPN
 ISTVKQVNTKAEQLDQAMERLINGIQDKDQVKSQVNTDADPEKQTAYNNAVTAENIINQANGINANQSQVEALSTVT
 ITTKQALNGDRKVTDAQKNAKQTLSTLCHLNAKQKQAVTGSINQAHTVAHVTAIQTAQELATAMGNLXNSLNDKOTTLGS
 QNFADADPEKSNAYNEAVRNAENILNKSTGTNVFKDQVEAMNQNVTAKAALNGTONLEKAKQKHAITAIDGLSHLTHAQK
 EALKQLVQOSTTVAEACQNEQKANVDAAMDKLRSIADNATTKQKQNYTDASPHKKDAYKNAVITAQOIIDOTTNPSLD
 PTVINQAACQVSTS KVALNONENLEAAKQQAQTSLSGLDNLNNAQKQAVTNOINGAHTVDEANQIKQNAQNLNTAMGNLK
 QAIADKQATKATVNTDADQAKQQAYNNAVTAENIISKANGGNATQTEVBOAIQOVNAAKQALNGNANVONAKDEATAL
 INNSNDLKAQKDALKQOVQNAATTVAGVNVKQTAQELNFAHTQLKQCIADKEOTKADGRFVNADSDKQNAYNQAVAKAE
 ALISGTPDVVVTPEITAALNKVTOAKNDLNGWTLATAKQNVQHAIDQLPNLNGAQRDEYSKQITQATLVPVNAIQQA

ATTLNDA MTQLKQGIANKAQIKGSENYHDADTDKQTAYDNAVTKEELLKQTTNPTMDPNTIQQALTKVNDTNQALNGNQ
 KLADAKQDAKTTLTGLDHLNDAQKQALTTQVEQAPDIATVMNVKQNAQNLNAMTNLNNALQDKTETLNSINFTDADQAK
 KDDYTNVASHAEGILSKANGENASQTEVEQAMQVRNEAKQALNGNDNVQRAKDAAKQVITWANDLNQAKDALKQOVDAA
 QTVANVNTIKQTAQDLNQA MTQLKQGIADKQDTKANGNFVNADTDKQNAYNNAVAHAHQIISGTPNANVDPQQVQAALQQ
 VNQAKGDLNGNHNLOVAKDNANTAI DQLPNLNQPKTAL KDQVSHAELVTGVNAIKQADALNNAMGTLKQGIQANSQVP
 QSVDFTOADQDKQQA YNNAA NQAQIIANGTPTPV LAPDTVT KAVTTMNQAKDALNGDEKLAQAKQDALANLDTLRDLNQF
 QRDALRNQINQAQALATVEQTKQNAQNVNTAMGNLKQGIANIKDTVKASENYHDADV DKQTAYTNVAVSQAGIINQTTNPT
 LNPDDITRALTQVTDAKNSLNGEAKLATEKQNAKDAVSGMTHLNDQAQKQALKGQIDQSPETATVNVQVKQTATSLDQAMDO
 LSQAINDKDQILADKYNL NADPKQNA YQAVAKABALLNKQSGTNEVQAQVESITNEVNAAKQALNQNNDLANAKQQAQ
 QQLANLTHLNDQAQKQSFESQITQAPLVTDTVTINQKAQTLDHAMELLRNSVADNQTTLAS EYHDATAQRQNDYNAKAVTA
 ANNIINQTTSPTMNPDDVNGATTQVNNTKVALDGDENLAAAKQOANNRLDQLDHLNNAQKQQLQSQITQSSDIAAVNGHK
 QTAESLNTAMGNLINAIDHQAVEBQRGNFINADTDKQTAYNTAVNEAAMINKQTQONANQTEVEQAITKVQTTLQALNG
 DHNLQVAKTNATQAI DVLTS LNDPQKTAL KDQVTAATLVTA VHQIEQNAHTLNQAMHGLRQSIQDNAATKANSKYINEDQ
 PEQQNYDQAVQAANNIINEQTATLDNNAINQVAATVNTTKAALHGDVKLQNDKDHAKQTVSQAHLNNAQKHMEDTLIDS
 ETTTAVKQDLTEVQALDQLM DALQQS IADKDATRASSAYNAEPNKKQAYDEAVQNAES ILAGLNNPTINKGNVSSATQ
 AVISSKHALDGVERLAQDKQTAGNSLNHL DQLTPAQQAALENQINNATTC DKVAEIIAQQAALNEAMKALKESTKDQPT
 BASSKF INEDQAQKDAYTQAVQHA KDLINKTTDPTLAKSIDQATQAVTDAKNNLHGDQKLAQDKQRATETLNNLSNLM
 PQRALENQINNAATRGVEAQKLEAQALNQAMEALRNSIQDQOQTESGSKFINEDKPKQDAYQA AVQNAKDLINQGM
 TLDKAQVEQLTHAFKQAKDMLHGDQKLADDKQHAVTDLNLQNLNPNPQRALESQINNAATRGVEAQKLEAKALDQAMQ
 ALRNSIQDQOQTEAGSKFINEDKPKQDAYQA AVQNAKDLINQGMPTLDKSKQVBSQLTQAVTAKDNLHGDQKLARDQQA
 VTTVNALPNLNAHQQTTLDAINAAPTREVAQHVTATELDHAMETLKNKVDQVNTDKAQPNYTEASTDKKEAVDQALQ
 AAQSIDPTKGSNANKDAVEQALTKLQEKVNE LNGNEVVAEAKTQAKQTDQLTHLNDQIATAKQNTDQATKIQPIAEL
 VDQATQLNQSM DQLQQA VNEHANVEQTIDYTTQADS DRQKAYKQAIADAENVLKQNAKQQVDQALQNI LNAKQALNGDER
 VALAKTNGKHDIDQLNALNNAQDGFKGRIDQSN DLNQIQQIVDEAKALNRAMDQLSQEITGNEGRTKGSNTYVNA DTQV
 KQVYDEAVDKAKQALDKSSGQNLTAEQVILKNDAVTA AKKALNGEERLNNRKAELQRLDQLTHLNNNAQRLAIQIINNA
 ETLNKASRAINRATKLDNANGAVQYIDEQHLGVISSTNYINADDNLKANYDNAIANAHELDKVQGNATAKAEAEQLKQ
 NIIDAQNALNGDQNLANAKDKANAFVNSLNGLNQOQQLAHKAINNADTVSDVTDIVMNQIDLNDAMETLKHLDVNEIPN
 AEQTVNYQNADDNAKTNFDQAKRLANTLLNSONTNVNDINGAIQAVMDAIHNLNGDQRLQDAKDKAIQSINQALANKKE
 IEASNATDQDKLIAKNAEELANSIINNINKATS NQAVSQVQTAGNHAIEQVHANEIPKAKIDANKDVKQVQALIDEID
 RNPNTDKEKQALKDRINQILQOQHNDINNALTKEEIEQAKAQLA QALQDIKDLVKAKEDAKQDQVKQVQALIDEIDQNP
 NLTDKEKQALKDRINQILQOQHNDINNAMTKEEIEQAKAQJAAQALKEIKDLVKAKENAKQDQVKQVQALIDEIDQNP
 DKEKQALKDRINQILQOQHNDINNAMTKEEIEQAKAQLA QALQDIKDLVKAKEDAKNAIKALANAKRDQINSNPDLTPBQ
 KAKALKEIEAEKRALQNVENATIDQLNRGLNLGLDDIRNTHVWEVDEQPAVNEIFEATPEQILVNGELIVHRDDIITE
 QDILAHINLIDQLSAEVIDTPSTATISDSLTAKVEVTLDDSKVIVNVVPVKVEKELSVVQQAIESIENAAQKIDEIN
 NSVTLTLEQKEAAIAEVNKLKQQAIDHVNAPDVHSEIEQQEQAYIEQFNPEQFTIEQAKSNALKSIEDAIQHMIDEI
 KARTDLDKEKQEA TAKLNQLKEQAIQAIQRAQSISEITEQLLEQFKAQMKANPTAKELAKRKQEAISRIKDFSNKES
 IARNSEIGTADEKQAANNQINEIVLETIRIDINNAHTLQVQAALNNGIARI BAVQIVISDRAKQSSSTNESENHITIGY
 TANHFPSTTIOHKKLDDEDDIDPLHMRHFSNFGNVIKVAIGVVGISGLLASFWFFIAKRRRKEDESELEIRDNNDK
 SIKETLDDTKHLPLLFAKRRRKEDEEDVTVEEKDSLNGEISLKVKHTPFFLPKRRRKEDEEDVEVTNENTDEKVLKDNB
 HSPLLFAKRRRKEEDVETTTSES KDEDVPLLLAKKKNQKDNQSKDKKSASKNTSKKVAAKKKKKSKKNK

SEQ ID NO 14 secuencia de polipéptido

MNNRDKLQKFSIRKYAIGTFSTVIATLVFMGINTNHASADELNQNKLIKQLNQTD DDDSNTHSQBIENNKQNSSGQTES
 LRSSTSQNQANAPLS DQKDTNETSQQLPTNVSDDSINQSHSEANMNEPLKVDNSTMQAHSKIVSDSDGNASENKHKL
 TENVLAESRASKNDKEKENLQEKDSQQVHPPLDKNALQAFDASYHNYRMIDRRADATEYQVKSTFDYVNDLLGNQ
 NIPSEQLVSAYQOLEKALELARTLPQSTTEKRGRRSTRSVVENRSSRSYLDARTEYVVSXDDDSGFPPTGFPHASNR
 RWPYNLPRSRNILRASDVQGNAYITTKRLKQGYQWMDILFNSNHKGHEMYWYFGLPSDQPTPTGPVFTFIINRDGSSSTG
 QVGFGSGAPLPQFWRSAGAINS SVANDFKHGSATNYAFYDZVMNFSDFARGGELYFDREGATQTNKYGDENFALLNSEK
 PDQIRGLDTIYSFKGSGDVSYRISFKTQGAPTARLYYAAGARSGEYKQATNYNQLYVBPYKNYRNRVQSNVQVKNRTLHL
 KRTIRQFDPQLQRTTDVPILOSDGSGSIDSVDPLSYVKVNTQTVLGIYPSYLPYNQERWQGANAMNAYQIEELFSQENL
 QNAARSGRP IQFLVGFDVEDSHNPE TLFPVNLVVKPELKHTIELYHDNEKQDRKEFSVSK

SEQ ID NO 15 secuencia de polipéptido

MSOTLHNTVGSGLIPYQGEIRIKLTSENEPIKSEWSITQYPNTLT LQNAVGRTNNA TEKNLALVGHIDPGNYFITVVKFGD
 KVEQFEIRSKPTPPRIITTANELRGNPNHKPEIRVTDIPNDTTAKIKLVMGGTDGDHDP E INPYTVPENYTVVAEAYHDN
 DPSKNGVLTFRSSDY LKDLPLSGELKAIVYNNQYVQSNFBSKSVFFSSDTPPTINEPAGLVHKYRQDKHVEITLPVTDNT
 GGSGLRDVNVNLPQGWTKTFTINPNNTTGLTKLIGNIPSEAYNTTYHFNITATDMSGNTTNPAKTFILNVGKLADDLN
 FVQLSRDQLQLVTDPPSSLSN SEREEVKRKISEANANIRSYLLQNNPILAGVNGDVTFFYRDGSDVDIDAENVITYEPERK
 SIFSENGNTNKKEAVIT IARGQNTYIGPNLRKYFSLNSGSDLPNRDPTSISAIGSLPSSSEISRLNVGNVYRNVNAKNAY
 HKTQQELNLKLIKIVEVNAPTONRVRVYSTYNLTNDEINKIKQAFKAANSGLNLNDNDITVSNWFDRNVSSVTVIRKG

DLIKEFSSNLNNMFLRWVNTIRDDYTISWTSSKIQGRNTEGGLWSPDHKS LIYKYDATLGRQINTNDVLTLLQATAKNS
 NLRSNINSNEKOLAERGSNGYBKSIIIRDDEKSYLLNSNFIQVLDLVEPDNGYGGRRQVHSHVYIYNEKNSSIVNQGVPEA
 NGASAFNIDKVVKANAAANNIMGVYIYKAQYLAPYSPKGYIEKLQONLSNTNMVINYVPVPSDKVNPSTITVQNYDHHTVY
 SGETFPKNTINVDNDNYGLNTVASTSDSAITMTRNNNELVGCAPNVVNSINKIVKVKATOKSGNESIVSFTVNIKPLNEKYR
 ITTSSSNQTPVRISNIQNNANLSIEDQNRVKSLSMTKILGTRNYVNESMNDVRSQVVSQVNSRSGMNA TVNTTTFSDGT
 TNTITVPVKHVLLEVVPTTRTTIVRGQQFPPTGKGTSPNDFP8LRTGGPVDARIVMVNNQGPDI NSNQIGRDLTLHAEIFFD
 GETTPIRKDTTYKLSQSIPKQIYETTINGR FNSSGDAYPGNFVQAVNQYWPHEMDFRWAQGSSTP6SRNAGSFTKTIVTVV
 YQNGOTENVNVLFKVKPNKPVIDSNSVISKGQLNGQQLVVRNVFQNAQVTLVYQSNQTVIPMTNTTIDSNGIATVTIQGTL
 PTGNITAKTSMNTNVYTKQNSSGSIASNTTEDI SVFSEMSDQVNVTAGMQAKNDGIKI IKGTMYNPNDFNSPISNIPAH
 TLTWNEEPNSWKNNIGITTKTVTVTLPNHQGTTRVDIPITTYPTVTAKNPVRDQKGRNLTNGTDVYNYIIFENNRLGGT
 ASWKDNRPDKNIAGVQNLIALVNYPGISTPLEVPVKVWVYVNFDFTPQPIYKIQVGDTPFKGTWAGYKXLENGEGLPIDG
 WKPYWNQSTGTTSDQWQSLAYTRTPFVKGTGYDVVNP8NKGWVWQTSQSAKFIVTNAPNPQPTITQSKTGDTVTPGAVR
 NILISQTDNDYIQASADKIVINKGNKLTTFVKNNDGRWTFETGSPDINGIGPTNNQTAISLSRLAVRPGDSIEAITEGS
 GETISTATSSEIYIVKAPQPEQVATHTYDNGTDFILPDNSRNSLNPTERVEINYTEKLNGETQKSFITKNNNGKWTIN
 NKPMYVEFNQDNGKVVFSANTIKPNSQITITPKAGQWNTENTPTVIQAPAQHTLTINEIVKEQGGVNTNDDINNAVQV
 NKRRVAIKQGNALPTNLGGSTSHIPVVIYYSDSSEATESTVTKVNTKTELINARRRLDEEISKENKTPSSIRNFQAM
 NRAQSQINTAKSDADQVIGTEFATPQQVNSALSQVQAQNKINEAKALLONKADNSQLVRAKEQLQOSIQPAASTDGMTQ
 DSTRYNNKRAAEQAIQHANSVINNGDATSQINDAKMTVEQAQRDYVEAKSNLRADKSQLQSAYDTLNRDVLTDKPK
 ASVRYRYNEAISNIRKELDTAKADASSTLRNTNPSVEQVRDALWKNINTVQPKVQNAIALLQPKENNSLVOAKKRLQDAVN
 DIPQTQGMTQOTTINNYNDKQREABRALTSQAVRIDNGDATTQETITSEKSKVEQAMQALTNAKSNLRADKNEQTAYNKLI
 ENVSTNGKKPASIROYETAKARIQINQINDAKNEAERILQNDNPQV6QVTQALNKIKAIQPKLTEA INMLQNKENTELVN
 AKNRLLENVNDTPTHTGTQETINNYNAKKREAEQNEIQXANMI INNGDATAQDISSEKSKVEQVLQALQNAKNDLRADKR
 CLQATYANKLIQNVNTNGKKPSSIQNYKSARRNIENQYNTAKNEAHVLENTNPTVNAVEDALARKINAIQVPTKAINILQ
 DKEDNSELVRAKELDQAINSQPSLNGMTQESINNYTTKPREAQNIASSADTI INNGDASIEQITENKIRVEEATNALNE
 AKQHLTADTTSLKTEVRKLSRRGDTNNKPPSSVSAYNMTIHSLQSEITOTENRANTI INKPIRSVEEVNNALHEVQNLQ
 RLTDITNLQPLANKESLKEARNRLESKINETVQTDGMTQOSVENYKQAKIKAQNESSIAQTLINNGDASDQEVSTIEK
 LNQKLSLNTSINHILTVNKEPLETAKNQLQANIDQKPSDGMNTQOSVQSYERKLQEAQDKINSINNVLANNPDVNAIRTN
 KVETEQUINNELTQAKQGLTVQKQPLINAKTALQOSLDNQPSSTGTGMTZATI QNYNAKQKAEQVIONANKI IENAPSVQ
 VSEKSKVEQALSELNNAKSALRADKQELQQAYNQLIQPTOLNKKPASITAYNQRYQOFSNELNSTKTNTDRILKQNP
 SVADVNNALNKVREVEVQQLNEARALLQNKEDNSALVRAKEQLQAVDQVPSTEGMTQQTQDDYNSKQQAQQIEISKAQV
 IDNGDATTTQOISNAKTNVERALEALNNAKTGLRADKEELQNAYNQLTQNIIDTSGKTPASIRKYNEAKSRIQQTIDSAKNE
 ANSILTDNDNPQV6QVTAALNKIKAVQPELBDKAIAMLKNNENNALVQAKQQLQQIVNEVDPTQGMTTDTANNYKSKREA
 EDEIQKAQI INNGDATEQQITNETNRVNAQAINAINKAQQLRADKSELENAYNQLIQNVDTNGKKPASIQYQOARQAI
 ETQYNNAKSEAHQILENSNPSVNEVAQALQKVEAVQLKVNDATHILQNKENNSALVTAKNQLQOSVNDQPLTTGMTQDS
 NNYEAKSEAEASIRNAEAVINNGDATAQOISDEKSKVEQALAHNDAKQQLTADTTELQTAVOQLNRGDTNNKPR8I
 NAYNKAQISLETOITSADKNANAVIQKPIRTVQSEVNNALQOVNQLNQQLTEAINQLQPLSNNDALKAARLNLENKINQTV
 QTDGMTQOSIEAYQNAKRAQNESNTALALINNGDADBOQITTETDRVNNQQTINLTQAINGLTVNKEPLETAKTALQNNI
 DQVPSTDGMTQOSVANYNQKLOIAKNEINTINNVLANNPDVNAIKTNKAEERI8NDLTQAKNNLQVDTQPLEKIKRQLQ
 DEIDQGTNTDGMTQOSVDNYNDSLSAAIEKGVKNKLLKRNPTVEQVKESVANAQOVIQDLQNAKRTSLVPOKTQLQEA
 RLENSINQOTDGTGMTQOSLNNYNDKLAKARQNLKISKVLGGQPTVAEIRQNTDEANAHKQALDARSQTLNREPYIN
 HINNESHNNNAQKDNFKAQVNSAPNHTLETIKNKADTLEQSMTALSESADYENQKQENYLDASNNKRDQYDNVNA
 KGILNQTSPTMSADV IDQKARDVKRTKTALDGNRLLEVAKQQAALNHLNTLNDLNDQAQRQTLTDTINHSPNINSVNAKE
 KANTVNTAMTQLKQTIANYDDELHDGNYINADKDKDAYNNAVNNAKQLINQSDANQAQLDPAEINKVTORVNTTKNDLN
 GNDKLARAKRDANTTTDGLTYLNEAQRNKAKEVNGKASTKTNITSQLODYNNQNLIAMQALRNSVNDVNNVKNANSYINED
 NQPKAEAYNQAVTHAQTLINAQSNPENS RDVVNQKTAQVNAHQMLHGQOKLEQAQSSANTEIGNLPNTNTQKAKEKELV
 NSKQTRTEVQEQLNQAQSLDSSMGLTKSLVAKQPTVQKTSVYINBQPEQSAYNDSITMGQTI INKTADPVLDKTLVDNA
 ISNISTKENALHGEQKLTTAKTEAINALNTLADLNTPKQZAIKTAINTAHTRTDVTAEQSKANQINSAMHTLRQNI8DNE
 SVTNE8SYINAEPEKQHAFTALNNAKEIVNEQQATLDANSINQKAQAILTTKNALDGEQLPRAKENADQ8INTLNQLT
 DAQRNSEKGLVNS6QTRTEVASQAKAKELNKVMEQLNHLINGKQIMINSSKFINEDANQQQAYSNAIASAEALKNKSN
 PELDKVTIEQAINNIN8AINNLNGEAKLTAKEDAVASINNLSGLTNEQKTKENQAVNGAQTRDQVANKLRDREALDQSM
 QTLRDLVNNQNAIHSTSNYFNEDSTQKNTYDNAIDNGSTYITGQHNPELNKSTIDQTTISRIKTAKNDLHGVEKLQDKGT
 ANQEIGQLGYLNDPQKSGEESLVNGSNTRSEVEEHLNEAKSLNNAMKQLRDKVAEKTNVKQSSDYINDSTERQGVQAL
 QEARNINEIGNPTLNKSEIEQLQQLTDAQNALOGSHLLEAKNNAITGINKLTALNDAQRQKAIENVOAQQTIPAVNO
 QLTLDREINTAMQALRDKVGGQNNVHQSSNYFNEDEQPKHNDNSVQAGQTIIDKLQDPIMNKNIEQAQINQINTTQAL
 SGENKLTDDQESTNRQIEGLSSLNTAQINAEDLVNQAKTRTDVAQKLAAAKEINSAMSNLRDGIQNKEDIKRSSAYINA
 DPTKVTAYDQALQNAENIINATPNVELNKATIEQALSrvQQAQQLDGVQQLANAKQQAQTQTVNGLN6LNDGQKRELNLL
 INSANTRTKVQEEELNKATELNHAMEALRNSVQNVQVQSSSNYVNEDEQPEQHNYDNVNEAQATINNMAQPVLDKLAIER
 LTQTVNTTKDALHGAQKLTQDQQAETGIRGLTSLNEPQGNAEVAKVTAATTRDEVRNIRQ8ATTLDTAMLGRLKSIKDK
 NDTKN88KYINEDHQQQAYDNVAVNNAQOVIDETQATL8SDTINQLANAVTQAKSNLHGDTKLQHDKDSAKQTIQALQNL
 NSAQKHMEDSLIDNESTRQVQHDLTEAQAQLDGLMGALKESI8DYTNIVSNGNYINAEPSKQAYDAAVQNAQNIINGTN
 QPTINKGNVTTATQTVKNTKDALDGDHRL8EAKNNANQTIRNL8NLNNAQKDAEKNLVNSASTLEQVQQLNQTAAQQLDRA

MGELRQSIAXKQDVKADSKYLNEDPQIKQNYDDAVQVRVETIINETQNPPELLKANIDQATQSVQNAEQALHGAELHQQKO
 TSSTELDGLTDLTDQAREKLREQINTENSRRDDIKQKIEQAKALNDAMKLLKEQVQKDGVHANSDYTHEEDSAQKDAYNNA
 LKQAEIDINNESSNPHLNAQDITWALNNIKQADNHLGAQKLQDDKNTTQAIQNLNHLNQPKDQALIQAINGATSRRDQVA
 EKLKEAEALDEAMKQLEDQVFNQDDQISNTPFINEDSDKQTYNDKIQAACEIINQTSNPTLDKQKIADTLQNIKDAVBN
 LBGDQKLAQSKQDAMNQLNHLDDLTBEQKNHFKPLINWADTRDEVNKQLEIAKQNLQDMSTLHKVIMDKDQIQHLSNYIN
 ADNDKKQNYDNWAIKEASDLIHNHPTDLDHKAQQLLSKIDQAHNELNGESRFKQALDMALNDIDSLSNLPVQRTVKDN
 INHVTTLESLELQKAKELNDAMKAMRDSIMNQEQIRKSNYTNEDLAQONAYNHAVDKIINIIGEDWATMDPQIIKQA
 TQDINTAINGLNGDQKLQDAKTDAKQOITNFTGLTEPQKQALENIINQQTSRANVAKQLSHAKPLNOKMEELKVAVAKAS
 LVRQNSNYINEDVSEKEAYEQAIAGQSEINSENMPTISSTDIRTIQEIINDABQNLHGDNKLRQAQEIATKNEIQNLGDL
 NSAQITTKLQDIGRTTTKPAVTQKLEAKAINQAMQQLKQSIADKDATLNSNYLNEDSEKKLAYDNNAVQABQLINQLN
 DPTMDISNIQAITQKVIQAKDSLHQANKLAQNMADSNLILNQSTNLNDKQKQALWDLINHAQTKQCVABEIAQANKLNNE
 MGTLLKTLVSEQSNVHQQSKYINEDPQVQNTIYNDGIQKGBEILNGTTDDVLNNMKIADAIQNIHLTKNDLHGDKQLKQAKQ
 DATNELNLYLTMLNNSQRQSEHDEINSAPSRTEVSMDLHAKALNEAMRQLENEVALENSVKLSDFINEDEAAQNEYSNA
 LQKAKDILINGVPSSSTLDKATIEDALLELQNAKESLHQBQKLQEAQNQAVABIDNLQALNPQGVLAERTLVNQASTKPEVQ
 EALQKAKBLNEAMKALKTEINKKEQIKADSRVYNADSGLQANYNSALNYGSQIATATOPPELNKDVINRATQTTKTAENN
 LNGQSKLAEAASDGNQSEIHLQGLTQSQKDKQHDLINQAQTTKQVDDIVNNSKQLDNSMNLQLOQIVNNDNTVKQNSDFIN
 LQDSQQDAYNHAIAQAADLITAHPTIMDKWQIDQAIENIKQALNDLHGSNKLSEDKCEASEQLONLSLNGQKDTILMH
 IFBAPTRESQVGEKIASAKQLNNTMKALRDSIADNNEILQSSKYFWEDSEQQNAYNQAVMKAKNIINDQPTFVMAWDEIQS
 VLNEVKQTKDNLHGDKQLANDKTDAQATLNAALNYLNQAGRNLETKVQNSNSRPEVQKVVQLANQNLNDANKLLDADLGM
 DAIKQTSNYINEDTSQQVNFDEYTDGRKNIIVAEQTMNPNMPTNINTIADKITEAKNDLHGQVQLKQACQQSINTINQMTG
 LMQAQKQQLNGEIQQTOTRSEVHQVINKAQALNDSMNTLRQSIIDHEEVKQTSNYINETVGNQTAYNNAVDRVKQIINQ
 SNPTMNPLEVERATSNVKISKDALHOERELNDNKSCTFAVNHLDNLQACKEALTHEEQATIVSQVNNIYNKAKALNN
 DMKLLKDIIVAQDQNVQSNHYINEDSTPQNMNYNDTINHAQSIIDQVANPTMSHDEIENAINWIKHAINALDGEHKLQAK
 ENANLLINSNLNAPORDAINRLVNEAQTRKVAEQQUAQALNDAMKHLNISTQNGSEVRSQESQIINASDAKKEQYNH
 AVREVENIINEQFPTLDKRTIKQUTDGVNQANNDLNGVELLDADKQNAHQSIPTLMLHAQQAQNALNEKINNAVTRTEVA
 AITGOAKLLDHAMENLEESIIDKKEQVQKQSSNYINEDSDVQETYNNAVDMVTEILHQTUNPTLSIEDIEHAINEVNAQKQ
 LRQKQKLYQTTDLADKELSKLDLTSQSSSISNQIYTAKTREVAQAIEKAKSLNHAKALNKVYNADKVLDSRRFIN
 EDQPEKKAYQQAINHVDSEIHRQTNPEMOPTVINSIITHELETAQNHLHGDKQLAHAQQAANVINGLIHLNVAQREVMIN
 TWTNATTREKVAKNLQNALDKAMETLQOVVAHKNNILNDSKYLNEDSKYQQQYDRVLADABQLLWQTTNPTLEPYKVD
 IVKDNVLANEKILFGAEKLSYDKSNAWDEIKHMYLNNAQKQSIKQMI SHAALRTEVKQLLQQAAILDEAMKSLEDKTVQ
 VITDPTLRFNYTEASEDKKSKVDQTVSHAQAIIDKINGSNFSLDQVRQALEQLTQASENLDDQVRVEAKVHANQTIDQLT
 HLNSLQOQTAKESVKNATKLEBIATVSKNAQALNKVNGKLEQFINHADSVENSDNYRQADDDKIAYDEALEHGDQDIQKT
 NATQNETKQALQQLIYAETSLNGFERLNHARPRALEYIKSLEKINNAQKSALDKVQTSQHDLELESHIVNBGTMLNDIMG
 ELANAIWNVNYAFTKASINYNADNLRKDNFTQAINNARDALNKTQGNLDFNAIDTFKDDIFKTKDALNGIERLTAASKS
 AEKIDSLKFINKAQFTHANDEIMNTNSIAQLSRIVNQAFLDNDAMKSLEDELNNQAFPVQASSNYINSEEDLKQQFQHA
 LSNARKVYLAKENGKNDLDEKQIQGLKQVTEOTDKALNGIQRLSKAKAKAIQYVQSLSYINDAQPHIAENNIHNSDDLSLA
 NTLKSASDLNDAMKDLRDTIESNSTSVPNSEVNYINADKSLQIEPDEALQASATSSKTSKSNPATIEEVLQLSQAIYDNTKN
 ALNGEORLATEKSKDLKLIKGLKDLNKAQLEDVTKVNSAMTLELSQLTQSTLELNDKMLLRDKLKTIVNVPKASLMY
 RNADYNLRQFPNKALKEAGVNLKNSGTWVNIINDIQHLLTQIDNAKDQLNGERRLKEHQCKSEVFIIEKLDILNHAQKAA
 IINQIRASKDIKIINQIVDNALIELNDAMQGLKEHVAQLTATTKDNIEYLNADDEHKLQDYADMLANVLDDKENGWTKDA
 NIIIGMIQNMDDARALLNGIERLKDAQTKAHNDIKDTLKGOLDEIEHANATSNKQAQKQMVNEEARKALSNINDATSN
 LVNQAKDEGQSAIEHHADELPAKALDANQMTDQKVEDIHLISQWPNLSNEEKMLISQINKLVNGIKNEIQQAINKQ
 IENATTKLDEVIETTKKLIIAKAEAKQMIKELSQRKQDAINMNTOLTPSQKALADIDKTEKDALQHIENBNSIDDINN
 NKEHAFNTLAHIIINDTDQQLVTELPFELSQNALVTEVVVNRDETISLESIIQANTLTDELKVNIVSLPNTOKVADHL
 TAKVKVILADGSSVTVNVPVKVVEKELQIAKDAIKTIDVLVKQIKIDISNNELTSTQREDAKAEIERLKKQAIIDKVRH
 SKSIKDIETVKRTDPEIDQFDPKRTLNKAKDIIIDVNTQIQNGPKETIITIKGLTSNEKTQFDKQUTALQKEFLEKVE
 BAKNLVELNQLQOEPMNRYKHILNQAHLGEXHIAEKKLJYVVVVKTQQLNHSASYYIKQWALDRIKQIQLETNNSIR
 GARTVQDVKALLQOIEBQILKVNYSIINQSFMDSLHNPYLNHSPDARLREKDVANHIVQTSFKEVLKQGTQVEFGKINK
 ETQOPKLNKNDNDSLFKHLVDNFGKTVGVITLTGLSSFWLVLAKRRKKEEREKQSIKNEHKDIRLSDTKIDPIVITKR
 KIDKEBQIQNDKHSIPVAKHKSKEKQLSEEDIHSPVVKRQNGDNKDTKQKVTSEKKKTPQSTKKVVKTKQLSKK

SEQ ID NO 16 secuencia de polipéptido

MRDKKGFVNRKRVDFLSNKLKYSIRKFTVGTASILIGSLMYLOTQQAEEAEMNIENPTTLKDNVQSKVEVKIEVTVNKDT
 APQGVKASEVTSTNKDTI3HEASVKAEDISKKEDTPKEVANVAEVQPKSSVTHWABAPKVRKARSVDGSDITRDSKNV
 VESTPITTIQKKEPFQYQSDIQKNPTDLGVSEVTRFNV3NESNGLIGALQLKXKIDFSKDFNFKVRVANNNHQSNTTGAD
 GNGFLFSKGNAAEYLTNGGILQDKGLVNSGGFKIDTGYIYTESMDKTEKQAGQGYRGYGAFFVKNDSGNSQMVGENIDKS
 KTNFLNYADNSTNTSDGKFHQQLNDVILTVVASTGKNRAEYAGKTWETSITDLGLSKNQAYNFLTISSSQRNGLNQGINA
 NGWMRTDLKGSFTFTPEAPKTTILEIKKVEEIPFKKERKFNPDLAGPTEKVTREQQKGEKTIITPTLKNPLTGBEISKG
 ESKSEITKDPINELTEYGPETIAPGHRDEFDPKLPTEGEKEEVPKPGIKNPETGDVVRPPVDSVTKYGPFVKGSIVKEKE
 IPFEKERKFNPDLAGPTEKVTREQQKGEKTIITPTLKNPLTGBEISKQESKEEITKDPINELTEYGPETIAPGHRDEFDP
 KLPTEGEKEEVPKPGIKNPETGDVVRPPVDSVTKYGPFVKGSIVKEKEEIPFKKERKFNPDLAGPTEKVTREQQKGEKTIIT

SEQ ID NO 17 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 18 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 19 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 20 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 21 secuencia de polipéptido

MINKQGNLLTKKPIANKSNKYAIRKFTVGTASIVIGATLLFOLGHNEAKAEENSVDQVNDSDNDDSDSDNDQSSDEEK
NDVINNNQSGINTDDNNQIIKKBETNNYDGLKRSRDRTESTTNVDENBATFLQKTPQDNTHLTBEEVKESSVSESSNNSI
DTAQQPSHTTINRZESVQTSNDVSDSHVSPFANSKIKESNTESQKEENTIBQPNKVKEDSTTBQPSGYTNIDKISNODE
LLNLPINEYENKARPLSTTSAQPSIKRVTVNQLAABQGSNVNHLIKVTDQSGITBQYDDSEGVKAKDAENLIYDVTFEVD

SEQ ID NO 22 secuencia de polipeptido

SEQ ID NO 23 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 24 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 25 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 26 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 27 secuencia de polipéptido

SEQ ID NO 28 secuencia de polipeptido

SEQ ID NO 28 secuencia de polipeptido

DSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDS
 DSDSRVTPPNNEQKAPSNPKEVNHNSKVSQKQKTDALPETGDKSENTNATLFGAMMALLGSLLLFRKRKQDHKEKA

SEQ ID NO. 33 secuencia de polipéptido

MKKQIISLGALAVASSLFTWDNKADAIVTKDYSKESRVNEKSKQATVSDYYWKIIDSLEAQFTGAIDLLEDYKYGDPI
 YKEAKDRMLTRVLGEDQYLLKKKIDYELYKKWYKSSNKNTNMLTFHKYNLYNLTMNEYNDIFNSLKDAVYQFNKEVKEI
 EHKNVDLKQFDKQGEDKATKEVYDLVSEIDTLVVTYYAOKDYGEHAKELRAKLDLILGDTDNPHKITNERIKKEMIDDLN
 SIIDDFMETKQNRPNISITKYDPTKHNFKESSENKPNFDKLVEETKKA VKEADBSWKNKTVKKYESTVTKSPVVKEEKV
 EEPQLPKVQNNQEVKTTAGKAERTTQPVAAQLVKIPQETIYGETVKOPEYPTMENKTLQGEIVQGPDLTMEQNRPSLSD
 NYTQPTTFNPILLEGSGSSKLEIKPQGTSTLKGIOGESSDIEVKPOATETTEASQYGP RPQFNKTPKYVKYRDACTGI
 REYNDGTFGYERPRFNKPSSETNAYNVVTINQDGTVSYGARPTQNKPSSETNAYNVTTTHANGQVSYGARPTQKKPSKTNAYN
 VTTHANGQVSYGARPTQKKPSKTWAYNVTTTHANGQVSYGARPTQKKPSSETNAYNVTTTHANGQVSYGARPTQKKPSKTNAYN
 NVTTTHADGTATYGPRTK

SEQ ID NO 67 secuencia de polipéptido

MKSNLRYGIRKHKLGAA SVFLQTMIVVGMQKEKAAAEQNTTVEESGSSATESKASETQTITNNVNT
 IDETQSYSATSTBQPSKSTQVTTTEAPTTVQAPKVFETEMKSOEDLPSEKVADKETTGTQVDIAQPSNVS
 EIKPRMKRSADVTAVSEKEVAEEAKATGTDVTNKVEVTESSLEGHNKDSNIVNPHNAQRVTLKYKWKFG
 EGIKAGDYFDFTLSDNVETHGISTLRKVPEIKS
 STEDKVMANGQVINERTIPYTFDYINNKKDLTAELNLLNLFIDPTTVTKQGSQKVEVTLGQNKVSKFPD
 IKYLDGVKDRMGVTVNGRIDTLNKEEKPSHFAYVKPMNQSLTSVTVTGQVTSQYKQSANNPVTKVYKH
 IQSDDELAE SVYAKLDDTSKFEDVTEKVNLSYTSNGGYTLNLGDLNHSKDYVIKYEGEYDQNAKDLNPRF
 HLSQYHKYYPYYPYYPYYPVQLTWNGVAFYSN
 NAKQDQKDKPNDPIIEKSEPIDLDIKSEPPVKEHETLTGTIEESNDKPIDFEYHTAVEGAEGHABGIE
 TEEDSIHVDFEESTHENS KKHADVVVEEDTNPGGGQVTTESNLVEFDEESTKGIVTGAVSDRTTVEEDT
 KEYTTESNLIELVDELPECHGQAQGVIEEITENNHHISHSGLGTENGHCN YGVIDEIEENSHVDIKSEL
 GYEGGQNSQNSFEEDTERDKPKYEQGGNIVDI
 DFDVSPQIHGQNNQNSPEEDTEEDKPKYEQGGNIIDIDFDSVPQIHGPNKNEIIEEDTNKDKPNYQF
 GGHNSVDPEEDTLPKVSGQNEQQQTIEEDTTPPTPTPEVPSEPETPTPTPEVPSEPGEPPTPKPEVP
 SEPETPVPTPEVPSEPGKPVPPAKEEPKKPSKPVQGGKVVTFVISINEKVKAVAPTQKQSKSELPE
 TGGEESTNKQMLFGGLFSILGLVLLRRNKKNK
 A

SEQ ID NO 68 secuencia de polipéptido

MKFKSLITTTALGVIASTGAFNMTNEASAAKPLDK3SSTLHHGHSHNIQIPYITITVNGTSQNILSSLT
 FNKNQNISYKD
 IENKVKSVLYFNRGISDIDLRLSKQAEYTVHFKNGTKRVIDLKSGIYTADLINTSDIKAISVNVDTKKQ
 PKDKAKANVQV
 PYTITVNGTSQNILSNLT FNKNQNISYKDLEGKVKSVLESNRGITDVLRLSKQAKYTVNFKNGTKKVI
 DLKSGIYTANL
 INSSDIK SININVDTKKH IENKAKRNYQVPYSINLNGTSTNLSNLSFSNKPWNTNYKNLTSQIKSVLKH
 DRGISEQDLKY
 AKKAYTYTVYFKNGGKRILQLNSKNYTANLVHAKDVKRIETVKTGTAKADRYVPYTIAVNGTSTPILS
 KLIKISNKQLIS
 YKVLNDKVKSVLKSERGISDLKPAKQAKYTVYFKNGKKQVNVNLSKSDIFTNLPFAKDIKKIDIDVKQ
 YTKSKKKINKS
 NMVKFPVTINKFENIVSNEFVFYNASKITINDLSIKLSAMANDQGITKHDI GLAERAVYKVYFKNGSS
 KYVDLKT EYKD
 ERVFKATDIKKVDIELKF

SEQ ID NO 69 secuencia de polipéptido

MNNKKTATNRKGMIPNRLNKPSIRKYSVGTASILVGTTLIFOLSGHEAKAAENTNGELNQ
 SKNETTAPSENKTTKKVDSRQLKONTQTATADQPKVTMSDSATVKETSNNMQSPQNATAN
 QSTTKTSNVTNDKSSSTTYSNETDKSNLTQAKDVSTTPKTTTIKPRTLNRMAVNTVAAPQ
 QGTNVNDKVFNSNIDIAIDKQHVNTGTGKTEFWATSSDVLKLANYTIDDSVKEGDTFTF
 KYGQYFRPGSVRLPSQTQNLNAQGNIIAKGIYDSTTNTTYYTFTNYVDQYTNVRGSFEQ
 VAPAKRKVATTDKTAYKMEVTLQNDTYSEEIIVDYGVKKAQPLISSNMIINNEDLSRNM
 AYVNQPKNTYTKQTFVTNL TG YKFNPNKAKNFKIYEVTDONQFVDSFTPTDTSKLDVTDQF

Fig. 2

SEQ ID NO 34 secuencia de polinucleótido

ATGTTACAAGTAACTGATGTGAGTTTACGTTTGGAGATCGTAACTATTGAAGATGTAATATTAATTTACAGAAGG
 TAAATTTATGGATTAAATGGTGGCAATGGTGCAGGTAAATCAACATTCTTAAAAATTTATCTGGTGAATTAGATTCTC
 AAACAGGACATGTTTCATTAGGTAAJAATGAACGTCTACCTGTTTAAAAACAGGACCACTATGCTTATGAAGATGAACGC
 GTGCTTGATGTTGTAAATTAAGGTCAAGAACGTCTTTATGAGGTTATGAAGAAAAACATGAAATCTATATGAAGCCAGA
 TTTCACTGATUAAGATGCTATCCGTGCTGCTGAACITGAAGGTGAATTTGCAGAAATGAAATGGTTGGAATGCTGAAGCTG
 ATGCTGCTAACCTTTTATCTGCTTTAGGTATCGATCCAACCTTTACAGATAAAAAAATGGCTGAATTAGAAACAAACCAA
 AAAATTAAGTATTATTAGCGCAAGTTTATTCGGTGAACAGAGAGTACTATTACTGGATGAGCCTACTAACGGTCTCGA
 TATCCAGCAATCAGTTGGTTAGAAGATTTCTTAATTAACCTTGATAATACTGTTATCTGATGATCGCATGACCGTCATT
 TCTTAAATTAATGATGTACTCATATCGCTGATTTAGACTTCGGTAAAAATTAAGTTTATGTTGGTAACTATCAATTTTGG
 TATCAATCTTAGTCAGTTAGCTCAAAAGATGGCTCAAGAAACAAAACAAAGAAAGAAAGAAATGAAGAGTTACAGGA
 CTTTATTGCAAGCTTTCTAGCTAACGCTTCTAAATCTAAACAAGCAACAGTCTGTAAGAAACAACTTGAGAAAAATGAAT
 TAGAAGATATTAACCATCATCAAGAAAGTATCTTTCTGTTAAATTCACGCTGAGCGTGAAGATTGGTAACGACTTATTA
 ATCGTTCAAAATCTTTCTAAACAATTAACGGCGAAAGATATTAGATAATGTATCATTCAATGAATCCAAATGATAA
 AGCGATTTTAAATGGAGATAGTGAATTTGAAAAACAACTTACTTAAAAATTAAGCTGCGGAAATGGAACAGAGGAAG
 CTTCATTAAATGGGTGTTACTACATCATTAAGTTACTTCCCTAAAGATAACTCAAGATTCTTTGAGCGTGTAAATATG
 AATCTGTTGATTTGGTTAAGACAATATGCTCCTGAAGATGAACAAACAGAAACATTTTACGTGGTTTCTTAAGTCTAT
 GTTATTTAGTGGTGAAGAAATTAAGAAAAAGCTAGTGTGCTTTCAAGTGGAGAAAAAGTACGTTGTATGCTAAGTAAAA
 TGATGTTATCAAGTGGCAATGTACTTTTACTTTGACGAACTACTAACCACTTAGCTTAGAAAGTATTACTGCTGTCAAT
 GATGCTCTTAAATCATTTAAAGGTTCTATCATCTTACTTCTTATGACTTGAATTTATCAACAGGATTGCAACCGTGT
 TATCGATTTAAATAAACAACCGCGGCTTTCAAAAGAAATTCATATGAAGAACTTCAAGAAATCGGCGTTTAAAT
 AA

SEQ ID NO 35 secuencia de polinucleótido

ATGTTACAAGTAACTGATGTAGTTTACGTTTGGTATCGTAACTATTGAAGATGTAATATTAATTTACAGAAGG
 TAAATGTTATGGATTAAATGGTGGCAATGGTGCAGGTAAATCAACATTCTTGAAGATTTTATCAGGCGAAATTTGATTAC
 AGACTGGTCTATGATCTCTAGGTAAAGATGAGCGTTTGGCTGTGTTAAACAGAGTCAATTTGCTTATGAAGATGAACGT
 GTTTTAGATGTTGTGATTAAAGGACATGAACGTTTGTATCAAGTGAATGAAGAGAAAGATGAATTTATATGAAGCTGA
 TTTCAAGATGAAGGCGGTATTCGCGCTGCAAGAACTTGAAGGAGAAATTTGCAGAAATGAACGTTTGAATGCTGAAGCTG
 ATGCTGCTAACTTATTATCAGGATTTAGGCATAGAACCTTACTTACATGATAAAAATATGTTCTGAACCTGAAATATTAACA
 AAGTTAAAGTATGTTAGCTCAAAAGTTTATTTGGTATCTGACGTTCTTTTACTAGATGAGCCTACCAATGGTTTGA
 TATACAGCAATAAGTTGTTAGAGAGCTTTTAAATTAATTTGAAATACTGTCATTGTCGTTTTCATGATGACCGTCACT
 TCTTAAATTAATGTTTGTACTCATATTGCTGATTTAGACTTTTGGCAAAATTAACCTTTATGTTGGTAACTATGATTTTGG
 TATCAATCAAGTCAATTAGCACAAAAATGGCACAGAAACAAATGAAGAAAGAAAGAAATGAAGAGTTTACAGGA
 TTTCACTGGCAGCTCTCAGCAAAATGCTTCTAAATCTAAACAGGCAACAGTCTGAAGAAACAAATGAAGAAAAATGAAT
 TAGATGATATCCAACCATCATCTCTAGATACCTTACCTGAATTTACTCTGAACTGAAATTTGAATGATTTTACTT
 ACAGTACAAAAATCTTCTAAACAATTTGACGGCGAAAGTACTAGAACATGTTTCAATCACTATGAATCTTAATGATAA
 AGCTATTTAGTTGGTGATAGCGAAATTTGCTAAACAACATTTGTTAAAAATTTAGCTGAGAAATGCAACAGATGAAG
 GTACATTTAAATGGGGTGTAACGACATCTTTAAGTTACTTCCCTAAAGATAACTCTGAGTTCTTTGATGGTGTGATATG
 AATTTAGTTGAATGCTTACGTCAATACGCTCCAGAAAGTGAACAACTGAACATTTTACGTGGTTCTTTAGGTGCGAT
 GTTATTTAGTGGTGAGGAAGTTAAGAAAAAGCAAGCGTCTTTCAAGTGGAGAAAGTACGTTGCGATGTTAAGTAAAA
 TGATGTTATCAAGTGTCAACGTACTTTTACTTGAATGAGCCAAACAAACATTTAGATTGGAAGTATCACTGCTGTAAAT
 GACGGATTAATCATTTAAAGTTCTATCATCTTCACTTCTTATGATTTTGAATTTATTAATACAAATCGCAATCGAGT
 GATTGACTTGAATCAAGCTGCTGCCCTTTCTAAGAGTACCTTATGAGAAATCTTACAAGAAATGGTGTATTACAAA
 ATAATTAA

SEQ ID NO 36 secuencia de polinucleótido

ATGCCAATTATTACAGATGTTTACGCTCGCAAGTCTTAGACTCTCGTGGTAACCCAACTGTTGAAGTGAAGTATTAC
 TGAAGTGGCGCATTTGCTCTGTCATTAGTACCATCAGGTGCTTCACTGGTGAACAGGAGCTGTTGAATTACGTGATG
 GAGACAAATCAGCTTATTTAGCTAAAGGTGTTACTAAAGCAGTTGAAACGTTAATGAAAATCATCGCACCAAGAAATATT
 GAAGGTGAAATTTTCAAGTATTAGATCAAGTATCTATTGATAAAATGATGATCGCAATGAACGGTACTCCAAACAAAGGTAA
 ATTAGGTGCAAAATGCTATTTTACGTCTATCTATCGCAGTAGCACGTCAGCAGCTGACTTATAGGTCAACCACTTTACA
 AATATTTAGGTGCTATTAATGTTAAGCAGTTACCAGTACCAATGATGAACATCGTTAATGGTGGTCTCACTCAUATGCT
 CCAATTCATTTCAAGAAATCATGATTTTACCTGTAGGTCTTACAACGTTTCAAGAAATCATTTAGCTGGGTACTGAAAT
 TTTCCACAACTTAAATTCATTTTAAAGCAACGTGGTTTAGAACTGCAGTAGGTGACGAAGGTGGTTTGGCTCTTAAAT
 TTGAAGTACTGAAGATGCTGTTGAACAATATCCAAGCAATCGAAGCAGCTGTTTACAACCAAGGTGAAGAGTATTC

TTAGGATTGACTGTGTCATCATCAGAATTCTATGAAAAATGGTGTATATGACTACAGTAAGTTCCGAGGCGAACACCGGTGC
 AAAACGTACAGCTGCAGAACAGTTGACTACTTAGAACAAATTAGTAGACAAATATCCTATCATTTACAAATGUAAGACGGTA
 TGGACGAAAAACUACTGGGATGGTTGGAAAACTTTACAGAACGTATCGGTGACCGGTGACAAATTAGTAGGTGACGATTTA
 TTCGTAAACAAACACTGAAAAATTTAGCAAAAGGTATTGAAAAACGGAAATTGGTAACCTCAATCTTAATTAAAGTTAACCAAAAT
 CGGTACATTAACGTAAACATTTGATGCAATCGAAATCGCTCAAAAAGCTGGTTACACAGCAGTAGTTTCTCACCCTTCAG
 GTGAAACAGAGATACAAATTCGTGATATTGCTGTTGCTACAAACGCTGGTCAAAATTAACCTGGTTTATTATCACGT
 ACTGACCGTATTGCTAAATACAAATCAATTTATTACGTATCGAAGATGAATTTATTGAACTGCTAAATATGACGGTATCAA
 ATCATTTCTATAACTTAGATAAATAA

SEQ ID NO 37 secuencia de polinucleótido

ATGCCAATTATACAGATGTTTACGCTCGCGAAGTCTTAGACTCACGTGTTAAACCAACAGTTGAAAGTTGAAGTATTAAC
 TGAAGCGGTGCTTTTCGACGTGCATTAGTACCTTCCTGGTCTTCTACTGGTGAACATGAAGCAGTTCAATTACGTGATC
 GAGATAAATCACGTTATTTAGGTAAAGGTGTGACTAAAGCGGTAGAAAAATGTTAACGAAATGATCGCACCCAGAAATCGT
 GAAGGTGAATTTTCAATTTTACATCAAGTATCTATTGATAAAATGATGATTCAATTAGACGGTACACACAACAAAGGTAA
 ATTAGCTGCAAAATGCCATTTTAGGTGTTCCTATTCGCGTACCTCGTGCAGCTGCTCACTTATTAGGTCAACCATTTATATA
 AATATTTAGGTGGATTTAATGGTAAACAAATGCCAGTACCTATGATGAAATATTTGTTAATGGTGGTTCTCACTCAGATGCA
 CCAATTTGCTTTTCCAAGAGTTTCATGATTTTACCTGTAGGTGCTGAGTCAATTCAAAAGAAATCATTACGTTGGGGTTTCAGAAAT
 CTTCCATAACCTTAAATCAATCTTAAGTGAACGTGGTTAGAAACTGCAGTAGGTGATGAAGGTGGTTTCGCTCTACAT
 TTGAAGGCACCTGAAGACCGCTGTAGAACTATTAATTAAAGCTATCGAAAAAGCAGGATACAAACCGGTGAAGATGTATTTC
 TTAGGATTTGACTGTGCTTCCTGAAATTTCTAAGAAATGGTGTATTGATTACACTAAATTCGAAGGTGAACACCGGTG
 TAAACCTAGTGCAGCAGACCAAGTTGACTACTTAGAAGAAATTAATTGGTAAATATCCAATCATCACTATTGAAGATGGTA
 TGCATCAAAACCAATTTGGAAAGGTGGAAACAAATTAAGTGAATGCTATCGGTGATGAAGTTCAATTAGTTGGTGAATGATTTA
 TTCGTAACTAACACTGAAATTTTATCTAAAGGTATCGAACAGGTATTGGTAACCTCAATCTTAATCAAAGTAAACCAAT
 CGGTACATTAAGTGAATCAATTCGATGCTATTGAAATGGCTCAAAAAGCTGGATATCTGCGGTGTATCTCACCCTTCG
 GTGAAACTGAAGATACAAATTCGTGATATCGCAGTTGCTACAAATGCAGGCCAAATTAACACAGGTTCATTATCTAGA
 ACTGACCGTATTGCTAAATACAAATCAATTTATTACGTATTGAAGATGAATTATACGAAACAGCTAAATTTGAAGGAATTAA
 A?CTTCTACAAATTTAGATAAATAA

SEQ ID NO 38 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAAATCGTTACAGCTACAAATGCTACAGCAGGACTTGCCACTATCGCATTTGCAAGACATCATGCACAAGCCGC
 AGAACAAAAAACAATGGATAAATCTAATGACGCTCAATCATACAGCTATAGCTATACAATTTGATGCACAAGGTAATT
 ATCATTACACTTGGACAGGAAATGGAAATCCAAGTCAATTAACGCAAAACAACACATACCTACTACAACAACCTACATACT
 TATAGTTATAACAATGCATCTTACAATACTACTATATTCATTATCATATCAATACAACTATACAAACATAGCCAAAC
 AGCAACAATAAATTAATTAATCTGGTGGTTCAAGTGCAAGTTATAGCACACAAGTAATAATGTTTCATGTGACTACAACCTG
 CAGCGCCATCTTCAAATGGTGGTTCATTTCTAATGGTTATGATCAGGAAAGTAACCTATATACCTCAGGCAATGTGACT
 TATTATGTTATTTGATCCTGTTGGTGGGAAATGGTTCAACATGGGGTAACGCAAGTAATGGGGTAACGCAAGTGCATC
 ATCTGGCTATACAGTGAACAAACACCAAAAGTTGGTGTCTATCATGCAAAACAACACAAGGCTATTACCGTCATGTTGCTT
 ACGTTGAAGCGCTTAACAGCAACGGTTCTGTTGCTGTTTCAGAAATGAATATGGACATGGTGTGCTGGTGGTTACGCTCT
 CGTACAATTTCAAGCAACCAAGCAGGTTTCATATAATTTCAATTCATTAA

SEQ ID NO 39 secuencia de polinucleótido

ATGAAGAAATCGCTACAGCTACTATCGCAACTCCAGGATTCGCTACAATCGCAATTGCAATCAGGAAATCAAGCTCATGC
 TCTGAGCAAGATAACTAGGTTATAATCCAACCAACCAACATCATATAGCTATACCTTACACTATTGATGCACAAGGTA
 ACTACCAATTACACATGGAAGGTAACCTGGCATCCAAGTCAATTAACCAAGATAATGGCTACTACAGCTATTACTACTAC
 ATGGCTACATTAACCTACAACAATTAACAATGGTTATAGCTACAATAATTACAGCCGTTACAACAACCTACTCAATAA
 TAATCAAATCATATAACTACAATACTATAATAGTTACAACACAACAGCTACCGTACTGGTGGTTAGGTGCAAGCTACA
 GCACCTTCAAGCAACATGTTCAAGTAACTACAACCTATGCTTCATCATCAATGGCCGTTCAATCTCAAAGTGGTTATACT
 TCAGGACGTAACTATACACTCTGCTCAAGTACATCTACTAGTATTGATCGTGTAGGTGGTAAATCGGTTCAACTTG
 GGGCAATGCAAGTAACCTGGCTAACGCAAGCTGCAAGAGCTGCTACACAGTGAACAATACACCAAAAGCTGGTGAATTA
 TGCAAAACAACTCAAGGTGCATACGGTCAAGTTGCATACGTTGAAAGTGTAAACAGCAATGGTTCAAGTAAAGTTTCAGAA
 ATGAACATATGTTATGGCCAGGTGTTGTAATCTTCAAGTACAATCTCAGCTAGCCAAGCTGCTGGTTATAACTTCATTCA
 CTAA

SEQ ID NO 40 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAAATCGCTACAGCTACAATTCGCAACTGCAAGAAATCGCTACTTTGCAATTTGCACACCATGACGCACAAGCAGC
 AGAACAAATAATGATGGGTACAATCAAAACGACCTTATTCATATAGCTACACTTACACAATCGATGCTGAAGGTAACT
 ACCACTACACTTGGAAAGGTAACTGGAGTCCAGATCGTGTAAATACCTTCATATAACTATAAATTAATAAATACTACAAC
 TACTATGGTTACAATAACTATAGCAACTACAATAACTACAGTAATTAACAATTAACAACATATCAATCAAAACACAC
 GCAATCACAAAGAACAACTCAACCGACTGGTGGTTTAGGCTCAAGCTATTCAACATCAAGTAGTAATGTTCAAGTTACAA

CAACTTCTCCGCCATCATCAAAACGGTGTATCTTTATCAAACGGTCGCTCAGCATCTGGTAACCTTATACACTTCAGGTCAA
TGTACATATTATGTATTTGACAGAGTAGGTGGCAAAATCGGTTCAACGTGGGGTAACGCAAAACAACTGGGCAACCGCTCC
AGCACGTCTCGTTACACAGTAACAATTCGGCTGCTAAACGGTGCATCTTACAAACGTCAAAAGTGCATACGGACAGG
TAGCATACGTTGAAGCTGTAAACAGCAATGGTTCAATCAGAGTTTCAGAAATGAACTACGGTCACCGTGCAGGTGTTGTG
ACTTCACGTACAACTCTCTCGGAGCCAAGCTGCTTCATATAACTATATTCACTAA

SEQ ID NO 41 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTACTACTCTAGTTGCTGCATGTGGTACTGGTGGTAAACAAAGCAATGA
TAAGTCAAATGGCAATTAAGAGTAGTAACGACGAATCAATTTATATGATATGGCTAAAAATGTTCGGTGGAGACAACG
TCGATATTCATAGTATGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTTAAACCTAAAGATACTAAAAAGTTAACT
CAGCGTGCAGCTTATTTATACAACGGATTAAATTTAGAGACTGGTAACGGTTTGTTCGAAAAAGCCTTAGAACAGGGCTGG
TAAATCATTAAGAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCTATCTATTTAAACGGTGAAGAAAGCAACA
AAGAATAACAAGATCCACACCGCATGGTTAAGTTAGAAATGGTATTAATACCTAAAAACAATTCACCAACATATATC
GATAACGACAAAAAACAATAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAAACAAATACATTCGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGA
CAGTAAGACAAATTTAATGACATTCACAAAGAACACGGTCCCATGATTACAAAGTGAAGGTGCTTCAGTACTTCTCAA
AACAATACGGTATTACACCAAGCTTATATTTGGGAAATTAACACTGAAAAACAAGGTACACCTGAACAAATGACACAAAGCT
ATTGAGTTTGTAAAGGACAAATTAACAACACTTATTAGTAGAAAAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAAGTTTATC
TGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATTCAATCGGTAAAGCAAGGCACTAAACGTGACTCTTACT
ACAAATGATCAATCAATATTAAGAACTGTACACCGAAGCATGAATAA

SEQ ID NO 42 secuencia de polinucleótido

GTGAAAAAATTCTCGCTTTAGCAATAGCATTTTAAATTATCTTGGCCCATGTGGGAATCACAGTAACCATGAACATCA
CTCACAIGAAGGAAAAATTAAGTTGTAACTACAAACTCTATTCTCTATGACATGGTTAAACGGTTCGGTGGAAATTAAGG
TCGATGTTATAGCATCGTTCCAGTAGGACAAGACCCACATGAATATGAGGTTAAACCTAAAGATATTAAAGCATTAAACA
GATGCTGACGTTGTATTTATAACGGTTAAACCTTAGAACTGGAAATGGTTCGTTTGAAAAAGCACTTGACCAACCCAGG
AAATCAACAAAGATAAAAAATGTATAGCAGCATCAATTAATGTTAAACCAATATACTTAAATGGTGAAGGAGGTAAACA
AAACAAACAAAGATCCACATGCATGGTTAAGTTTAGAGAAATGGAAATTAATACGTAAAAACAATACAAAAATCACTAGAA
CATCATGATAAAAAAGATAAGTCTACATATGAAAAACAAGGAATGCATATATATCAAAATTAGAAAGAACTTAATAAGGA
TAOTAAAAATTAATTTGATGACATACCCALAAATCAACGTGCCATGATGACAAGTGAAGGTGCCATTAAATATTTGCTC
AACAAATTCGATCTTAAACAGGTTATATTTGGGAGATAAACACAGAAAAACAAGGTACACCTGGTCAATTAACCAAGCC
ATTAAATTTGTTAAAGATAATCAATTAACAATTTATTTAGTGGAAACAGGTAGATAAAAAAGCTATGCAAAATGTTTATC
AGAAGAACTAAGAAAGATATTATGGTGAAGTATTTACCGACTCTATAGGTAAGGAAGGTACTAAAGGTGACTCATACT
ATAAAATGATGAATCTAATATTGATACAAATACATGGTAGTATGAATAA

SEQ ID NO 43 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAAGACAAATTAAGCATCATCTTAACAGTGGCAATTAGGTGTAAACAGGTTACCCAGCAGGTACAGGACATCAAGC
ACACGCTGCTGAAGTAAACGTTGATCAAGCACACTTAGTTGACTTAGCGCATAAACCAAGATCAATTAATGACGCTC
CAATCAAGATAGGTGCATATGACATCCACTTTGTAAAGATGGTTTCCAATATACTTTACTTCAATGGTACTACATGG
TCATGAGCTATGAAGCAGCTAATGOTCAAACCTGCTGGTTCTCAAACGTTGCAGGTGCAGACTACACTACTTCATACAA
CCAGGTTICAGATGTACAAACAGTAAGCTACAATGCACAAATCAAGTAACCAACGTTGAAGCTGTTTCAGCTCCAACCT
ACCAAACTACAGCACTTCACTACTTCAAGTTCACTGAGATTAAAGCAATGGTAATACTGCAGGTGCTACTGGTTTCATCA
GCACTCAAACTCATGCTCAAGCTACTGCTGTTTCAGCTTCTACATGGGCTGCATCATCGCTCGTGAATCAATGGTCA
AGTAATGCTTACAAACCATCAGGTGCTTCAGGTTTATTCCAAACCTATGCAGGTTGGGGTCCGACAAACACTGTTGACC
AACAAATCAACGCAGCTGTTAAAGCATACAAAGCACAGGTTTAACTGCTTGGGATTTCTAA

SEQ ID NO 44 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAAACAGTTATCGCTTCTACATTAGCAGTATCTTTAGGAATTCCAGGTTACGGTTTATCAGGCATGAAGCACA
CGCTTCAGAAACTACAAACGTTGATTAAGCACACTTAGTATAGTTAGCACAACAATACTCTGAAGAAATTAATGCTAAAC
CAGTTCAAGCTGGTCTTACCATATTCAATTCGTAGACAAATGCAATACCAACTTCACTTCAATGGTTCTGAATGG
TCACTGAAGCTACGCTGTAGCTGGTTCAGATGCTGATTACACAAATCATCATCAAAACCAAGAAAGTAAAGTCAAAATACACA
ATCTAGTAACACAAATGTACAAGCTGTTTCAGCTCCAACCTTCTCAGAAAGTGGTAGCTACAGCACATCACTACTTCAAT
ACTCAGCACCAAGCCATAACTACAGCTCTCAGTAGTTCAGTAAGATTATCAAAATGGTAATACTGCTGGTTCTGTAGGT
TCATATGCTGCTCAAAATGCTGCACGTAAGTGTATCTGCTTCAACATGGGAACACATCATTTGCTAGAGAAATCAAA
TGGTCAATTAACATGACGTAATGCTTCAGGTGCTGCTGGATTATCCAAACTATGCCAGGTTGGGTTCAACTGGTTTCAG
TAAATGATCAAAATCAATGCGCTTATAAGCATATAAAGCACAAAGGTTTATCTGCTTGGGATGTAA

SEQ ID NO 45 secuencia de polinucleótido

GTGAATTATCGTGATAAAATTCAAAGTTTAGTATTCGTAATATACAGTTGGTACATTTTCAACTGTCATTGCGACATG
GGTATTTTAGGATTCAATACATCAAGCACATGCTGCTGAACAAATCAACCAGCAAGCGTGGTTAAACAGAAACAAAC

AAAGTAATAATGAACAQACTGAGAAATCGAGAATCTCAAGTACAAAATTCCTCAAAATTCACAAAATAGTCAATCATTATCC
 CCTACTCATGAAAATGAGCAACCAAAATAGTCAAGCTAAATTTAGTAAATCAAAAAGTAGCGCAATCACTACTACTMA
 TGATGAACAAACAGCATCTCAAAATGTAATAACAAAGAAAGATCGGCAACGGTTCGACACACAAACAGATAAAGAA
 AAGTAAGCATAAACAAAAAGAAAGTCAATCTGCTAATAAAATGGAAACCAACATAGAGCGGCTCATGTAGAAAATCAT
 GAAGCAAAATGTAATACAGCTTCAGATTCACTGTATAATGTTAACGTACAACATGACCGAAATGAATTACAAGCATTITT
 TGATGCANAATTATCATGATTATCOCTTTATTCACCGTGAAAATGCAGATTCTGCGACATTAACTATGTAAAAGGCATT
 TTGACAAQTAAATACTTTATTAGGCAQTAAATGATCCAAATTAACAAATAAGACTTGCACCTTGCAACAGAAATTCAAACGCGTTCTGT
 CAAGCTGTGCTTTAATTCGTACAAATGCTTCAACGTCAACAAACTAGCCGTGATCAAAACAGAAATTCAAACGCGTTCTGT
 TGAGTCTAGAGCTGCAGAGCTTAGATCAGTATCAGACTATCAAAATGCAAAATTCATCATATTATGTTGAAAATGCTAATG
 ATGTTTCAGGATATCTGTAGATACATATATCAATGCTTCTAGTAAAGGGGCGCCATATAATTTACCAACTACACCATGG
 AATACATTGAAGGCGCTCTGACTCAAAAGGAAATGCTCTTATGACAGCGAAACAACTGGAGATGCTACCAATGCTTAT
 TAAGTTAATAAAGGACATGCTCCACATCAAAATATGATTITCTGGTTTTCATTACCAGCAGACCAAGTCCAGTAGGAA
 GAACGTACTTTGTAAAGTTAATTCAGATGAAACAAATGTACAATGGAGTCAATGGAGCAAGAGCAGGTGCAAAATAAACA
 CTTCAACAAATGTGGGAATATGGAATGAATGATCCGTATGCTTCAATGACTTTAAATTAAGAAATAGAAGTGGCCAAAT
 AATATATAGCTGCGCAACTGTCCATGTTTATCTTTAGAAAGATTATCTAGAGCGAGTGAATTATTTAOTGAAGCTGGAG
 CGACACCTGCTACTAAAGCAATTTGGTAGACAAATTTTGAATATATTAATGGTCAAAACCTGCTGAATCACCGGTGTT
 CCTAAAGTTTATATCTTCATCGGTCAAGGTGATGCAAGTTATACAAATTCATTTAAACACAAGGTCCAACTGTAAATAA
 ATTGTATTATGCAAGCGGTGCGCGTCTTTAGAGTACAATCAATTTATTTATGTACAGTCAACTATACCTCGAATCAACGC
 AAGACCATCAACACGCTCTTAATGTTTAAAGCAAGTGGTTAATCGTACATATGCAATAGGTACAACTCAAACTGTGATG
 GTGAATCAAGGAAATGTACAAACGAAAGGTTATAGAAATACAAACCTAAATATAGATGATTTTGTGTGATGCTCTTT
 AAGTTATGTTAAGACCGCGAGTAATAAGTGTAGGTTTTACCCAACTAATGCAAAATCTAACCGCTTTAGACCGGGG
 GCGTTCAAGAAATTAATGAATATCAATTAAGTCAATTTACTGATCAAAATTAAGAAGCAGCAAGAACTAGAAAC
 CCAATAGATTAATGATTTGGTTTCGACTATCTGTAGTTTATGTAATAGTGAAGCTTTAGTTCTGTTAATACCGT
 ATTACCTGAAATCCAAACATAATATTAATTTCTTTAAATTAAGTAATCACTCAAAATATTGCTGAAAACCAATTTCAAAAC
 AAGCTGGGCATCCAGTTTCTATGTATATGCAAGTAACCAAGGAAATGCTTCCGTGAATTTAGGTGGTAGCGTAAACATCT
 ATTCACCACTTACGTATTAATTAACAAATTAATGAAATTTACAGATAAAGATTTGGCAAAATACAGGTATTCCGCTAC
 ATTACACATTGAAAGCTGACAAATAGAACTAATAAGTCTAGAGAACGTAAACATTGAAGCTTTGTTGTAATTTATACAG
 GGCATTACTTTGGTAGATACGTTTGGAGCTAAAGAACTAATTTGAAATTCGTGTTAAACCATACACCAACAAAT
 ACAACGACAGCTGAGCAATTAAGAGGTACAGCATTACAAAGTGCCTGTTAATATTTCCGGAAATACCGTTGGATCCAT
 GGCATTTGTTTATTTAGTTGACCAACAAATCAAACTACGATGTTGTTAGTGAAGCAAGTCAAAATACCATCTGGTATA
 CGTACTTGGGACTGGTACAGCTGATGGGTGATTAATAGTAACTATATAGCAGCGCAAGATTAAGTTATTCATACCA
 CCGTAGGTAAACAAATAGAGCAAGTAGTTTATTAATAAAGTAGTTGCACTAATATGAGTAATGCTGTTACTATTTT
 CCCAGATGACATTCACCAATTAATCAATAATCTGTTGGAATAAATGCCAAATACTATCGAGGCAAGTCAAACTTTA
 CAATGGAGTCTCTGTATAGACATTTCTGTTATAAAAAATCAACTATTACTACTTTGCCAAGTGGTGCACATCAAAATTA
 ACTAAATCCGACAAACAAACCGCTCATTAGCTATTACAGTAGAGTCTCTATGAATCAGGCATTTACAGTGAATATAC
 ATTTAAAGTATCAAGGACAGCAATGTCAATTAACGACAAATGATAGTCAATCTAAACATGTTCAATTCATGTAGGTA
 AAATTAGTGAAGATGCTCATCGATTGATTAAGGAAATACTCAGAAAGTTGTAGTAGTCAATCCGACTGCTGTATCTAAT
 GATGAAAGCAAGCATAATTAAGTGCCTTTATGAATAAAGCAAAATATAAGAGATATTTAGCATCAACTGATCCAGT
 AACTGTCGATTAATAAGTAAAGTCAATACATTACCGTATGCGTCTCAACAAACGCTTGAATGCTCAAAATGTAGTA
 CATCGAACCAAGTTGTGAATCTGAATATCAAACTGCCAATGCTGCTAAACAGCAACGGTAAACGATTGCTAAAGGACAA
 TCATTTAATATTTGGTGAATTAACCAATATTTACTTTAAGTAATGCAAGCTATTCCAAATGCGACATTTACAAATAT
 TACATCTGATAGAACTATTCCAACTGCAAGAAAGTTAATCAATGAATGCAAGTACGCAATTTATATCATATAGTTGCTT
 CAAATGCTATCATAAAGACACTGAAAGATTCTATATTAGTTTAAAAATCGTTGATGTGAACCAACCTGAAAGCGATCAA
 CGTGTCTATCTGATGCTCAACTATGATTTAACCACTGATGAATCTCAAAAGTAAACAAAGCTTTTATTAAAGCAATAG
 AGATGTAATACGCTTGGCGAAGGTGATTTTCAAGTACAAATACACCTAATGTTGCTAATGTAAGTACTATTACAGTAA
 ATATTAAATAAGGTGATTAAGCAATCATTCGCGTCTAAGCTAGCTAATATGAATTTCTTGGCTTGGGTTAATTTCCCA
 CAAGATTATACAGTGACATGAGCAATGCAAAATGCAAAACAGCAACACAGATGTTGTTTATCATGCTCGATGACCA
 TAAATCTTTAATTTATCGTTATGATGCTACATTAGGCACACAAATTACAACATATGATATTTTAACGATGCTAAAGCGGA
 CTACTACAGTGCCTGATTTGCTAATATATTAAGTGTATGAAAAAGCACAAGCAGAAAGCAGGTGGAAGACCAAACTAT
 AGAACAACTGGTTATTCACAATCAAAATGCGACAACTGATGTTCAAGTCAATTTACGTTGAATGGTCAAGTGAATCAAT
 ATTAGACATCATCAACCTTCAAAAGGTTATGGTGGGCAACCTGTTACAAATTAATACTCGTGCAAAACCATAGTAACT
 CAACTGTTTAAAGGTAACGAAACCGGAGCTAATGGTGTGCGGCAATTTACAATGACCAAGTTGTAAGAAAGTAATCT
 ACACATAATGCAAGTGAATGCAATTTAAGGCGCAGTTATACTTAACGCCATATGTTCCAAACAAATATGTTGAACATTT
 AAATCAAAATACAGGAAATCACTAGCAGCTATTACATTTATTTGATACCAAGTGAATAGTGAATCCAAACATTTGAG
 TAGGTAAATTACACTAATCATCAAGTGTCTCAGGTGAACATTTACAAATACGATTAACAGCGAATGATAACTTTGGTGTG
 CAACTGGTAACTGTACCAATACATCAAAATACAGGTACTGTTGATAATAACCATCAACATGTTTCTCAACCGGCAAC
 AAATGTGACATCAUCAACTAGTAAGACAATCAATTTATTAGCAACTGATACAGTGTAAATACAGCTACAACTTCATTC
 ATGTAACAGTGAAACCTTTGCTGATATAATGCAAGTGTGATCTCATCAACGCGTCTAACTCTGTTAGAAATGCAAT
 ATTCGAAATAATGCGACAGTATCAAAAGTGAACGCAATTAATTAATTCGTTAAGCTTTACAGTAAATGCAACAA
 TAGAACTATGCAACAGCAACGCAATGAATCACTAGTAAACAGTTAGTAATGTCAGTGTACTGGAATATGCA
 ATGTCACAGTAAGTGTACTCATCAAGATGGAACCAATCAACAGTACTGTACTGTAAAGCATGTCATTCAGAAATC

GTTGCACATTCCGATTACACTGTACAAAGCCAAAGACTTCCAGCAAGTAATGGTTCTAGTUCAGCAGATTACTTTAAOTT
 ATCTAATGGTAGTGCCATTCCAGATGCCAAGATTACATGGGTAAAGTGGACAAGCGCCAAATAAGATAATACACGATTG
 GTGAAGATATACAGTAACCTGCACATATCTTAATTGATGGCGAAACACCGCGATTACGAAAACACCAATATATAAOTA
 GTAAGAACGTGACGAAACATGTCTTTGAAACAGCCAGAGTGTATATACCCAGGTGTTTTCAGATATGTATGATGCGAA
 ACAATATGTAAAGCCAGTAAATAATTCTTGGTCGACAAATGGCAACATATGAATTTTCAATTTGTTGGAACATATGGTC
 CTAACAAAGATGTGTAGGTATATCAACGCGTCTTATTAGAGTGACTTATGATAATAGACAAACGGAAGATTAACTATT
 TTATCTAAAGTTAAACCTGACCCACCAAGAAATTGACGCAAACTCTGTGACATATAAAGCAGGTCTTACAAACCAAGAAAT
 TAAAGTTAATAACGTATTAAATAACTCGTCAOTAAAAATTATTTAAAGCAGATAATAACACCTTAAATGTCACAAATATTA
 CTCATGGTAGTGGTTTASGTTGGTGTGACAGTAAGTGACGCGTTACCAATGGCGGAATTAAAGCAAAATCTTCAATT
 TCAATGAACAATGTGACGTATACGACGCAAGACGAACATGGTCAAGTTGTTACAGTAACAAGAAATGAATCTGTTGATT
 AAATGATAGTGCTTCTGTTACAGTAACACCACTTACAAGCAACTACTGAAGGCGCTGTATTATTAAAGGTGGCGACG
 GTTTTGATTTCCGTCATGTAGAAGGATTATTCAAAATCCGCCACATGCGGCAACGCTGCGATGGCATGATAGTCCAGAT
 ACATGGAAGAAATACAGTCGCGCAACACATATAAACTGGCGTTGTAACATTACCTAGTGGTCAAGGTACCGTAATGTTGA
 AGTTCCAGTCAAACTTTATCCAGTTGCTAACTGCTAAAGCGCCATCAGTGATGTGAAGGTCAAAATTTGACACATGOTA
 CAAAGCGTATTGATTACATTACATTTGATCCAAATACTAAACGAATGCTATTACAGCAATGCGCAAAATGACAAACAA
 CCAAAATAAGCAGCAAGCAGCGGTTCAACATTTAAATGTGATGTACATATCCAGGTATTTGAGCTGCTAAACGAGTTCC
 TGTAACTGTGAACGTATATCAATTTGAATTCCTCAAGTACTTATACAAACACAGTTGGTGGCACTTTAGCAAGTGGTA
 CCGAAGCATCAGGATATGCACATATGCAAAACGCTTCAAGTTTACCAACAGATGGAATTTACGTATAAATGGAATCGTGAT
 ACTACGGGTACAAACGATGCAAACTGGGCAAGCAATGAATAAACCCTTACTGACAAAGTCTTAAACGATGATGATGT
 CATGTATAATGGAACATACATTTGCAACATCTTTACCAAGCAATTTGATGTAAGAGATGTTCAACGCAAGCAAACTG
 TCACTGAAACAGCGCGCAAGGAGGATTACAAATGGCACCCTGGTGGCAACCAACAGTCAATACTCATGCTGATGATGATG
 ACATATGCTGACAAATTAATTTAAACGTAATGGAATGTTGTAACGACATTTACAGGTGTAATTAATACGAGCCCATG
 GGTGAAGAACCATCAGCAGATAATGTAACAGGTATTGTTGAACTAAATGTTGATTTACTGTGGCAGCAGGTACTTTCA
 ATCTGTGATGACAAATTCAGTTGTTGCAACACAGGTAGTGGCGAAACAACTCAGTGACGACAGTATGATGATGATTTCA
 ACAGTTGTGTCACACACACGCAAGCAAGGACTACGAAATTTGGCAAAATGTTGATATTGATATCAGCGCTAATAATCC
 ATCAGGACATTTAATTAATCCAACCAAGCAATGATATTGCTTACACTCAAAATGTTGGTAAATGTTGCAAGACATAGTA
 AGACAAATTAATGTTGTTGCTGCTCAAAATTAATCAATGCAATGCGAATAAGCCTGACTATGTAACGTTAGATGACAA
 ACTGTAAAGTACGTTCAATGCTCAATACTATAAAACCAATTTCAATCACAATTTACTCCGAAAGCAGGTACAGGTCA
 CTCAGTAAGTATGTAATCCAGTACATTAATGCAACCGGCGAGCTCATATGTCACACAACTGAAATTTGTAAGAGATTATG
 GTTCAAAATGTAACAGCAGCTGAAATTAACAATGCAATTTCAAGTTGCTAATAAAGGTACTGCAACGATTAAAAATGCGACA
 GCAATGCTTACTAATTTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGATTTCTGAACTAAATGTTGATTTACTGTGAGTATGATGATG
 AOTACAAGAGTCCATTTTTCACAAAGCGGATAAAGCTGAGTTAATCAGAGCTAAAAATCAATTTAGATGATCCAGTAAGCA
 CTGAAGGTAAAAACCCAGGTACAAATTAAGCAGTACAAATATGCAATGCAATGCGCAACCAACAAATCAATACCGGAA
 ACAGAGCACAACCAAGTGAATTAATGAGCGTGAACACCAACCAAGTTTCTGACGCACTAACTAAAGTTGTTGCGCAGC
 ACAAACTAAGATTGATCAAGCTAAGCAATTTACTTCAAAATGAAGAAAGATAATAGCCAAATTAAGTAAAGTATGATGAT
 TACAAGATTCTGTGAACCAAGTACCATCAACCTGCTGTTATGACGCAACAAAGTATTGATAACTATAATGCGAAGAGCGT
 GAAGCAGAACTGAAATTAATGCACTCAACGTTGTTATGACAAATGCGGATGCAACTGCAACCAAAATTTACATGAAAA
 ACATCGTGTCCATTAACGCAATTAACACCATTAACCAAGCGAAACATGATTAACTGCGATACACATGCTTTAGAGCAAG
 CAGTGCAACCAATTTGAACTGACAGGTACCAACGACTGTTAAGCAAGCGCGCAAGTATTACTGCTTACAACTAGTATGAT
 GCATTTCAAAATGACTTAACAAAGTCTAAAAATAGCGCTAATGCTATCATTACAGAGCAATTAAGAACAGTGCAGAGGT
 ACAATCTGCTTAACAAATGTAATGCTGCTCAATGAGCGATTACGCAAGCAATTAATCAATTAGTACCTTTAGCTGATA
 ATAGTCTTTAAGAACTGCTAAGACGAACTTGAAGAAGAAATCAATAAATCAGTAACCTACTGATGATGATGACACATCA
 TCAATCCAGCAATGAAATGCTAAACGTCAGGTCAAAACAGAAACAGAAACCAAAATGCAACAAATGTTATTAAACAAATGGTGA
 CCGCAGACCAACAAATTTGCGCAGAAAAACAAAGTAGAAGAAAAATATAATAGCTTAAAAACAGCAATTTGCTGAT
 TAACACCAAGCTTGGCACCATTACAACTGCAAAATCAGTTGCAAAATGATATTGATCAGCCAAACGAGTACGACTGGT
 ATGACAAAGCGCATCTGTTGCTGCAATTTAATGACAACTTTGAGCAGCTAGAACTAAAAATCAAGAAATTCATCCGCTACT
 AGCATCTCACTCCAGATGTAGCAACGATCTGTCAAACGTCAGACACAGCGAATGCTGCTAAAAACAGCACTTGTATCAAGCGC
 GCAATGCTTAAAGTGTGATAAGCACCTTTAGAAATGCGAAGAAATCAACTACAACTAGTATTGATACGCAACCAAT
 ACAACTGGTATGACACAAGACTCTATAATGCAATCAATCCAAAGTTAACAGCTGACGTAATTAAGGTTCAACAAATCAA
 TCAAGTATTAGCAGGTTCACCTACTGTAGATCAAAATTAATACAAATACGCTGCGCAAAATCAAGCGAAATCTGATTTAG
 ATCATGACGCTGAGGTTAACACCAAGATAAAGCGCGCTTCAAAATGCGAAGCAATTAAGAACCAACCAATTAATCAA
 CCAACAGATACCAACGGTATGACAAACCGCTTGGTTAAATGCATACAAACCAAAATTTCAAGCAGCAGCTCAAAAGTTAAC
 TGAATTAATCAAGTGTGAAATGGCTACCCAACTGTCAAAAATATCAATGATAAAGTGGCAGAGCCAAACCAAGCTAAGG
 ATCAATTAATACAGCAGTCAAGGTTTAACTATGATAGACAGCGCAAGCTTAAACCAATTACATGCTGCTACTAATTA
 AACCAAGCAACCAAAATTAATTTACGCAACCAAAATTAATGCTGCTCAAAATCATGCTGCGCTTGAAGCAATTAAGTCAA
 CATTTAGCGCTTTAAATACTGCGATGACGAAATTAAGAGACAGTGTGCGGATAATAATACAAATTAATCAGGTCAAAAT
 ACACGAGCGCAACACAGCTAATAACCAAGCTTATGATTAATGCAAGTTAATGCGGCTAAAGCTGCTATCGAGAAACGACT
 AATCCAACGATGATGTTAACACAGTGAACCAAAAGCAACATCTGTTAAATCGACGAAAGATGCTTTAGATGCTCAACA
 AAATTTACAGCTGCGAAACAGAAACAGAAATGCGATTACGATGCAAGTGAATTAACCAAGCAGCAAAAGAAATGCAAT
 TAACACAACAGTGAATAGTGCACAAAGCTGCAAGCAGTAAATGATATTAAACCAACGACTCAAGCTTAAATACTGCT
 ATGACAGGTTTAAACGTTGCGCTGCTAATCATACCAAGCTGTAACAAATGATAATTTATGTAACGAGATACTAATAA

GAAAAATGATTACAACAATGCATACAAACCATGCGAATGCATTATTAATGGTAATGCACAACATCCAGTTATAACACCAA
 GTGATGTTAAACAATGCTTTATCAAATGTCACAAGTAAAGAACATGCATTGAATGGTGAAGCTAAGTTAAATGCTGCGAAA
 CAAGAAAGCGAATACTGCATTAGGTCAATTTAAACAATTTAAATAATGTACAAAGTCAAAACTTACAATCGCAAAATTAATGG
 TGCGCATCAAAATGATGCAATTAATACAATTAAGCAAAATGCAACAACTTGAATAGTGAATGGGTAACTTAAGACAAG
 CTGTGCGAGATTAAGATCAAGTAAAACGTACAGAAGATTATGCGGATGCAGATACAGCTAAACAAAATGCATATAACAGT
 CCAGTTTCAAGTGTGTAAGCAATTTAATCAAACAGCTAATCCGACAATGTCGTGATGATGTTAATGCTGCAACTTC
 AGCTGTTACTACTAATAAAAATGCATTAAATGGTGATGAJAAATTAAGTACAATCTAAACAGAGTGTGCAAGAGCAATG
 ATGCAATACCACTTTAAATTAATGCACAAAAGCAAGATGTTAAATCTAAAATTAATGCTGCATCAAATATTGCTGGTGTA
 AATACGGTTAAACAAACAAGTACAGATTAAATACAGCGATCGGTAACCTTGCAAGGTGCAATCAATGATGAACAAACGAC
 GCTTAATAGTCAAAATTAATCAAGATGCGACACTAGTAAGAAAACAGCATACACAAATGCGGTGCAAGCTGCGAAAGATA
 TTTTAAATAAATCAATGCTCAAAATAAAACGAAAGATCAAGTTACTGAAGCGATGAATCAAGTGAATTCGGCTAAAAAT
 AACTTAGATGGTACGCGTTTATTAGATCAAGCGAAGCAACAGCGAAGCAAGTAAATAATATGACGCAATTTAACCAAC
 TGCACAAAACAGCAATTTAACAAATCAAAATTAATAGTGGTACTACTGTTGCTGGTGTCTAATCGGTTCAATCAATGCCA
 ACACATTAGATCAAGCGATGAATACOTTAAAGACAAGTATTGCTAACCAATGATGCGACTAAAGCAAGTGAAGATTACCTA
 GATGCTAATTAATGATTAAGCAACAGCATATAACAAACGCGGTAGCTGCTGTAAGCAGATTATTAATGCGAATAGTAATCC
 AGAAATGAATCCAAGTACGATTACACAAAAGCAGAGCAAGTGAATAGTTCTAAACCGGCACTTAACGGTGAATGAAGACT
 TAGCTACCGCAAAACAAAATGCGAAAACGTACTTAAACACATTAACGAGTATTACAGATGCTCAAAAGAACAAATTTGATT
 AGTCAAATTAAGTAGTGCCACAAGAGTGAGTGGTGTGATGATCTGTAACAAATAATGCACAACATTTAGATCAAGCTATGCG
 TAACTTACAAAATGGTATTAAACACGAATCTCAAGTGAAATCATCTGAGAAATATCGTGATGCTGATACAAATAAACCAAC
 AAGAGTATGATTAATGCTATTACTGCGAGCAAGCGATTTTAAATAAATCGACAGGTCACAACTGCGCAAAATGCGAGTT
 GAAGCAGCATTTGCAACGCTGTTAATACTGCGAAAGATGCATTGAATGGTGATGCAAAATTAATTCAGCTCAAAACCGCAGC
 GAAACAACTTTAGGTACTTTAACGCATATCACTACAGCACAACGCAATGATTTAACAAATCAAAATTTCA

SEQ ID NO 46 secuencia de polinucleótido

ATGGGTAACTTACAACCGGCTATCAACGATAAGTCAUGAACATTAGCGAGCCAAAACCTCTTGGATGCTGATGAGCAAAA
 ACGTAAATGCTTACAATCAAGCTATATCAGCTGCCGAAACCATTTTAAATAAACAACTGACCGAATACAGCGAAAACAG
 CGGTTGAACAGCACTTAATTAATGTTAAATAGTGCAGAACATGCATTAAATGGTACGCAAACTTAAATAATGCGAAACAA
 GCAGCGATTACAGCAATTAATGGCGCATCTGATTAAATCAAAAACAAAAGATGCATTAAAGGCAACAGCTAATGGTGC
 TCAACCGGTATCTAATGCAATGATGTACAACGTAATGCGACTGAACGAAACAGCGCAATGGGTCAATTAACAACATGCA
 TLGACAGATAAGCAAACTTAAGTACGTTAGCAAGCAATGAATATGCTCAACCGGATAGCACTAAACAAAATGCTTACACAACATAA
 GTTACCAATGCTGAACATATTATTAGCGGTACGCCAACGGTGTGTTACAACACCTTCAGAAATACAGCTGCGAGCTAATCA
 AGTAAACAGCGCGAAACAAAGATTAATGGTGACGAAAGATTACGTTGTCAAAACAAAACGCCAATACTGCTATTGATG
 CATTAACCGCAATTAATACTCTCAAAAAGCTAAATTAAGCAACAGTGGGCAAGCCAAATAGATTAAGAGACGTCACAA
 TCTGTTCAAAAGCAATGCAACATTAATGAACAACTGCAATGGAAGGCTTAAGAGATAGTATTGCTAACGAAACAAAGTCAA
 AGCAAGCTCAAACTATACAGACGCAAGTCCGAATAACCAATCAACATATAATAGCGCTGTGTCAAATGCGAAAGGATATCA
 TTAATCAAACTAACCAATCCACTATGGAATAGTGGCAATACCCAGCTACAACCAAGTGAAATATGCTTAAAAATGCT
 TTAACCGGTGCTGAAAACCTTAAGAAATGCACAAAACACTGCTAAGCAAACTTAAATACGTTATCACTTAAACAAATG
 CCAAAAATCTGCAATCTCATCAAAATTAATGCTGCGAGTATGAGTGAAGTGAAGTGAACAGCTGCTAAAAATGCGCAACTG
 AGTTAAACAGCGCAAAATGGGCAACTTGGAAACAGCTATCCATGATCAAAACACAATTAACCAAGGTGTTAACTTCACTGAT
 GCAGATAAAGCTAAACGTGATGCTTATACAAATGCGGTAGCAGAGCAGAAACAAATTCGAATAAAGCAGCGCTGCAAA
 TACGCTTAAACAGATGTTGAAGCGGCTATTCAAAATGTTACAAGTGTCAAAATGCAATGAATGGTGAATCAAAAGCTTA
 CAAATGCGAAGAAATGCGCTAAAAATGCATTAAATAACTTAACGTCAAATTAATAATGCACAAAACGCTGACTTAACAACT
 AAAATGATCAAGCAACAAACAGTAGCTGGTGTGAAGCGGTATCTAATACAGGTACACAATGAATACAGCGATGCTTAA
 CTTGCAAAATGGTATTAAATGATAAAGCGAATFACTTTAGCGAGCGAAAACCTATCATGATGCTGATTGATGAAGGTAAGGTAAGTGA
 CTTATATCTCAAGCGGTTACGAACGCGAGAAAATATTTAATAAATAATAGTGCATCAATTTAGATAAGGTCGCGTTGAA
 AACGCGTTGTCACAAGTGACAAATGCGAAAGGTGCGCTAAATGCTAACCAATAATTTAGAGCAAGCTAAATCAAAATGCAAA
 CACTACTATAAAGCGGCTTCAACATTTAACCAACAGCACAAGAGATAAATTAAGAACCAAGTGCAACAGCACAACAAATG
 TTGCAAGGTGATGATACTGTTAAATCAAGTGCCAACACATTAATATGCTGCTATGGGTACGTTAAGAAATAGCATACAAGAT
 AACACAGCTACGAAAAATGCGCAAACTATCTGATGCTACAGAACGTAACAAAACAACTATAACCAATGCTGTTGATAG
 TGCTAATGCTGCTCAATTAATGCAACAAAGCAATCCAAATATGATGCTAATGCAATTAACCAATCGCTACACAAAGTGACAT
 CAACGAAAAATGCAATTAATGATGATACACATAATTTAACGCAAGCGAAACAAACAGCAACAAATGCCATGATGCTGCTACT
 AACTTAAATAAAGCGCAAAAGATGCGTTAAAGCACAAGTTACAAAGTGCAGCAAGCTGTTGCAAAATGTAACAAAGTATCCA
 ACAAACTGCAAAATGAACCTTAATACAGCTATGGGTCAATTAACACATGCTATTGATGATGAAAAATGCAACAAAACAACTC
 AAAAAATGCTGACGCTGAACAAAGTAAGAAAACTGCTTATGATCAAGCTGTAGCTGCTGCGAAAGCAATTTTAAATAAA
 CAAACAGCTTCCAAATTCAGATAAAGCAGCAGTTGACCGTGCATTACAACAGTAACAGTACGAAGATGCAATGAATGG
 GGATGCTTAACTGCGCAGAGCGAAAGCGCAGCTAGACAAAACCTTAGGTACTTTAAACCATATTACGAATGCACAACGTA
 CTGCGTTGAAGGTCAAATCAATCAAGCGCAGCTGTTGATGGCGTTAATACTGTAAAAACAAATGCCAATACATTAGAC
 GCGCTATGAATAGCTTACAAGGTGCAATCAATGATAAAGATGCGACATTAAAGAAATCAAAATTTCTTGATGCGATGA
 ATCAAAACGAAATGCATATACGAAGCTGTACAGCGGCTGAAGGCAATTTAAATAAACCAACAGGTGTTACACATCTA
 AAGCAGAGCTGATTAATGCAATTAATGCAATTAACAGAGTGAAGCGGCTTTAAATGCTGCTGAAAACCTTAAGAAATGCG
 AAAACCTTAGCAACAAATACGATTAAATGGTTTACCTAATTAACCAATTAACAAAAGCAACTTGAAGCATCAAGTTGA

CGCAAAAAACAGCATTGAAACAAACAAGTGAAATGCTGCACAACCGCGTATCAGGTGTAACTGATCTGAAAAATAGTGCTACTA
TCACTTAATAATGCGATGATCAATTAARACAAAGCAATTTGGTGATCAAGACAAATTTGAGTGGTGGTAATTAACACTAA
CGCAATGCTCTGTAACAAAGAGGTGCTTACACTGATGATATAATGCTGCGAAGATATCTGAAATGTTTACACTTAATGTGA
TTACAATGTACAGCAGATGTGCTGCGGCAACAACAGTGTCAATAATGCTGAAACAAATTTAAATGGTGATACAACTTTA
GCAACTGCGANGCAACAGCTTAAAGATGCAATTTACGTCAAATGACACATTTATCTGATGCAAAACAAAGATTTACTGG
TCAATTTGATAGCGCGACACAAGTAACCTGGTGATCAAAAGTGTGAAAGCAAACTGCAACAAATTTGACAAATGCAATGAACT
AACTTTGAAATAGTATTTGCGAATAAAGATGAAGTAAACCGGATACCACTATGTTGAATCCTCMGTGCAAAATGACCAAAAT
GCATACAAATGACAGCAATTAAGTGTGAAATATCATTAAATGCAAGAGTCAGGCAACACTTGATCCATCTGCGAGTAAC
ACAAGCAGCTAATCAAGTGAACACTAACAAACCTGGCTTAATGGTGGCGAAVACTTAGCAAAATAAAAGCAAGAAACAA
CTGCTAACACTCAACCTTAAGTTCATTAAACAATGCTCAAAAGCAAGATTTAAATACCTCMGTGCAAAATGACCAAAAT
ATTACAGCAGTAATACTGAATGAAACATAAGAGCTGAACAAATAGATCAAGCAATGGAAGCTTTAATCAACGGAATCCAAG
CAAGCATCAAGTGAACAAAGTGTAACTTACAGATGCAATTCAGAAACCAACAGCATACAACTACGGGTAACTG
CTGCTGAAAAATATTATTAACTCAAGCAAAATGTCACAAATGCGAACCACTCAAGATGAAGCGAGCACTTTCAATCTGTAC
ACTACTAAACAAAGCTGTGAATGTTGAAAGATTAACAGATCTAAACCAATGCAAAACCAAAATTTACTACGTTGATGA
TAATTTAAACAAATGCAAAAGGTGCTGTTACTGGAACATCAATCAAGCGCACACTGTAGCTGAAGTAACGCAAGCCA
TTCAAAACCGCTCAGGACTGTAATACAGCGATGGGTAACTGAAAAATAGCTTTGAATGATTAAGACACTACACTTGGCAT
CAAAACTTTGACAGTTCAGATCCGAGGAAAGAAAATGCATACAAATGAAGCGGTTCGTAATGCTGAAATCTTTAAATAA
ATTCTACAGATGAAGAACTGCTTAAGATTCAGGTGAAGCAGCTATGAATCAAGTGATATCAAAAACGAGCTTAAATG
GTACTCAAAACCTTGAAAGAGCAACAAACAGCGAATACAGCAATTGACGCTTTAAGCCATTAAACAAATGCAAAAA
GAGCGATTAACAAATTTGTTGATTAAGCTTACGACTCTGTTGCAAGACCAAAAGTAATGAACAAAAAGCAAAATTTGTA
TGCAACATGACAAATTTACGTCAAAGTATTCAGATATGCGCAACCAAAAGTAATGATATCTGATGCAAGT
CGAATTAACAAAGATGCGTACAAATAATGCTGTCAACACTGCAAGGTATTATTGATCAAACTACAAACCTTCATTAGAT
CGACTGTTATCAATCAAGCTGCTGGACAAGTAAAGCAGCTTAAAGATGCTTTAAATGGTAATGAAACTTAGAGGCGAG
GAAGCAACCAACAGCGAATCTTTAGGTTTAACTAGACATTTAAATATGCGCAAAACAGCTGTACTTAATCAAAATTA
ATGGCGCGACTACTGTGTAAGAAAGCAATCAATTAAGCAAAATGCGCAAACTTAAATCTGATGGTAACTTGAA
CAGCGATAGCTGATAAGATGCTACAAAGCAACAGTTAATCTCACTGATGCAATCAAGCAAAACCAACAGCATATAA
CACTGCGATTACAAATGCTGAAATATCATTTCAAAGCAATGGGTGATTAATGCAACCAAACTGAAGTTGAACAGCA
TCCAACAGTAAATGACCAAAACAGCGATTAAGTAACTGCAAGCTTCAACTGCAAAAGCAAGTACAAATGCAACTACTGTAGCTGG
TGTAAACAACTGTAACAAACCGCGCAAGATTTAAACATGCGATGACAAATTAACAAAGCAATGCGAGATAAGAAC
AAACAAAGCTCTATGTTAACTTTGTCATGCGAGTTCTGCAAGCAAAATGCATATAATCAAGCACTAGCGAAAGCTGAA
GCAATTAATGAGTGTGCTGATGCTTTGCTGACACTTGGCAAAATTTCTGCGAGCTTAAATGAAGTTACGCAAGCTAA
AAATGATTTAAATGGTAATACAACTTAACAAACCGCGCAAAACAAATGTTCAACATGCTATTGATCAATTTGCCAACTTAA
ACCAAGCGCAACGCTGATGATACAGCAAAACAAATTCACGCAAGCAACACTTGTAACCAACGCTAATGCTATTAACAGCG
GCAACAAAGCTTAATGAGCGGATGACAAATGAAACCAAGTATGCGAATTAAGCAAAATTAAGGTTAGCGAAGTAACT
TACGATGCTGATATGCAAGCAAGCAACCAAGTATGATGATGAGTACAAAGCAAGAAATTTTAAACAAACCAACAA
ATCCAACAAATGATGCAAAATCAATTAACCAAGCAATTAACAAAGTGAATGACAAATCAAGCACTTAAACGCTAATCAA
AAATTAAGCTATGCAACCAAGATGCTAAGCAACACTTGTACACTAGATCAATTAATGATGCTCAAAACCAAGCGCT
AACAACTCAAGTTGACCAAGCAACCAAGTATGCAACAGTAAATGATTTAGCAAAATGCTCAAACTGCAATTAAGTGA
TGACTTAATTAACAAATGATTAACAAGTAAACAGCAATTAATTAAGCAATTAATTAAGTATGCTCAAACTGCAATTAAG
AAAGATGATTTACTAATGCTGGTTTACATGACAGAGGTTTATTAACAAAGCAAGTGGCAGCAATGCAAGTCAAACTGA
AGTGGCAAGGCTGATGCAAGCTGTCAGCAAGCAAGCAAGCAAGTGAATGATTAATGCAATTAAGCAAGTCAAAAGTGA
CAGCAAAACAGTATTAACAAATGCAATTAATTAACAGCAAGCAAGCAAGTGAATTAACAAACAGCTGCAAGTGGTGG
CAACTGTTGCAATGTAACAGCTTAAGCAACAGCAAGTATTAATCAAGCAATGACAAATGGAACCAAGGTATGCAAT
TGCAGTAAAGACCAAACTAAAGCAAAATGTTAACTTGTCAATCTGATTAAGCAAAATGCAATTAACAAATGCGG
TAGCGCATGCTGACAACTATTAGCTGATACCAAACTTAAAGCAAGTGGTCAATGCAAGTGGTCAAGCTTACAAAC
GTGAATCAAGCTAGGCTGATTTAAAGCTTAACCAAACTTAAAGTGGTCAAGCAAGTGGTCAAGCTTACAAAC
GTTACCAAACTTAATCAACCAAAACCAAGCTTAAAGCAAGTGGTCAATGCAAGTGGTCAAGCTTAAAGTGGTCAAGT
CTATTAAAGTAAATGCTGATGCTGTTAAATGCAATGCTGTTGAAACCAAAATTAAGCGAATAGCTAAGTACCA
CAATCAATGCTGATTTACAAAGCGGATCAAGCAAAACCAAGCTTAAACATGCAAGTAAACCAAGCTAACTGCAAGT
AAATGCGACACCAACACTGTTATTGCGCTGATACAGTAAACAAAGCAAGTAACTATGAATCAAGCAAGTAACTGCAAGT
TAAACCGTGTGTAAGAAATTAAGCGCAAGCAAGCAAGTGGTAAAGCAAGTGGTAAAGCAAGTGGTAAAGCAAGTGGT
CAAGTGGTGGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
AAATCGATCAATGCGCTGAAATTTGCTACAGTGAACCAAGTAAACCAACAGCAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
TTATCAACAGCTTAAATGTAAGATCAAAATATTAGCGCAAGTAAATTAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
GTAATTAACAGGCAATGCAAAAGCTGAAGCATTTGAATTAACCAAGTGGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
GCACTCAATTAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
AAATCGATCAATGCGCTGAAATTTGCTACAGTGAACCAAGTAAACCAACAGCAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
TTATCAACAGCTTAAATGTAAGATCAAAATATTAGCGCAAGTAAATTAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
GTAATTAACAGGCAATGCAAAAGCTGAAGCATTTGAATTAACCAAGTGGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
GCACTCAATTAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT

CAACAAATTGGCGAACTTAAACACCTTAAATGATGCACAAAACAAATCACTTGAAGTCAAATTACACAAGCGCCACTTGT
 TACAGATUTCACTACGATTAAATCAAAGCACAACCGTTAGATCATCGATGGAATTATTAAGAAATAGTGTGGCGATA
 ATCAAACGACATTAGCGTCTGAAGATTATCATGATGCAACTCGGCAAGACAAAATGACTATAACAAAGCTGTAAACAGCT
 GCTAAATAATCATTAAATCAACTACATCGCTACGATGAATCCAGATGATGTTAATGGTCAACGACACAAGTGAATPA
 TACGAAAGTTGCATTAGATGGTGAATGAACCTTGCAGCACTTAAACAAACAGCAACACAGACTTGATCAATTAGATC
 ATTTGAATAATGGCAAAACCAACAGCTTACAAATCAAAATACGCAATCATCTGATATTGCTGCACTTAATGGTCACAAA
 CAAACAGCAGAAATCTTTAAATACGCGATGGCTAACTTAAATTAATGCGATTGAGATCATCAAGCCGTTGAACACCTGG
 TAACCTCATCAATGCTGATACGATAAACAACCTGCTTAAATACAGCGTAAATGAAGCAGCAATGATTAAACAAAC
 AAACCTGGTCAAAATGCGAACCAACAGAGTGAACAAAGCTATTACTAAAGTTCAAACACACTTCAAGCTTAAATGGA
 GATCAATAATTACAGTTGCTAAACAAATGCGACGCAAGCAATTGATGTTTAAACAGCTTAAATGATCCTCAAAAAAC
 AGCATTAAAGACCAAGTTACAGCTGCAACTTTTGTAACTGCACTTCAAAATGAACAAATGCGAATACGCTTAAAC
 AAGCAATGCAATGGTTTAAACAGAGCATTCAAGATAACGAGCACTTAAAGCAAAATAGCAAAATATATCAACGAAATCAA
 CCAGAGCAACAAACTATGATCAAGCTGTTCAAGCGCAAAATATATTAATCAATGAACAAACTGCAACATAGATAATAA
 TGGATTAATCAAGTAGCGGCAACTGGAATACAACGAAAGCAGCATTACATGCTGATGTAATTAACAAATGATAAG
 ATCATGCTAAACAAACGGTTAGCCAAATTAGCACATCTAAACAAATGCACAAAACATATGGAAGATAGCTTAATTGATAGT
 GAAACAACTAGAACGAGTTAAGCAAGATTTGACTGAAGTACAAGCATTAGATCAACTTATGGATGCAATACAAACAAAG
 TATTGCTGACAAAGATGCAACAGCTGCGAGCAATGATATGTTCAATGCAGAACCGCAATAAAAACAAAGCTTATGATGAAG
 CAOTTCAAAATGCTGAGTCTATCATTCAGGATTAAATAATCCAACTATCAATAAAGTAAATGATCAAGTGCAGCTCAA
 GCAGTAATATCATCTAAAAATGCAATTAGATGGTGTGAAGCAATTAGCTCAAGATAAGCAAACTGCTGGAAATCTCTTAA
 TCAATTAGATCAATTAAACACAGCTCAACAAAGCGCTAGAAATCAAATTAAATATGCAACAACTTGTGATAAAGTGG
 CTGAAATCATTCGACAAAGCGCAAGCATTAAATGAAGCGATGAAGCATTAAAGAAATGATTAAGGATCAACCAAACT
 GAAGCAAGTAAATTTATTAACCAAGATCAAGTGAAGAAATGATATACGCAAGCAGTACAACAGCGCAAACTGATTT
 GATTAAACAAACAACTGATCTTACATTAGCTAAATCAATATTGATCAAGCGACACAGGCAAGTGAATGCTAAACAA
 ATTTACATGCTGATCAAAACTAGCTCAAGATAAGCAACCTGCAACAGAAACGTTAAATAACTTGTCTAACTTGAATACA
 CCACAACTTCAAGCACTTGAATAATCAATCAATATGCAACAACTGCTGGTGAAGTACCAACAAATTAAGTGAAGCACA
 AGCATTAAACCAAGCAATGGAAGCTTACGTAATAGCATTCAAGATCAACAAACAAACAGAACTGCTGATCAAGTTATTA
 ATGAAGATAAAGCGCAAAAGATGCTTACCAAGCAGCAGTTCAAATGCAAAAGATTAAATTAACCAACAGGTAAATCCA
 ACGCTTGAATAAGCACAAGTGAACAAATGACACATGCTTTAAACAAAGCTAAAGATTAACCTACACGGTGATCAAAACT
 TGCAGACGATAACCAACATGCGGTTACTGATTTAAATCAATTAATGGTTTGAATAATCGCAACCTCAAGCACTTGAAG
 GCCAAATTAACCAACGCAAGCACTGCTGGCGAAGTACGCGCAAAATTAAGCTGAAGCAAAAGCGCTTGAATCAAGCAATGCA
 GCATTACGAAATAGTATTCAAGATCAACAAACAAACGAAAGCGGTAGCAAGTTTATCAATGAAGATAACACGCAAAAGAT
 TGCTTACCAAGCAGCAATTCAAAATGCAAAAGATTTAAATTAACCAACAGGTAAATCAACACTGACCAATCAACAGTAG
 AACAAATTAACCAACAGCAATTAACCACTGCAAAAGATTAATCTACATGGTGAATCAAAACTTCTGCTGATCAACCAAGCA
 GTAAACCACTGTAACGCACTTCCCAACTTAAATCATGCAACCAACCAACATTAACTGATGCTATAATGCAAGCGCTAC
 AAGAACAGAGGTTGCACAACTGTTCAAACTGCTACTGAACTTGAATCAAGCGATGAACCAATGAAGAAATGAAGTTGATC
 AAGTGAATACAGATAAGGCTCAACCAATTAACACTGAAGCGTCACTGATTAAGAAAGAGCAUTAGATCAAGCGTTACAA
 GCTGCACAAAGCTTACAGATCCCACTAATGGTTCAATGGCAATGAAGACGCTGTAAGAAACAAAGCTTAACTTAAGCTTCA
 AGAAATGCTGAATGAGTTAAATGGTAAATGAGAGAGTGGCTGAAGCTAAACCAACAGCGCAACCAACTTATGCAAAATTA
 CACATTTAAATGCTGATCAAAATGCAACTGCTAAACAAATTAATGATCAAGCGCAAGCACTTCAACCAATGCTGAATTA
 GTAGATCAAGCAAGCAATTAAGCAATCAATGATCAATTAACCAACAGCAGTTAAATGAACATGCTAACTGATGCAAAAC
 TATAGATTACACACAAAGCAGATTCAAGATAAGCAAAAGCTTATAACCAAGCGATTGCTGATGCTGAAGAACTATTAAGAAC
 AAAATGCGAATTAAGCAACAGTGGATCAAGCACTTCAAAATATTTAAATGCAAAACAGCATTAAATGGTGAAGACGCT
 GTAGCACTTGTAAACCAATGGTAAACATGACATGCAACCAATTAAGTGAATTAACCAATGCTCAACCAAGATGGATTAA
 AAGTGGCATGATCAATCAACCAATTTAAATCAATTCACCAAAATTTAGATGAAGCTTAAGCACTTAAATGCTGCAATGG
 ATCAATTTGTCACAAAGAAATCACTGGCAATGAAGCAAGCAAGCAAGTGAAGCAACTATGTCATGCAAGATACACAGTC
 AAACAGTATATGATGAAGCGTTGATTAAGCAAGCAAGCAAGCACTTGAATAATGCTTGGCAAAACTTAACTGCAGAACCA
 AGTTATCAAAATTAATGATGAGTCACTGCACTGAAGCAAGCAATTAATGGTGAAGCAAGCACTTAAATCGTAAAGCTG
 AAGCATTACAAAGATTGATCAATTAACCACTTAAACCAATGCTCAAAACCAATTAAGCAATTAAGCAATTAATTAATGCT
 GAAGCGCTAAATTAAGCACTGCGAGCAATTAATAGCAACTAAATTAGATAATGCAATGGTGCAGTACCAACATATAT
 TGACGAACAGCACTTGGTGTATCAGCAGCACAATTAATCAATGCAATGCAATTTGAAGCAAAATTAATGATTAATG
 CAATTTGCGAATGCAAGCAGTGAATGATTAATGCAAGCTGAAGCAAGCAATTAAGCAAACTGCTGATGCAAACTGCAAA
 AATATTATGATGCTCAAAATGCAATTAATGGAGACCAAACTTCAAAATGCAAACTAAAGCAAACTGCTGATGCAAACT
 TCGTTAAATGATTAATTAACAGCAACAGATCTTGCATATAAGCAATTAACCAATGCGCACTGCTATCAGATGTA
 CAGATATTGTTAAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAAT
 TACAGCAAACTGCTCAATTAACCAAACTGCAAGATAATGCTTAAACCAAACTTGAATGCTGCAAACTGCTGCAAACT
 ATGCTAAATAGTGAATTAACCAAACTGCAATTAATGATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAAT
 ATGCTGATCAACAGCTACAAGTATGCTAAAGCAAGGCAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAAT
 ATGCAAGCTTCAAAATGCAAGGATCAAGCAAGCTTATTAAGCAAAATTAAGCAAGGCAATTAATTAATTAATTAATTAAT
 CAACATTAATTAAGCAAGGCAATTAATTAAGCAAGGCAATTAATTAAGCAAGGCAATTAATTAATTAATTAATTAATTAAT
 CTAAATGAATTAACCAAAAGCAAAATTAATGCAAAATTAAGCAAGGCAATTAATTAAGCAAGGCAATTAATTAATTAATTAAT
 CGAAATCCAAATTAACAGATAAGGCAAAACAGCACTTAAGATGCTATTAATCAAACTTCAACAGGTCATAACGA

CATTAACTATGCGCTGACTAAAGAAAGAAATTGAACAAOCTAAAGCACAACTTGGCGAAGCATTACAGACATCAAAGATT
 TAOTCAAAGCTAAAGAAAGATGCGAAACAAAGATGTTGATTAACAAAGTTCAAGCATTAAATTGACCAAAATCGATCAAATCCA
 AATCTAACGATTAAGGAAAAACAGCACTTAAAGATGCTATTAAATCAAATACCTTCAACAAAGTCAATACCGCATTAACAA
 TGGATGACTTAAGGAAAGAAATTGAACAAAGCCAAAGCACAACTTGCACAAAGCATTACAGACATCAAAGATTAGTGAAGCTAAAGAA
 CTTAAAGAAAAATGCCAAACAAGATGTTGATAAACAAAGTTCAAGCATTAAATTGACCAAAATCGATCAAATCCAATCTAAC
 GATAAGGAAAAACAAAGCGCTTAAAGATCGAATCAATCAATACTGCAACAAGGTCATACCGACATTAAACAAATCGATGAC
 FAAAGAAAGAAATTGAACAAAGCCAAAGCACAACTTGCACAAAGCATTACAGACATCAAAGATTAGTGAAGCTAAAGAA
 ATGCGAAAAATGCAATAAAGGCTTAGCTAATGCGAAGCTGATCAAATCAAATCAAATCCAGATTTAACACCTGAGCAA
 AAAACAAAAAGCGCTCAAACAAATTTGACGAAGCTGAAAAACGAGCACTACAAAACGTTGAGAAATGCTCAAATCTAGATCA
 ATTAAATCGAGGATTAAACTTAAGTTTATGATGACATTAGAAATACACATGATGAGGAGGTTGATGAACAACTGCTGTAA
 ATGAAATTTTGAAGCAACACCTGAGCAATCTAGTTAATGCTCAACTCATCTGACATCGTATGACATCACTTACAGAA
 CAAGATATTCTTGCACACATAAACTTAATGATCAGCTTTGAGCAGAAAGTTATGATACACCATCAACTGCAACGATTTC
 TGATAGCTTAACAGCAAAAGTTGAAGTTACATTGCTTGTATGATCAAAGTTGATGTTAATGTTCTCTGTAAAGTTGTA
 AAAAAAGAAATGTCAGTNGTCAAACAAAGGCAATGAAATCAATCGAAAAATGCCGACAAACAAAGATTGATGAATCAAT
 AATAGTGTGACATTAAACCTGGAACAAAAAGAGCTGCAATTTGCACAAAGTTAATAAGCTTAAACAAACAAAGCAATGATCA
 TCTTAAACAAATGCACTGATGTTTCAATTCAGTTGAAGAAATCAAACAAAGAAACAAAGCTATATTGAACAAATTAATCCAG
 AACAAATTTACGATTGAACAAAGCAAAATCAAATGCAATTAATCGATTGAAGATGCAATTTCAACATATGATGATGAATC
 AAAGCTCGTACTGATCTAACAGATTAAGGAGAGCAAGAGCTATTGCTAAGTTAAATCAATTAAGCAACAAAGCAATTC
 AGCGATTCAAGCTGCGCAAGCATCAGTGAAATAACTGAGCAATTTGGAACAAATTAAGCTCAAATGAAAGCAGCTAATC
 CAACAGCAAAAGAACTAGCTAAACGCAAGCAAGAGCTATTAGTGAATTAAGAACTTTCAAATGAAAAATTAATAGT
 ATTCGAATAGTGAATTTGCGACAGCTGATGAAAAACAAAGCAGCAATGAAATCAAATTAACGAATTTGCTTGAACAAAT
 TAGAGATATTAAATATGCGATACATTACAGCAAGTTGAAGCTGCAATTAACCAATGATTTGCTCGAATTTCAAGCAGTAC
 AAATGTAATATCTGATCTGCTGCTAAACCAATCGTCAAGTACTGAAATGAAATCTAATAGCCATTTAACAAATGCTTATGGA
 ACTGCAATCATCCATTTAACAGTTGACTATTGACATTAAGAAAGAACTTGAAGAGATGATGACATTGATCCACTTCA
 TATGCGCTCACTTTATGTAATTTTGGTAAATTTTGAACAAAGCTATTGCTGCTGCTGGGTATCTCTGCTTACTAGCTA
 GTTCTGCTTCTTCAATTTGCCAAAGCTGCTGTAAGAAAGATGAAGAGGAAGAAATTAGAAATGAAGAAATTAATTAAGAGT
 TCAAATAAAGCAGACTTTAGTCCGATACAAACCAATTTACCACTTTTATTTGCCAAAGCTGCGAGAAAGAGATGAAGAG
 TGTACTGTTGAAGAAAGATTCGCTAAATTAATGCGAGTCACTCGATTAAGTTAAACATACCGCGTTCTCTTACC
 AACGCTGCTGTAAGAGATGAAGAGATGTCAGTTACAAATGAAACACAGATGAAGAAAGTTGGAAGATTAACGA
 CATTCACCACTCTTATTCCAAACCGACGCAAGATAAGAGAGGAAGATGTTGAACAAACCACTAGTATGAATCTAAAG
 TGAGGACCTTCTTTATTATTGGCTAAAGAAAGAAATCAAAAGATAACCAATCCAAAGACAAAGATCAGCATCAAAA
 ATACTTCTAAAGAGTAGCAGCTAAAGAAAGAAAGAAATCTAAGAAAAATAAAAA

SEQ ID NO 47 secuencia de polinucleótido

TTGAATTAATCGTGATAAATTACAAAAATTAGTATTGCAAAAACCGCAATTGGAACATTTTCTACTGTGATTGCAACACT
 TGTGTTTCATGGGTATCAATACAAACCATGCAAGTGGCGAGAGTTGAATCAAAAATCAAAGTTAATTAACAAATTAATC
 AAACGATGATGATGATTCGAATACCGATAGTCAAGAAATCGAAAAATACAAACCAAAATTTCTAOTGGCAGACTGAATCA
 TTACGTTTCATCAATAGTCAAAATCAACCAAAATGCAAGCACTGTCGATCAATCAAAGCACTAATGAACATCGGCAACA
 ATTAAGTCAAAATGTTTCGGATGATAGTATCAATCAATGCGATAGTGAAGCAAAATGAATTAACGAACCATTAAGAGTTG
 ATAATAGTACTATGCAAGCACATAGTAAATAGTAAAGGATAGCGATGGGAATGCTTCTGAAAAATAAACATCATAACTA
 ACAGAAAAATGATCTGCAGAAAGCCGAGCAAGTAAAAATGACAAAGAGAAAGAGAACTTACAAGAGAAAGATTAATTCUCA
 GCAATTAATCCACCAATAGATAAAAAATGCAATTACAAGCTTTTCTTTCAGCATCATATCACAATTACAGAAATGATGATA
 GAGATCTGCGGATGCAACAGAAATATCAAAAGTCAAAATCTACTTTTGACTACGTCATCAATGACTTACTAGGTAATTAATCAA
 AATATTCTCTCAGAACAGCTTGTCTTCGGATATCAACAAATTAGAGAAAGCATTAGAACTTGCAGCTAGCTTACCACAACA
 ATCTACTACAGAAAAAGCTGGTGAAGAGAGTACGAGAAAGTGTGTTGAGAAATCGTTCAATCAAGAGCGATTACTTAGATG
 CTAGAATGAAATATTATGTTTCAAAGAGAGATGATGATCTGCTTTCCTCTCTGCTACTTTCTTCTCTGCTTCAAATAGA
 AGATGGCCTTATAATTTACCAAGATCTAGGAACATCTTACGTCCTTCTGATGTACAAGGTAATGCTTATATCACTACAA
 ACCACTTAAGATAGGATATCAATGGGATATTTTATTAATAGTAAATCAATGAAGGATGAATATATGATCTATTTGCTTCT
 GACTTCCAAGTGATCAACACCAACTGGTCCAGTAACCTTCACTATTATCAACCGTGAATGTTCAAGTACATCTACTGGT
 GCGCTTGGATTTGGATCAGGTCACCACTACCTCAATTTGGAATCAGCAGGTGCTATTAAATCTAGCGTAGCGAATGA
 TTTTAAACATGGCTCGCTACAAATTAATGATTTTATGATGGTGAATTAATTAATTTCTGACTTTGCTAGAGGCGGAGAAAT
 TATACTTCGACAGAGAGGCGCTACACAACTAATAAATTTATGCGCATGAAAACTTCGCATTGCTAAATGOTGAAGAA
 CCAGATCAAAATAGAGGATTAGATACAAATATAGTTTAAAGGATGTTGATGTAAGTTATGCTATTCTATTAAAC
 TCAAGGAGCTCCAACTGCAAGATTGTATTATGCTGCTGGCGCGCTTCTGGTGAATATAACAAAGCAACCACTATAACC
 AACTCTATGTCGAACCTTATAAGAAATTAAGAAATCGAGTACAGTCAAATGCTCCAGTTAAAAATCGTACACTTCAATTA
 AAAGAAACAAATCAGACAAATTCGATCTACATTACAGAGAACTACTUATGTTCTTATTTTGGATAGTGACGCTTCCGGAAG
 TATTGATTCGGTATACGACCCATTAAAGTTATGTAAGAAATGAGTACTGCTACAGTCTTAGGTATTATGCACTTATCTTC
 CTTATTAATCAGGAAAGATGCGAGGAGCTAATGCAATGAATGCTTCAAATTAAGAACTTTTTCACAAGAAATCTT
 CAAAAATGCGACACCTTCAAGCGCTCAATTTCAATTTCTTCTAGGTTTGTATGTTGAAGATAGCCATCATACCCCTGAAC
 TCTTTTACCAATTAATTTATATGTAAGAACTGAGTTAAACATACAAATGACTTATATCACGATTAATGAAGAAACAGATA
 GAAGGAATTTTCAGTATCGAAA

SEQ ID NO 48 secuencia de polinucleótido

ATGAGTGGAAACGCTTCATAACACTCTAGGATCAGGAAATATACCTTATCAACAAGAGATACGTATCAAACCTTACTAGTAA
 TGAACCAATTAAAGTAGTGAATGGTCTATTACAGGATATCTTAACAGCTTACATTACAAAACGCTGTGGGTAGAACAA
 ATATGCTACTGAAAAAACTTAGCTCTTGTGGTCTATCTGATCCAGGAAATATTTTCATCACTGTTAAGTTTGGTGAT
 AAAGTAGAACAAATTTGAAATTAGATCAAAACCAACTCCACCAAGAAATCATTACAACCTGCTAATGAATACGTCGAAATCC
 TAACCATAGGCTGAAATAAGAATACAGATATACCAAAATGATACCTACTGCTAAATCAAACCTTGTGATGGGCGGAAACCG
 ATGGCGATCATGATCCAGAAATAATCCATATATCTGCTCCCTGAAAACTACACAGTAGTTGCAGAAAGCATACCATGATAAT
 GATCCAGTAAAAATGGGGCTTAACATTCGGTTCATCAGACTACCTTAAAGATCTACCATTAACCGGTGAATTAAGGC
 AATTGTTATTACAATCAATATGTACAACTCAAACCTTAATGAAAGCGTTCCGCTTATAGCGATACAAACCACTACAA
 TTAATGAACCGCCAGGACTAGTTTCATAAGTATTACAGGAGATCATGTAGAAATTAACCTTCCAGTCAGTATAATTA
 GCGGCTTCAGGTTTAAAGAGATGTAAACGTCAATTTACCTCAAGGTTGGACAAATACCTTACAACTCAATCTAATAA
 TACTGAGGATAGCTTAAGTTAATTTGATAATATACCTAGTAATGAAGCATATAATACGACATATCAATTTCAATATTACTG
 CAACCGATAATTTCTGGAAATACAACTAACTCCAGCTAAACCTTTATTTTAAATTTTGGTAAAGTTGGCTGATGACTTAAAT
 CCACTCGGATTTATCTAGAGATCACTACAAATTAGTGACAGACCTTCTTCATTATCTAATTCGAAACGAGAAAGAGGTA
 AAGAAAAATTAAGTGAAGCAATGCTAATATAAGATCATATTTATTACAAATAACCCAACTACTCGCTGGAGTAAACGGCG
 ATGTTACATTTTATTATAGAGATGTTCTGTAGATGTTATTGATGCTGAAATGTAATCAGATATGAGCCCGAAAGAAAA
 TCCATTTTCAGTGAATATGTAATACAAATAAAAAAGAAACAGTAATCACTATTGCTAGAGGACAAACTATACCATGG
 TCCAACTTAAGAAATATTTCTCATTAAGTAATGGTTCTGATTTACCTAATAGAGATTACCTCTATATCAGCTATTG
 GATCTTACCTTCATCGAGTGAATTTAGTCAGCTCAATGTTGGAAATTAATCTATAGAGTTAATGCTAAATATGCTTAT
 CATAGACTCAACCAAGAACTTAATTTAAACCTTAAATATAGTAGGTTAATGACCTACTGGTAAATATCGTGTATATAG
 AGTTAGTACTTATAATTTAACTAATGATGAATCAATAAAATCAACAAGCAATTAAGGAGCTAAATTTGGACTTAAT
 TAAACGATAACGATAACACTGTTTCCAAATAACTTGAACATAGAAATGTTAATGTTGACAGTAACTATACCTAAGCGG
 GATTTGAIAAAGAGTTTTCATCAAACTCAATAATATGAATTTCTTACGCTGGTTAATATAAGGGAAGATTATACCAT
 TTGCTGGACTTCTAGTAAGATTCAAGCTGAAATACAGATGTTGGATTAGAATGGTCACCAATCATAACTCACTTATTT
 ATAAATATGATGCAACATTTAGGTAGACAAATAAATACTAATGACCTGTTAACTTTACTTCAAGCAACAGCTAAACCTCA
 AATTTACGTTCAAAATATCAATAGTAATGAAAAACACTTAGCAGAACGAGGCTTAATGGGTATTCTAAATCTATAATTAG
 AGATTGATGCGAGAAATCTTATTTACTTAACTCAAACTCAATCTCAAGTATTAGACTTAGTAAGCAAGATAATGGTTACG
 GTGAGCTCAAGTCAGTCAATCTAACGTTATATATATGAAAAAATCTTCTATCGTAAATGGTCAAGTTCCAGAGCT
 AATGGCGCATCCCTTTTAAATATGATAAGCTGTTAAAGCAATGCGGCAAAATATGGTATTATGGGTGTTATCTATAA
 GGCACAAATATACTTTAGCACCATAAGCTCAAAAGGTTAATTTGAAAAATAGGCCAAATTTAAGCAATACCAATAGCG
 TGATTAATGTTTATTTCTGCTTCTGATAAGTAAATCTTAGTATAACTGTAGGTAATACGACCATCATAGGTTATAT
 TCTGGTGAACATTTAAAAATACTATCAATGTAAATGATAATATGATTAATATACAGTAGCTTCTACAGGTATAGTGC
 AATTTACTATGACAGAAACAAACAGGATTTAGTAGGCTCAAGCTCTTAATGTTACTAATAGCATAAATTAATTTGTAAG
 TTAAGCCACAGATAAAGTGGAAATGAAGTATGTTTCTTCACTAAATATAAAACCAATTAAGCAATACCAATAGCA
 ATAACTCACTCAAGTAATCAACACCAAGTGAAGTATTAATTTCAAAACCAATGCTAACCTTTCAATTTGAAGATCA
 AATAGAGTAAATCTTCACTCAGCATGACTAAATTTTAAATACAGAAATTAATCTAATGATCAATATAATGAGCTTC
 GTAGTCAAGTTGTAAGTAAGTAATAGAAATGGGAACATGCTACAGTTAATGTTACRACTACATTTCTGATGCTACA
 ACTAATACAAATTAACCTTCCAGTTAAACATGTTTATTAAGAGTTGATCTACTACTAGAACAACTAAGAGGACAA
 ATTTCCAACCGCAAGGAAGCTTCCCAATGATTTCTTAGTTTAAAGAACGAGGCTCCAGTTGATGCGAGATAGTTT
 GGTTTAAATACAGGACCCGATATAAATAGTAATCAAAATTTGGTAGAGATTAACTATACAGCTGAAATAATCTTGT
 GGTGAACCAACCAATTAGAAAGATACTACTTACAAATTTAGTCAATCTATTCCAAAGCAATATATGAACCACTAT
 CAATGGTCAATTTAATTTCACTAGGTGATGATATCCAGGAAATTTGTTCAAGCAATAACTCAATTTGGCCAGAACATA
 TGAAGTTCAAGTGGGCCAAGGATCAGGCACCAAGTTCTCTAATGACAGTTCTATTACTAAACAGTTACGGTAAT
 TATCAAAACGCGCAAACTGAAACGTTAATGATCTATTCAAGTCAACCAATATAACCTGTTAATGATAGTAATGAT
 GATTTCAAAAGGACAAATTAATGGTCAACAAATTTAGTTTCAAAATGTTCCACAAATGACAACTCACTCTATATCAAT
 CAATGGAAGCTGTTATTTCTAATACAAATCACTATAGATTCTAATGGTATAGCTACTGTAACTCAAGCACTCTA
 CCAACCGGAAATATTACTGTAAACCTCAATGACAAATATGTAACGTACCTAAACAAATAGTATGGAATTTGCTTC
 AAATACAAGTGAAGATAAGTCTTTTCAGAAACAGTGATCAAGTAATGTTACCGCTGGCATGCAAGCTAAAAATG
 ATGTTATTAAATAATTAAGGTACAACTATAATTTAATGACTTCAATAGTTTCATAAGTAATATACCAAGCTTCT
 ACTCTTACATGGAACGAGGAGCTTAATAGTTGGAACCAACATCGGTACTCAACAAACCTGTTACAGTTACTCTACC
 TAATCATCAAGGTACGAGAACTGTAGATATTTCAATAACAACTATCCAACAGTTACAGCTAAGTAATCAAGTAAGAGATC
 AAAAAAGACGAACTTAACCAATGGTACAGCTTATAAATTATATTTTGAATAATAACCGCTTTGGAGGAAACA
 GCCTCTTGGAAAGACAACTGTCAACCTGATAAAACATAGCCGGTGTACAAATTTAATTCAGCTTGTAAATATCTG
 CATATCTACACCATTAGAAGTTCTTAAAGTGTGGGTATATAATTTGATTTCACTCAACCTATCTACAAATTCAG
 TAGGAGATACATTTCCCTAAAGGACATGGGAGGCTATTACAAACATCTTGAAAAAGAGAGGATTACCAATAGATGGT
 TGGAAATTTTATTGGAAACAGCAAGTACAGGAAGTACTAGTGTCAATGCAATCATTAGCATATACTAGAACTCTTT
 TGTAAACTGGTACTTATGATGTTAATCTAGCAACTGGGTGTTTGGCAACATCAATCAGCTAAATTTATAG
 TTACAAATGCTAAACCTAATCAACCAACCTAAGTCTCAAACTGCTGATGTAACAGTAACACCTGGTCTGTGCT
 AATATACTAATAGTGGGACAAATGATTTATCCAAAGCTCTGCAATAGATTTGTTAATTAATTAAGTAATTAAT
 AACTACATTTGTTAAAAATAATGATGGTCTGTGAGCTGTGAAACTGGGTACCTGACATAAATGGTATCGACCAACA

ATGACGGGAAGCTGCTATATCTTTAAAGTCGATTAGCAAGTTAGACCTGGGATTCAATAGAGCAATAGCGACTGAAGGTTCC
GGAGAACTATAAGTACTTCAGCAACTAGTGAATTTTATATTGTCAAAGCTCCCAACACTGAAAGCTAGCACAATCTATAC
TTATGATAATGGAACTTCGGATATATCTTACTTCAACAAATCTTCTAATTTTAAATCCAACTGAAAGCTGTGAAATTAAT
ACACTGGAAATTTAAATGGCAATTGAAACACAAATATCTTCTAATTTACTAAAAATACAAACGGCAATGGAAGTAAAT
AATAAACCAAAATTTATOTCGAATTCAATCAGGATAATGGTAAAGTTGTATTTTCGGCCATACAAATTAACACTTAATTTCTCA
AATTACAATAACTCCTAAAGCAAGTTCAGGTTAACAAGTAAACCAAAATCTGATGTAAATTCAGCAAGCTTCGCGCAACATA
CTTTAAACANTCAATGAAGATTTTAAAGACAGAGGTCAAAATGTACATAATGATAGTATTTAATATATGCGGTTGAGTGGCCA
TATAAAATTAAGATTGGCATTAACACAGGAAACGCTTTCCAAACAAATTTAGCTGGTGGTAGTACATCAGATATCCAGT
AGTTATTTTATTACAGTGTATGGAAGTTCTGAAGAGCTACTGAGACTGTAGNACTAAAGTTAATAAAAAACGGAATTAATCA
ATGCTCGTGTGCTGACTAGATTGAAGAAATTTAGTAAGAGAAACAAAACCACTCAAGTATCAGAAACTTGTATCAAGCTATG
AATCGTGCTCAATCAAGAAATTAATACAGCTAAAGGTGATGCTGACCAAGTTATAGCGACAGAAATTTGCAACACCTCAACA
AGTAATATCAGCTTTATCTAAAGTTCAAGCGGCAACAAATAAATAAATGAAAGCTAAAGCATTATTACAAAACAGCGCTG
ATAATAGTCAACTTGTGAGAGCAAAAGAACAAATTAACAACATCGAATTCACCCAGCGCTTTCAACTGTATGGTATGACTCAA
GATAGCAACAGGAAGTACAAACAATAAACCGCAAGCAGCTGACAGCAATCAACAATGCAAAATAGCGTTTAAATTAATG
AGATGCAACACTCCCAACAAATTAATGATGCTAAACACAAATGAAACAGGCAACAGAGAGATTATGTTGAAGCTAAAGCG
ACTTACGTGCTGATAAGTACAGTACAAAGCGCTTATGATAGCTTTAAATAGAGATGTTTAAACAAATGATAAAAGCG
GCATCTGTGAAGACGCTATAATGAAGCCATTTCAAATATTAGAAAQAATTAGATACAGTCAAGCGGATGCAAGTAGTAC
TTTGGCAAAACCACTCTCTTCCTGTAACAGTTAGAGACCTTTAAATAAAATAAAATCTGTTTCAACCTAAAGTGAATC
AGCAATTTGCTTTACTTCAACCAAAAGAAAATAATTCAAGACTTGTACAGCTAAAGCAAGCGTTTACAGAGCGCTGTAAAT
GACATACCTCAAAACAAGGATGACACACCAAAACAAATTAATAATTATAGCAAAACAGCGTGAAGCTGAAGAGCACT
TACATCTGCACAAAGAGTGAATGATTAATGGGATGCTACAACTCAAGAAATTTACTTCTGAAAAATCTAAAGTAGAGCAAG
CAATGCAAGCTTTAACTAATGCTAAAGTAATCTGAGAGCTGATAAGATGAGTTACAGACTGCATATACAAATTAAT
GAGAACGTATCTACCAATGGTAAAAAACCGCGAGTATAGCTCAATACGAAACAGCGCAAGCGAAATACAAATTAAT
TAATGATGCTAAAAATGAGCGGAGCGAATTTTAGGTAATGATAATCCAAAGTACAAAGTAACTAAGCACTGGAACA
AACTCAAGCTATTTCAACCAAAATTAACAGAGCTATCAACAGCTTCAAGGCTTCAAAACAAAGAAAATAATACAGAAATTAGTCAAT
GCTAAAAACAGACTTGAATAAGCAATTAATGATACAGATCAACACAGCGGTATGACTCAAGAAACAAATTAATAATTACAA
CGCTAAAAAGCGAGAGCTCAAAATGAAATCAAAAAGCGACATGATTAATAATGAGAGTGTACTGCTCAAGATA
TTTCTTCTGAAAAATCTAAAGTAGAGCAACTATTACAGAACTTACAAATGCTAAGAAATGCTAAGAGCTGATAAAAGA
GATTAACAGACTGCATACATAAACTTATACAAATTTAAATACCAATGGTAAAAACCACTTAGTATTCAAACTATAA
GTCTGCAAGAGCAAAATATGAAACCAATATAATACCGCTAAAAATGAGCACTAATGTTCTTGAATAACAAACCCCTA
CTGTAATGCGATAGAAGATGCTTTACGTAAAGTAAATGCAATTCACCAAGAGGTTACAAAGCTAATTAATTACTTCAA
GATAAACAGATAATAGTGCAGACTTTGTAGAGCAAAAGAAAATTAGATACAGCGATTAAATAGTCAACCACTACTAAATG
TAGACTCAAGAACTTTAATAAATTACACACAAACGCTAGAGCAAGCAAAATATAGCAAGTTCTGCTGACACTATT
TTAATAATGGGATGCTATTTGAACCAATTAACAGAAAATAAAATTCGAGTTGAAGAGGCAACTAATGCTAATACGAA
GCCAAACAACTTTAAACCGCAGACTACACTCTTTAAAACTGAGTACGGAATTAAGTATGAGAGAGCGGACACAAACA
CAAAAAGCTTAGAGGTGTAGTGCTTTATAACAACTATTTCATTGCTCAATCTGAAATTAACAGACTGAAATAGAG
CAAACTACTATCAATAAGGCTATTGCTTCTGTTGAAGAGTAAATTAATGCAATGCAATGAGTAAACCAATTAAGCAAC
CGCTTAACAGATACAAATTAATTTATACAACTTTAGCGAATAAGAGAACTTAAAGAGCTTGTATTCAGCTTGAAG
TAAATTAATGAAACCGTTTAAACAGAGCGGTATGACTCAACAACTGTTGAGAAATTAAGTATGAGAGCTTAAATTAAGGCTC
AAAAATGAACTAGTATTGCAAACTCTTATTAATAATGGTGTGCTGATCAAGAGTTTCTACAGAAATAGAAAAA
TTAATCAAAAGCTGTGTAATTAACAAATTAATCACTCACTTAACAGTTTAAATTAAGAACTTTAGAAACTGCCAAAA
TCAGTTTACAGGCAAAATTTGACCAAAACCTAGCACTGATGTTATGAGCGCAACTCTGTACAAAGCTATGAACGTAAC
TACAGAGAGCGCAAGATAAATAAATCAATTAATGATGTTTAGCTAAACATCCAGATGTTAATGCTATCAGAACAAAC
AAAGTTGAGAGCGAACAAATCAATAATGAAATTAACACAGCGAAACAGGTTCTTACTGTTGATAAACACCACTTGAATTA
TGCAAAAACCTGTTTGCACAAAGCTAGATATACTACACCACTGACTGCTGATGAGCAACAAATTAATAATTA
ACGCTAAACGTTCAAAAGCAGAGCAAGTTATACAAATGCAATAAATTAATTTGAAAGCGTCAACCTAGTGTACAACAA
GTGCTGTAGTGAAGAACTTAAGGTAGAGCAAGCACTCAAGTATGAAACACCGCAATTCAGCGCTTAGAGCTGATAAACA
AGAAATCAGCAAGCAATTAATCAGTGTATTAACCAACGAGTTTAAATTAATGAAGAAACGAGCTTTCTACTGCTGCTACA
ATCAAGATATCAACAAATTTAGTAACGAATTTGAACAGCACTTAACAAACAAATACAGATGCGATTTTAAAGAGCAAAATCCCA
AGTGTAGCTGATGTTCAAAATGCACTAATAAATGATGAAGAGGTACAACAAAAATTAACAGAGCGCAGAGCACTTTTACA
AAATAAGAGAGATAATAGTGCACTAGTTTGAAGCAAGAAACACTTCAACAGGCAAGTCAACAGAAATTAACAGAGCAACAGT
GTATGACGCAACAACTAAAGATGATTCAATTTCAAAACCAACAGCTGCTCAACAGAAATTAACAGAGCAACAGT
ATCGATAATGGGATGCGATACACAAATTTCTAACGCAAAACAAATGTTGAAGCGCTTTAGAGCACTTAAATAA
TGCAAAAACGTTTATAGAGCAGATAAAGAGGAACTTCAAAATGCAATATAATCAATTAACCTAAATATTTGATACGAGCG
GTAAACGCTGCAAGTATCAGGAAATCAATGAAGCTAAATCAGTATTCAACTCAAAATTTGATTCAGCTTAAATGAAG
GCAACAGCTATTTTAACAATGCAAACTCTCAAGTATCAGAGTCTGCTGCTTGAAGCAAAATTAAGAGCTGTTTCAAC
TGAATTAGATAAAGCGATAGCAATGCTTAAAAATAAGAGATAATAATGCTGTTTGAAGCAAAACCAACTTCAAC
AAATTTGTTAATGAAGTAGATCAACACAAAGGATGACACAGATATCTTAATTAATTAATAATCAAAAACGCTGAAGCT
GAGATGAAATCAAAAAGCTCAACAAATCTTAAACAAATGCGATGCACTGAGCAACAAATTAACAGAAACAAATAG
AGTAACTCAGCGAATTAATGCAATTAACAAAGCAAAAGCTTTATGCTGCTGATCAAGTCTCAATTTGAAATTCCTATA
ACCAATTAATCAAAATGTTGATCAAAATGTTAAAAAACCTGCTAGTATTCAACAAATACCAAGCTGCTGACAGCTATT

CAGACGCAATACAATAACGCTAAATCAGAAACACATCAAATCTTGAAATAGTAACCTTCAGTTAATGAGTAGCACA
 AGCATTACAAAAAGTTGAGCTGTACAACTTAAAGTTAAAGACGCGATTTCATATACCTTCAAAATAAAGAGAAATAGTG
 CACTTGTACAGCTAAAAATCAACTTCAGCAATCAGTTAATGATCAACCATTAACACAGGTATGACTCAAGATTCTATT
 AATACTATGAGCTAAAGATAAGGCTCAAAGTCTATCAGAAATGACAGAGCTGTATCATCAACAATGGCGATGCAAC
 TGCAAAACAAATTTAGACGAGAAATCTAAAGTTGAACAGCACTAGCACATTGGAATGATGCTAAACAGCAATTAACCTG
 CAGATACCTACTGAAATACAAACAGCAGTTCAACAATTAACAGAGAGGCGATACAAATTAATAAAGGCTCAAGAGTATC
 AATGCATATAATAAAGCAATTCATCATTAAGAAACACAAATTAATCTCTGCTAAAGATAATGCCAAGCTGTGATACAAAA
 ACCTATAGCTACTGTTCAAGAGGTAAATTAATGCATTACAACAAGTAAATCAGTTGAATCAACAATTAATGAAAGCAATTA
 ATCAACTTCAACCGCTATCAAAATAATGATGCTTAAAGGCTGCAAGATTAAATTTAGAAAAATAAATTAATCAAACTGT
 CAAACTGATGGTATGACACAACAATCTATAGAGGCTTATCAAAACGCTAAACCGCTAGCCCAAAATGAATCTAACACTGC
 TTTAGCATTAAATTAACGGCGATGCCGATGAACAAACAATTAACAAGTAAACAGAGCGAATCAATCAGCAAACTACAA
 ACTTAACCTCAAGCAATTAACCGGTAAACAGTTAATAAAGAACCATTAAGAAACCGCTAAACAGCGTTACAAAATAACATC
 GACCAGGTACCTAGTACAGATGGTATGACTCAGCAATCTTGTGCAATTTAATCAAAAACCTACAAATAGCTTAAAGACGA
 AATTAACCAATTAATAAGCTTTAGCGAAACATCCAGATGTTAATGCAATCAAAACGAATAAAGCAGAAAGCGGAAACGAA
 TCAGTAACGATTTAAACACAGCTAAGAAATACTTACAGTTGATGACTCAACCTTTAGAAAAATAAAGAGCAACTTCA
 GATGAAATTAATCAAGCTTAAACACAGCTAAGAAATACTTAAACGTTATCCGACAGTAGAACAGTTAAAGAGAGCGTTGCTAATG
 AATTATAGAAAAAGGCAAGTAAATTAATTAATTAACGTTATCCGACAGTAGAACAGTTAAAGAGAGCGTTGCTAATG
 CACAAACAGTCTATACAGATTACAAAAATGCTCGAATCTCACTTGTTCAGACAAAACTCAACTTCAAGAAAGCTAAAAAT
 AGATTAGAAAAAGTATTAACCAACAACAGATTAAGACGCTGACCTCAAGATTGCTTAAACATTAATTAAGTCAAGC
 AGCAAAAGCTAGACAAAACTTGAAAAAATATCTAAAGTTTAAAGTGTCAACCTTACTGTAGCTGAAATTAAGACAAAA
 CAGATCAAGCAAAATGACATAAAACAGCTTAAACAGCTGACAGCTTCAACTTACATTAAATAGAGAGCCATATATCAAT
 CATATTAAATAAGTAAAGCTTAAATAAGCGCAAAAGATAATTTAAAGCTCAAGTTAACTCAGCACTTAAAGTCAAT
 TACTTTAGAAACGATTAAAAATAAGGCTGATCTTTAAATCAATCTATGACAGCATTAAGTGAAGATTGACAGATTACG
 AAAATCAAAAACACAGAGAAATTTATAGATGATCTAACAAATAACGCTCAAGACTATGCAATGCAAGTCAATGCGGCT
 AAAAGTATTTAAACCAACTCAAGTCCGACAAATGAGTGTGATGATTGATCAAAAAGCTGAAGATGTTAAACGCTAC
 GAAAACCTGCTTATAGTGGAAATCAAGATTAGAAAGTGTCAAAACCAAGCACTTAATCAATTTAAATACCTTAAATGAT
 TAAACGATGCTCAGCGACAACTTTAACTGATCTATAATCACTCTCCAAACATCAATTCAGTGAATCAAGCTAAAGAA
 AAAGCTAATCTGTTAACACAGCAATGACTCAACTGAACAAACTATTGCTAACTATGACGATGAATTAACCTTAAAGT
 TTACATTAAATGAGATAAGACAAAAAGTGTCTATAACAAAGCTGTTAAACATGCTAAACAACTGATTAAATCAATCTG
 ATGCTAAATCAAGCACAATTTGATCAAGCTGAAATTAATAAAGTTACACAAAGAGTCAATACGACTAAAAATGATCTAAAT
 GGTAAATGACAAATGCTGAGCTAAAGAGATGCTAATCAACCAATGATGGTTAACTTATCTAAATGAGGCTCAACG
 TAACAAAGCTAAAGAAATGATAGGCAAGCTTCTACAAAACAAATATTACGAGTCAAGTTACAAAGTTACAAATCAATG
 ATATTGCTATGCAAGCATTACGTAACAGTGTGAACGAGCTAAACAATGTTAAAGCAATAGCAATTAATTAATGAAGAT
 AATGCTCAAAAGAGGCTTACAACTCAAGCGTTACTCATCTCAACATTAATAAATGCACAATCTAACCTGAAATGAG
 CCGTACAGTATGTAATCAAAAACACAGCAGTAAATTAATGCTCAAGATTTACATGACACAAAAAGTTAGAACAG
 CACAAAGTATGCTAATACAGAAATCGGTAACCTTACCAACTTAACTAATTAATCAAAAGCTAAAGAAAGGAACTGCTA
 AATAGTAAACAACTGCTACGGAAGTACAGAAACAACTTAAACAGCTAAGTCACTAGATAGTTCTATGCGCAGTTAA
 ATCAATTAGTTGCTAAACAACTTACAGTACAAAAACAAAGTGTCTATATTAAAGAGATCAACCTGAGCAATCTGCTACA
 ATGATTCCATTACAATGGGACAACTATAATTAATAAAGCAGCTGATCCAGTACTTGTATAAACTTTAATGATTAACGCA
 ACTTAATACATTAGCTGATTTAAACACACCTCAGAAAGAGGCTATTAAACAGCTATTAAACACTGCTCATACAAGAACTG
 ATGTAATGCAAGCAAGTAAAGCTAATCAAAATAATAGTGCATGCAACAGCTTGAACAAAACTTAAACAGGAACTTAA
 TCAGTAACAAAGCAAGTAAATTAATTAAGCTGAAACCCAAACAAACATGCTTTACTGAGGCTCTAAATTAATGCTAA
 AGAAATAGTTAATGAACAACAAGCCACTCTTGATGCCAATTCATTAACCAAAAGCACAAGCGATTCTTACTACTAAAA
 ATGCTTTAGATGCTGAAGAACAAATACGTCGTGCTAAAGAAATGCGCATCAAGAAATCAATACGTTAAATCAATGACT
 GATGCGCAAGAAATAGTGAAAGAGTTTATGCAACAGTTCTCAAACTAGAACAGAGTTGCTTCTCAATTAAGCAAAAGC
 TAAAGAACTAAATAAGGTGATGGAACAATGAAATCACTTATCAATGCTAAAAACCAATGATAAATAGCAGTAAATTTA
 TCAATGAAGATGCGAACCAACAACAAGCATATTCAATGCGATTGCAAGTGCAAGCGCTTAAAAACAATCACAACAAAC
 CCTGATTAAGTAAAGTAAACAAATTAACAAAGCAATTAATTAATTAATTTCTGCAATTAACAACTTAAACGGTGAAGCTAA
 ACTGACTAAAGCTAAAGAGATGCTGTTGCTTCAATAAACAACTAAGCGGATTAAACAAAGAGCAAAAAACAAAGAAA
 ATCAAGCGCTTAAATGGGCTCAAACTAGAGACCAAGTGTCTAATAAATTAAGTGTGCTGAAGCATTAAGTCAATCAATG
 CAACATTACGCTGACTTAGTTAACAATCAAAATGCAATACATTCAACAAGTAAATTTAAACGAGATTCAACTCAAAA
 GAATACTTATGATAATGCAATGATAATGGCTGACATATATAACTGCTCAACCAATCCAGAAATTAATTAATCTACTA
 TTGATCAAAAGATTAGCGAATTAACACAGCTAAAAATGATTTACATGCTGTAAGAAAGTTACAAAGAGATAAGGGAAC
 GCTAATCAAGAAATGGAACAATTAGGTTAATTAATGACCTCAAAAACTGCTGAGGAATCTTACTCAACGCTTCAAA
 TACACGCTTCTGAAGTGAAGAGCATCTTAATGAAGCTAAATCAATTAATTAATGCAATGAAGCAATTAAGAGATAAGGAG
 CTGAAAGACTAATGTCAAACAAAGTAGCGATTACATTAAATGATTCAACTGAACATCAACGCTGGGATGATCAAGCACTT
 CAAGAGCAGAAAAATATTAAATGAATCGGTAATCCAACTTAAATTAATCGGAAATGAACAAAGTTCAACAATTA
 GACTGACCGCTCAAAATGCGTTACAAGGTTCACTCTATTAGAAGAGCTAAJAAATAATGCCAATTACGAAATCAATTAAC
 TTACAGCATTAATGATGCAACAGCTCAAAAGCAATTAATTAATGCTCAAGCAGCAGCAATCCAGCAGTTAATCAAA
 CAATTAACCTTTGATAGAGAAATAAATACTGCAATGCAAGCTTTACGAGATAAAGTAGGCCAACAAATAACGTTCAACA

2/10

GAATTAGCTAAACCAATCGTTAATACTATGCTCCAACCAAGCAAGTATTAATTATATTACGCCGATAACCTACGCA
 AGATAACTTTACTCAAGCTATCAACATGCAAGTGTGCACTCAACAAAACCTCAAGGTCAGAACTTAGATTTCATGCAA
 TTGATACATTTAAAGATGATATATCAAACTAAAGATGCACTTAACGGTATGAACTTTAACAGCTGCAAAATCAAAA
 GCAGAAAACTAATTGATAGTTTAAATTTATTAATAAGCTCAATTCACACATGCAAAATGATGAAATTATGAATACTAA
 TTCTATTGACAAATTGCTAGAACTGTAATCAAGCATTTGATTTAAATGATGCAATGAAATCTTTAAGAGATGAACCTTA
 ATAACTCAAGCTTTTCCTGTCCAAGCAAGCTCAAAATTATATAAATTCAGATGAAATTTAAACCAACAAATTGACCATGCT
 TTAAGTAATGCTCGAAAAGTTCTTGCAAAAGAAAATGTTAAAAATTTAGATGAAAACAAAATTCAGGGACTCAAAACAGT
 GATTGAGGATACTAAAGATGCTTTAAATGGTATCCAAGCTTTATCAAAAGCTAAAGCTAAAGCAATTCATATGATCAAT
 CTTTATCTTATATCAATGATGCAAGCTCATATTGCTGAAAATAATATTCACAACCTGATGATTTATCATCTTTAGCA
 AATACATTTATCAAAAGCTAGTGTATTAGATAAATGCAATGAAAGACTTACGAGATACTATAGAAAAGTAAATCAACTTCTGT
 TCCAAATAGTGTGAATTTATTAATGCTGATAAGAATTTACAAATGAAATTTGATGAGGCGCTACAAACAGCAAGTGC
 CAAGTTCTAAAACTTCAGAAAATCCAGCAACGATTGAAGAAGTATTAGGCTTTAGTCAAGCCATTTACGATACAAAAAT
 GCATTAATGTTGAAACCAAGCTTGCAACTGAGAACAGCAAGATCTAAATTAATAAAGGATTTAAAGATTTAAATTA
 AGCACAACCTGAAAGATGTCACAAACAGGTAAATTCAGCAATACTTTAACAGAGTTATCTCAGCTCACTCAATCAACCT
 TAGAATTAACGATATAAAATGAATTTATTGAGAGATAAGCTTAAACTTTAGTAAATCTCTTTAAAGCAAGTTTAAATTA
 AGAAACGCTGATTTAATTTAAACGCTCAATTTAACCAAGCTTTAAAGAGAGCTAAAGGCTATTAATTAATAATAGCGG
 TACAAATGTCATATCAATGCAATTCACATCTTTAACCAATAGATAATGCTAAAGACCAATTAATGCTGATGAAAT
 GCTTAAAGAACATCAACAAAAATCTGAAGTATTTATTATTAAAGATTAGATATCTTAATTAATGCTCAAAAAGCTGCA
 ATAAATTAATCAGATTAGAGCGTCTAAAGACATTAATAATTAATCAAAATCGTTGATTAATGCAATAGAAATTAATGATGC
 TATGCAAGGTTTAAAGAACATGTAAGCTCAATTAACAGCAACTACAAAGACAAACATTGAATTTTAAATGCTGATGAAG
 ACCATTAATTAACATATGATTACGCTATCAACTTAGCGAATAATGTTCTTGACAAAGAAAACGGTACAAATTAAGAGCGCT
 AATATCATTAATGGAATGATTCAAAACATGATGATGCTAGAGCACTTCTAAATGGAATTTGAAGAGCTTAAAGATGCTCA
 AACAAAAGCACATAATGACATTAAGATACGCTCAAGCTCAACTTGTGAAATTTGAACACGCTAATGCAACATCAAAAT
 CTAAAGCTCAAGCTAAACCAAAATGTTAAATGAGGAAGCTAGAAAAGCGCTTTCTTAATTAATGACGCAACATCAATGAT
 TTAGTTAATCAAGCAAAAGATGAAGGCAATCTGCAATTTGAACACATACATGAGATGAATTAACCTAAAGCAAACTAGA
 TGCTAATCAAAATGATTGACCAAAAGTTGAAGATATAAATCACTTAATTAAGTCAAAATTCACAACTTATCAAAATGAAGAA
 AAAATTAACCTAATATCTCAATTAATAGTTAGTAAATGAAATTAAGAAATGAATTTCAACAAAGCTTAACCAAAACAA
 ATAGAAAATGCTACAAACAAACCTAGATGAAGTCAATGAAGACTACTAAAAATTAATTAATGCAAAAGCAAGCTAAAC
 AATGATAAAGAGTTATCAACAAAGAAACGAGATGCAATTAATTAACCAACTGATTTAAACAGCTTCTCAAAAGCACATG
 CTTTAGCGATATTTGATTAACCAAGAAAGATGCACTTCAACATATCGAAAATTTCAATTAATGATGATATCAATTAAC
 AATTAAGAGCATGCAATTAATAGTTTAGCTCATATCATTTATTGGGATAGTATGATGCAACCACTTAGTTTATTGAACCTACC
 TGAATTTGAGCTTCAAAATGCTCTAGTAACAGTGAAGCGGTTGTTTCACAGAGATGAAGCTATTTCATTAGAACTCTATA
 TTGGAGCTATGACTTTAACTGATGAAGTTAAAGTCAATATTGTTTCAATACGAAACACTGATAAAGTGAAGTGAATCACTA
 ACOGCTAAAGTTAAGGTTATTTAGCTGATGGCTCATATGTCACATGTAATGTTCCAGTCAAAAGTTGTAGAAAAGAAAT
 ACAAAATAGCTAAAAAGGATGCTATAAAACAAATGATGCTCTGTTAAAAACAAAAATCAAGATATAGATTCTAATAAG
 AATTAAAGCTTACTCAACGTAAGATGCAAAAGCTGAAATTTGAAGATTTGAAAAGCAAGCCATCGATAAATGAACTAT
 TCAAAATCGATTAAAGATATTGAACAGTAAACCAAGCTGATTTGAAGAAATAGATCAGTTTGATCTCAACGCTTTAC
 GCTAAATTAAGCTAAAAAGGATATCAATAGTATTAATCACTCAAAATCAAAATGTTTCAAGAAATTTGAACAAATTA
 AAGGTTTAACTTCTAATGAAAAACTCAGTTTGATTAACCAATTAAGTCACTACAAAAAGAAATTTTAGAAAAAGTCAAG
 CATGCTATAATTTAGTAGAATTAATCAATTAACCAAGAGTTTAATTAATAGATATAACATATTTTAAACCAAGCACA
 TTTACTAGGTTGAAAAACATATAGCAGAACATAAATTAAGATATGTTGATAGTAAACAAACTCAGCAAAATCTAATATC
 AATCTGCTTCTTACTTTATAAAACAAATGCGCACTTGATAGAAATTAACAAATTTCAACTAGAAAGGATGAATTCATTTCT
 GGTGCGCATACCGTACAGATGTACACAAAGCATTATTACAGGTTATAGAGCAATCTTGAAAGTAAATGTAAGTATTAT
 AATCAATCTTTCAACGATTCCTTGCAATACTTTAATTTATCTTCATTCAAAATTTGATGCTAGATTAGAGAAAGGATG
 TTGCAAAACATATCGTACAACTGAACATTTCAAGAAATTTCAAGGAACGCGTGTGAAACGATGAAATCAACAAA
 GAAACACAGCAACCAAACTTCAAGAAATGATAATGAAGCTTATCAAACTTTAGTTGATTAATTTGCAAAACTGT
 AGGTGTTATTACATTAACTGTTTACTTTCTAGTTTCTGTTTAAATTTGGCTAAAGAGAGTAAAGAAAGAAAGAA
 AACAAATCGATAAAAAATCATCACAAAGATATTCGTTCTTCAAGATGATAAATAGATCCAAATGTAATTAACCTAAGCGT
 AAAATAGATAAAGAAAGAACAAATTCAAACGATGACAAACATTCATTTCAATTTGCTAAACATAAGAAATCTAAAGAAA
 GCAATTAGTGAAGAGGATATTCATTCATTCCTGCTGTTAAGCGTAAACCAAAACAGTGAATACAAAGATACAAACAGA
 AGAAAGTTACTTCTAAAGAAAGAAACCGCTCAGTCAACTAAAAAGTTGTAAAAACCAAAAGCGTTCTAAAAAG

SEQ ID NO. 49 secuencia de polinucleótido

ATGAGAGATAGAAAGGACCGGTAAATAAAGAGTAGAATTCTATCAAAATAAATGAAATAAATATTCAATAAGAAAAAT
 TACAGTTGGAACAGCATCTATTTAATTTGGCTCACTAAATGATTTGGGAACTCAACAAAGAGCAGAGCGCTGAAACCA
 ATATTGAGAAATCCAACATCAATTAAGATTAATGTCCAATCAAAAGAAATGAAAGATTGAAGAAATCAACAAACAAAGACCT
 GCACCACAAGGTTAGAGCTAAATCTGAAGTAACTTCAACCAAGACACAATCGAACATGAAGCATCAATTAAGCTGA
 AGATATATCAAAAAAGGAGGATACACCAAAAGAGTAGCTAATGTTGCTGAAGTTTCAAGCGAAATCGTCACTCATTA
 ACGCAGAGGCACCTAAGGTTAGAAAAGCTGTTCTGTTGATGAAGGCTCTTTTGATATTACAAAGAGATTCTAAAAATGTA
 GTTGAATCTACCCCAATTACAAATCAAGGTAAGAAACATTTGAAGGTTACGGAAGTGTGATATACAAAAAACCCCAAC
 AGATTTAGCGGTATCAGAGGTAACCAAGTTTAAATGTTGATTAAGTAAATGTTGATAGGAGCTTTACAAATTAATAA

GAACCGACCGAAGAGGTAGCCAAAGAGGACGTTCCAGGTAAACCAAGAGTTAAAAATCCTGATACAGCGGAAGTAGTGCACAC
CACCAGTGGATGATGTGACAAAATATGTTCCAGTTGATGAGAGATCCGATTACGTCAGCGGAAGAAATTCGTTTGTATAA
AACCGCAATTTGATGCCAAACTTAGCGCCAGGTACAGGAAAGTGTTCCAAAGAGGTGAACCGGAACCAAAAACAATTA
AAACCAACAACATTAAGAACCCATTAAACAGGAGAAAAAGTTGGCGAAGGTGAACCAACGAAAAAATTAACAAAAACAACCG
TGGATGAAATCGTTTCATTATGGTGGCGAAGAAATCAAGCCAGGCCATTAAAGATGAAATTTGATCCGAACGACCGAAGAGT
AGCCAAAGGAGACGTTCCAGGTAAAGCCAGAGGTTAAAAATCTCTGATACAGGCCAAAGTAGTGCACACCCCAAGTGGATGATG
GACAAAATATGTTCCAGTTGATGAGATCCGATTGCGTCAACCGGAAGAAATTCATTGCAACGAAACCGTGAATTCATCT
CTGATTTAAACAGTGTGAAGAGCGCTGTTAAACAAAAGGTGAACCAAGAAATTAACAAAACCAAGCGTGGATGAAATCGTTCA
AACCCATTAAACAGGGGAAAAAGTTGGCGGAGGTGAACCAACGAAAAAGTAAACAAAACCAAGCGTGGATGAAATCGTTCA
TTATGGTGGCGAAGAAATCAAGCCAGGCATTAAGGATGAAATTTGATCCAAATGCACCGAAGAGTGGCCAGAGACGCTTC
CAGGTAACCCAGGAAATTAACAAACCTGTATACAGGGCAAGTAGTTACTCCACCAGTGGATGATGTGACAAAATATGGTCCA
GTTGATGAGGATCCGATTACGTCACCGGAAGAAATTCGTTTGTATAAAAACCGCAATTTGATCCAAACTTAGCGCCAG
TACAGGATGAGGATCGTTCAAAGAGGTGAACCCAGGAAACAAAACAATTAACACCAACCAACTAAGAACCCATTAAAGGAG
AAAAAGTTGGCGAAGTGAAGCAACCAAGAAAAATTAACAAACCAACCGTGGATGAGATCGTTTCATTATGGTGGCGAAGAA
ATCAAGCCAGGCCATTAAGGATGAAATTTGATCCGAACGCGACGGAAGAGTAGTCAACACCGCAACCGGTTAAGCCAGGAGT
TAAAAATCCTGATACAGGCGGAAGTAGTCACACCAAGTGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
TTACGTCACCGGAAGAAATTCGTTTGTATAAAAACCGCAATTTGATCCAAACTTAGCGCCAGTACAGGAAAGTGGTTC
CAAAAGGTGAACCCAGGAAACAAAACAATTAACACCGCAACCACTAAGAACCCATTAAACAGGAGAAAAAGTTGGCGAAG
TGAACCCAGGAAAAAATTAACAAAACAACCAAGTGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
AAGATGAAATTTGATCCAAATGCACCTGTAGATGATTAACACTGAAATTCAGGTAACCGAAGGTAAAAATCCTGATACA
GGTGAAGTTGTTTACCCCAACGAGTGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
GATTCATTGATTAAGAAACGTTATTTAATCTCTGATTTAAACAGCGGTGAAGAGCGCGTTAAACAAAAGGTGAACCG
GAACAAAAACAATTAACACCAACCAATTTAGTTATGTTATTCATACAGGAGAAAAAGTTGGCGAAGTTAAACGAAAAA
GTCTACTAAACCACTGTTGACGAAATTTGTAGTATGCTTCCAAACCAAGCAGAACCAAGTAAACCGGGAACCGAGTTAA
ACCGCGGAACCGAGTAAACCGCGGAACCAAGTAAACCAACCGGAACCGAGTAAACCGGAACCGAGTAAACCGGAACCGAG
AACCGAGTAAACCGGGAACCAAGTAAACCGGGAACCGAGTAAACCGGGAACCGAGTAAACCGGGAACCGAGTAAACCGGGA
ACGCGAGCAAGCAAGTAAACCGCGGAACCAAGTAAACCAACCGGAACCGAGTAAACCGGGAACCGAGTAAACCGGGAACCGAG
AGAACCGAGTAAACCGCGGAACCAAGTACCGCAGCAGAACCGAGTAAACCAACCGGAACCGAGTACGCCAACCAATCAG
GTGCGACAGCAACCAATAGATCAATGCAATTCACAGATAATAAAATCAATTAACCTGATACAGGTGAAAAATCGTTCAA
GCTAATGAGGGAACCTTTAGTCGATCTCTATTAGCAATTTGTCGATCATTTTTCATATTTGGTCGTGAAAAAGGTAAT
TGAAAAATAA

SEQ ID NO 51 secuencia de polinucleótido

ATGAAGAAACTATATACATCTTATGGCACTTATGGATTTTACATCAAAATAAAATCAATAACCGGACCCATCAACTATT
CCAAITTTTCAGCATCAGATACTCTCAGTATTATTTGAAGAAACTGATGGTGAGACTGTTTTAAAATCACTTTCAATATATG
AAGTATTAAAGAAATGGTGAATCTCACTGGAACATCATTTCTATTGTGCAATCTTCATCTTCAACCAAGATCATGATGA
TATCAATTTTAAAAGAAAGACTGATTAACTGAGACGATAATTTTCAGAAACTTTGGTGGCTTTAAAAGCTATCGTTTGGTTAAG
ACCTGCTAAAGGTCACAACATATAAAATTTATTTGGGATTTGCTGATCGACATGCATACGGAAGACTTTAAGCAATCTGATG
CCTTTAATGACCAATTTTCAAAGACACCATTAAGTCATTACTTTGGTTCAAGCGGACCAACATCTCAAGTTATTTGAAGA
TATCTATAACCCAAATAAAGATAG

SEQ ID NO 52 secuencia de polinucleótido

ATGTATTATATACACTCTATGGGACTTACCAATTTTAAATCAAATTAACCTTAATCATCAAGAACGTAGTTTATTTC
AATTTCCACTAATGATTCCTCAATTAATCTTAGAAGAGCTGAGGGGAAATCAATCTTAAACACTCTTAGTGCATATCAAG
TGATTTAGTACAGCAGGTGAATTTAAGCAACATCATTTTATAGTCTATTTTTGTGCTTACATCTGAAGATCATCGTCAA
CAGCTGATGAGAAAAATTTACTCTGTAGACGTACCTTTAAGAAATTTTGTGTTTAAAGCTATCGTTTATTAAAGC
CACTGAGGGGTCTACCTACAAAATTTACTTTGCTTTGCAAAATCGAACAGCATATGAAGATTTCAAAGCTTCTGATATAT
TTATATCCAAATCTTTCAAAGATGCATTAAGCCAATCTTTGTGCTAGTGGTCAACATCTTAGCTACTTTGAAGATAT
TTATATCCAAATAGAAAGATCATTA

SEQ ID NO: 53 secuencia de polinucleótido

ATGATTAAACGGGATAATAAAAGCCAAATAACAAAAAAGGOTATGATTTCAATTCGCTTAAACAAATTTTCGATTAGAAA
GTATACCTGTAGGAACTGCATCGATTTTAGTAGGTACGACATTGATTTTGGTCTAGGGAACCAAGAGCTAAAGCTGCTG
AAACACTTAATACAGAAAAATCGAAACAGATGATGCAACGACTAGTGATAATAAAGAAAGTAGTGTTCGGAAGCTGAAAAAT
AATTCGACACAGAAAAATGATTTCAACAAATCCAAATTAAGAAAGAAACAAATAGTAATTCACACAGGAAGCTAAAGAGA
ATCACTACATCAAGTATCTCAACAAACGAAAAATACGTTTTCACGCTCAACTGAACTAAAGCTCAAAACATTGAAAAAG
AAAAATGTTAAACCTTCAACTGATAAACTTCGACAGAGATACATCTGTTTATTTAGAGAGAGAAAGAAACCAACCAATAT
ACAAATAACGATGTAACTACAAACCACTTCAACAGTGAATTCGAACAAACCAACTACACTCAAGAACTACAAATAT
TGAATAATCTCAACCGCAACCGCTTCAAAAGTAGCAATCAAGTTACAGATGCACTAATCCAAAGAAAGCAAGTAA
ATGTGTCAAAGAGAAACTTAAATAATCTCTAGRAAATTAAGAAGATTAGTTAGAAATGATAACAAATACAGATCTTCA

ACTAAACCAAGTTGCTACAGCTCCAACAAGTGTTCACCAAAACGATTAAATGCGAAAAATCCGTTTTCAGTTGACAAACC
 AGCAGCAGTTGCTTCAAAATTAATGTAATGACTTAATTACAGTTAGGAAACAGAGGATCAAAAGTTGCGGATGTTAAAGATA
 ATGTGTCAGCAGCGCATGACGGTAAAGATATTGAATATGATACAGAGTTTACAAATTGACAAATAAGTCAAAAAAGGCGAT
 ACAATGACGATTAAATTATGATAAAGATGTAATTCCTTCGGATTAAACAGATAAAAAATGATCCTATCGATATTACGATCC
 ATCAGGACAGGTCATTGCCAAAGCAACATTGATAAAGCGACTAAGCAAAATCACATATACATTTACAGATTATGTAGATA
 AATATGAAGATATAAAAGCACGTTTAACTTTATACTCATATGATTAAGCAAGCAGTACCTAATGAAACTAGTTTGAAT
 TTAACGTTTGCACAGCAGGTAAAGAACTAGCCAAACGTTTCGTTGATTATCAAGACCCAAATGCTTCATGCTGATTC
 AAACATTTCAATCTATCTTTACAAAGTTAGATGAAAAACAAACAACTATTGAACAAACAAATTTATGTTAATCCTTTGAAAA
 AAACAGCAACTAACACTAAAGTTGATATAGCTGGTAGTCAAGTAGATGATTATGAAAAATTTAAACTAGCAAAATGCTAGT
 ACCATTATGACCAAAATACAGAAATAAAAGTTTATAAAGTTAACCTTAATCAACAATTCCTCAAAGTAATAGAAATCTA
 TGATTTAGTCAATACAAAGATGTAACAGTCAATTTGATAATAAAAATCATTTAGTAATAATGACCAACATTGGATT
 TTGGTGATATTAAATTCAGCCTATATTATCAAGTTGTTAGTAAATATACACCTACATCAGATGCGCAACTAGATATTGCT
 CAGGTACTAGTATGAAGCAACTGATATAATATGTTATTATAATTATGACAGATATTCAAACTTCATCTGTAACCTTCTAA
 TGACACTGCGGTGCGACGCTACTGTTAAACCTGAGGAAAAGTTATACAAATTTGCTGACTATGATGCGAAGACGTTG
 ATAAAGACGGTGTCCAAAGTACAGATTGCAAGGAAAAGCTTAATGCAAGCTTTAGTTACATTAACTTACCCGACGCT
 ACTACAAATCAGTAAAGACAGATCTTAACGCTATTATGAAATTCGAACTGATGOTGAAAAGACTCAAATGCTAGTTCTA
 ATTCGAAACCCGAGCTGGATATCTTCCAACAAAGTAAATGGAACAACTGATGOTGAAAAGACTCAAATGCTAGTTCTA
 TAACGTTTAAATTAATGTTAAAGATGATATGCTTTAGACACTGCTTATATAAGAACCTTAAATATACTTCTGCTGAC
 AGATTTAGTCAATACAAAGATGATATGCTTTAGACACTGCTTATATAAGAACCTTAAATATACTTCTGCTGAC
 ACTATACAGTAAATTTGAAACACCCAGCAGTTACACGCGAACGTTTAAATACTACAGCTGAAAGATAAGATTTCTAAT
 GOTTAAACAAACAGGTTGCTTAAAGATGCAAGATAATGACATTAGACAGTGTTCATATAAAACACCCAAATACAG
 TTAGGTTATTTGCTAGCAGTAAATAAGACGGTAAACAAGATTCAACTGAAAAGGTTATCAAAGATTTTAAAG
 TTACTTTATTAATGAAAAGGCGCAAGTAAATGGAACAACTAAACAGATGAAAATGOTAAATATCTTTGCTGATTTA
 GATAGCGGTAAATACAAAGTTATTTTGAAGGCTGCTGCTTAAACAAACAGTTTACAAATACAACTGAAAGATGATAA
 AGATGCGGATGCTGCGCAAGTTGACGTAACAAATTACGATGATGATTTTCACTTTGATTAACGGTACTTCGAGAGAG
 ATACATCAGACAGTGTATTCAGACTCAGACAGTGTATTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTGACAGAGTGTATTCAGACTCA
 GATAGGATTCAGATTGACAGAGCGACTCAGACTCAGAGTGTATTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTGACAGAGTGTATTCAGACTCA
 CTCAGATTGCGACAGGATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATTGACAGAGCGACTCAGATTGACAGAGTGTATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATT
 CAGACAGTGTATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATTGACAGAGCGACTCAGATTGACAGAGTGTATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATT
 GACTCAGATTGCGACAGTGTATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATTGACAGAGCGACTCAGATTGACAGAGTGTATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATT
 CTCAGACTGATTTGACACTCAGATAGCGATTGCGACTCAGATTGACAGAGCGACTCAGATTGACAGAGTGTATTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATT
 CTAAAGACCATCAAAATAAGCAAAAGCATTAACAGAAACAGGTAGTGAATAAACGGCTCAAATAACGCAACGCTTATTT
 GGTGGATTATTTGACAGCATTAGGTTTCATTATGTTATTCGCTGCTGCGAAAAACAAACAAATAA

SEQ ID NO 54 secuencia de polinucleótido

ATGATTAAATAAAAAAATATTACTAACTAAAAAGAAACCTATAGCAAAATAAATCCAAATAAATGCAATTAGAAAAAT
 CACAGTAGGTACAGCGCTATTGTAATAGGTGCAACATTATGTTTGGTTTAGGTCATAATGAGGCCAAAGCCGAGGAGA
 ATTCAGTACAAGACGTTAAAGATTGGAATACGGATGATGAATATCAGACAGCAATGATCAGTCTAOTGATGAAGAAAAG
 AATGATGTGATCAATAATAATCAGTCAATAAACACCGACGATAATAACCAAAATATTAAAAAGAGAAACGAATAACTA
 CGATGGCATAGAAAAAGCGTCAGAAAGATAGAACAGAGTCAACAACAAATGATAGTGAAGAACGAAACAACTTTTACAAA
 AGACCCCTCAAGATAATACTCACTTACAGAAAGAGAGGTAAGAAATCCTCATCAGTGGATCCTCAAATTCATCAATT
 GATACTGCGCAACCAACCATCTCACACAACTAAATAGAGAGAAATCTGTTCAAACAAGTGATAATGAGAGAGATTCA
 COTATCAGATTTTCTAACTCTAAATAAAGAGAGTAACTGATCTGTTAAAGAGAGAGAAATCTATAGAGCAACCTA
 ATAAAGTAAAGAGAGATTCAACAACAAGTCAGCGCTGCGCTATACAAATATAGATGAAAAAATTTCAAATCAAGATGAG
 TTATTAAATTTACCAATTAATGAAATGAAAAATAAGGCTAGACCATTATCTACAACTCTGCCAACCATGATTAAGCG
 TGTAAACCGTAAATCAATTAGCGCGGAACAAGGTTGAAATGTTAATCATTTAATTAAAGTTACTGATCAAAGTATTACTG
 AAGGATATGATGATAGTGAAGGTTTATTAAAGCACATGA:GCTGAAAACCTTAATCTATGATGTAACCTTTGAAAGTAGAT
 GATAAGGTGAAATCTGCTGATACGATGACAGTGGATATAGATAAGAAATACAGTTCCATCAGATTTAACCGATAGCTTTAC
 AATACCAAAAAATAAAGATAATCTGGAGAAATCATCCTACAGGTACTTATGATAACAAATAAACAATCACCTATA
 CTTTACAGATTATGATAGATAAGTATGAAAAATTAAGCACACCTTAAATTAAGTATACATTGATAAATCAAGGTT
 CCAAAATAATACCAAGTTAGATGATAGAAATATAAAGCGGCCCTTTCATCAGTAAATAAAACAATTACGGTTGAATATCA
 AAGACCTAAAGAAAAATCGGACTGTAACCTTCAAAGTATGTTTACAACATAGATAAGAAAAATCATACAGTTGAGCAAA
 CGATTTATATTAAACCTCTTCGTTATTCAAGCAAGGAAACAAATGTAATATTTCAAGGAAATGOTGATGAAGGTTCAACA
 ATTATAGACGATAGCACAAATAATTAAAGTTTATAAGGTTGCAGATAATCAAAATTTACCAAGATAGTAACAGAAATTTATGA
 TTACAGTGAATATGAAGATGTCACAAATGATGATTATGCCAATTAGGAAATAAATGATGTAATTTAATTTTGGTA
 ATATAGATTACCATATATATTAAAGTTATTAGTAATAAGACCTTAATAAGGATGATTACAGGACTATACAGCAAACT
 GTGACAAATGACAGGACTATAAATGAGTATCTGGTGAATTTAGAACAGCATCTATGATAATAACAATTGCTTTCTCTAC
 AAGTTCAAGGTCAAGGACAAAGGTGACTTGCCTCTGAAAAAATCTATAAATCGGAGATTACGATGCGAAGATGATAGATA
 AAGATGCTATTCAAAATACAAATGATAATGAAAAACCGCTTAATTAATGATTTGTTAACTTTGACGATATCTGATGAACT
 TCAAAATCAGTCAGAACAGATGAAGATGGAATAATCAATTTGATGATTTGAAAAACCGATTGACTTATAAATTTACATT

CGAAACACCTGAAGGATATACCCGACGCTTAAACATTCA3GAACAAATCCTGCACTAGACTCAGAAGGTAATTCGTAT
GGGTAACTATTAATGGACAAGACGATATGACGATTGATAGTGGATTTTATCAAAACACCTAAATACAGCTTAGGGAACATAT
GTATGGTATGACACTAATAAAGATGOTATTCAAGGTGATGATGAAAAAGGAATCTCTGGAGTTAAAGTGACGTTAAAGA
TGAAAAACGGAAATATCATTAGTACAACTACAACCGATGAAAAATGGAAGTATCAATTTGATTAATTTAAATAGTGGTAAT
ATATTGTTTCAATTTGATAAA CCTTCAGGTATGACTCAAAACAAACAGATTTCTGGTGTATGATGACGAAACAGGATGCTGAT
GGGGAAGAAGTTTATGTAAACAATTAAGTATGATGATGACTTTAGTATAGATAACGGATACTATGATGACGAATCGGATTTC
CGATAGTGACTCAGACAGCGACTCAGATTCCGATAGTGATTCAGACTCCGATAGCGACTCGGATTTCAGACAGCGACTCAG
ATTTCAGACAGCGACTCGGATTCTGATAGCGACTCGGATTTCAGACAGCGACTCAGACTCAGACAGTGAATTCAGATTTCAGAC
AGCGACTCAGATTCCGATAGTGATTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTCTGATAGTGATTTCAGACTCAGACAGTGAATTC
AGATTTCAGACAGCGACTCAGATTCCGATAGTGATTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTCCGATAGTGATTTCAGACTCAG
ACAGCGACTCAGATTCTGATAGTGATTTCAGACTCAGACAGTGAATTCAGATTCCGATAGTGATTTCAGACTCAGACAGTGA
TCAGACTCCGATAGTGACTCAGATTCTGATAGTGATTTCAGACTCAGACAGTGAATTCGATTCCGATAGTGATTTCAGACTC
AGACAGCGACTCAGATTCTGATAGTGATTTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTTCAGCAATAGCTCAGATAGGATGACAA
AAGATAAATTAACCTGATACAGGAGCTAATGAAGATTATGGCTCTAAAGGCAGCTTACTTGGAACTCTGTTTCAGGTTTA
CGAGCGTTATTATTAGGGAAACGTCGCAAAAATAGAAAAATAAAAATTAA

SEQ ID NO 55 secuencia de polinucleótido

ATGTCTAATAATTTTAAVAGTACTTTGAAAAAAATCGTCAATCGATAGACACAAATTCACATCAAGACCATACGGAAGA
TGTGAAAAAGACCAATCAGATTAGAACATCAGGATACAAATAGAGAATACGGAGCAACAGTTTCGCGCAAGAAATGCCC
AAGAAGAAAAAGACGCGGTGATTGACCAAGCAATCAATAAACAAGTTTCACATGAATTCACAAACATCTGAAGACAA
GTTCAAAATGAGGCTGGCACAATAGATGATCGTCAAGTCGAATTCATCACACAGTACTGAAAGTCAAGAACCTAGCCATCA
AGACAGTACACCTCAACATGAAGAGCAATATTATTAAGAAATGCTTTTGCAATGATTAATCAGATCCAGAACCAATCG
AAGACAATGATTAACACGAGACTATTAAAGATGCAGAAAAATACACTGAGCATTCAACAGTTTCTGATAGAGTATAGCT
GAACAATCTCAGCAACCTAAACCAATATTTGCAACAGGTGCTAACCAAGCAAAATACATCAAAAGATAAACAATGATGAT
AATGTTTAAACAGACAAAGATGAATCTAAAGATCATCATAGTGATGATAAAAGGCGCAGCAATTTGGTCTGGAACAGCGG
GCTGTTGCAAGGTGCGAGCTGGTCAATGGGTGTTTCTAAAGCTAAGAAACATTCAAATGACGCTCAAAACAAAAGTAAATCT
GACAGTCAATTAACTCGACTGAGGATTAAGCGTCTCAAGATAAGTCTAAAGATCATCAATGCGCAAAAAGGTGCGAGC
GATCGGTGCTGGAACAGCAGGTTTGGCTGGAGGCGCAGCAAGTAAAGTGCTTCTGCGGCTTCAAAACCAATGCTCTA
ATAATGCAAGCCAAACCAATGATGACATGACAAATCATGACAGATAAAGAACTGTAAGAAAGTGGCAGTGGCCAAAGTA
TTGTTACCAATTAATTCAGCTGTACTAATTATCGGTGATATAGCGATATTTGAGGCGATGGCATTAAACCAATCATATAA
TGGTACAAAAGAAAAATAAATCGCGAATCAAAATAAATAATGCTGATGAAAGTAAAGACAAAGACACATCTAAGAGCG
CTTCTAAGATTAATCAAAATCTACAGCAGTGATTAATCAAAAGAGGATCAAGACAAAGCGACTAAGATGAATCTGAT
AATGATCAAAACAAACCTAATCAAGCGAAACATCAAGCACAATAATCAAAATCAACAAAGCTAATCAAAATCAACA
ACAGCAACAACAGTCAAGGTGGTGGCCAAAGACATACAGTGAAATGGTCAAGAAACTTATACCGTATCGCAATTCAT
ACTACGGTTCAAGTTCAACGAAATGTTGAAAAAATTAGAGGTGCAATGGTTTAAAGTGATAACAATATTAGAAACGGT
CAACAAATCGTTATTCCATAA

SEQ ID NO. 56 secuencia de polinucleótido

GTGATTGAATTAATTAATAATGGAAGGATGATAGTGTGTCTAATAATAATTTTAAAGATGATTTGAAAAAGAAATCGTCA
ATCTATTAATCCAGACGAACAGCAAAACAGAAATTAAGAAAGATGATTAACCAAAATGAAAAATAAAAAAGAGCTGACTCTC
AAAACAGTTTATCTAATAACTCAAAATCAACAATTTCTCCGAGAAATGCCAACGACGAAAAAGACGTAGAGAGACAGCA
ACTAATCAAAGCAACAAACAGACGACAAACATCAAAAAATAGTGACGCTAAAACTACAGAAAGGTTCAATTAGATGACCG
TTATGACGAAGCACAGTTACAGCAACACATGATAAATCGCAACCAAAAAATAAACTGAAAAACAATCACAAGATAATA
GAATGAAAGATGGAAGATGACGCTATTGTAAATGGAACATCTGAGTCAACAGAACATAAATCAAAATCAACACAAAT
AGACCCGGCCCTAAAGCTCAACAACAAAGCGTAAATCAGAAAGTACGCAATCAAAACCGTCAACAAACAAAGATAAAAA
AGCAGCTACAGGTGCTGGAATAGCTGGTGCAGCTGGTGTGCTGGTGCAGCAGAAACATCCAAACGTCATCAATAAAAA
AAGATAAACAAGATTCTAAACACTCAAACCATGAGAAATGACGAAAAATCTGTTAAAAATGATGACCAAAAGCAATCTAAA
AAAGCAAAAAAGCAGCAGTCCGTGCTGGCGAGCTGCAGGAGTTGGTCCGGCTGGTGTGCGCATCAATAATCAAAA
TAAACATCATAATGAGGAAAAAATCTAATCAAAACAATCAGTACAATGACCAATCAGAGGTAAGAAAAAAGGTGGTT
TCATGAAAAATCTTGTACCCTTATAGCAGCCATCTTATTTAGGTGCAATAGCAATATTCGGTGGTATGGCTCTAAAT
AATCAACGATAGTAAAGTGATGACCAAAAAATAGCGAATCAAAATGAAAGAGCTCAGATAAAAAAGATGGTGGCA
ATCCGAAGATAACAAAGACAAAAATCTGATAGTAACAAAGACAAAAATCTGATTCTGATAAAGAACGAGATGATGACT
CTGATAATAGTTCTCTCAATCTTAAGCTACTTCACTAATAATAACGATAATGTAGCCAATTAATTAATCAAAATATACA
AACCAAAATCAACAAGATAATGCAACCAAAATAGCAATTAATCAACAGGCAACTCAAGGTCAACCAATCAGATACAGTATA
CGGTCAAGAAAACTTATATCGTATCGCCATACAATATTATGGAGAAGGAACTCAAGCTAACGTAGATAAAATTAACGTG
CGAATGGATTAGCAGTAATAATATTCAATATGGTCAACATTAGTTATTCCTCAATAA

SEQ ID NO 57 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAATAAATGTAGCAAAATCTTTATTAACAATAGCGGCAATGGTATTACTACAACCTACAATTCGCTCAACAGC
AGATGCGAGCGAAGGATACGGTCCAGAGAAAAAGAAACAGTGAGTATTAATCACAATATCCTAGAGTACAATGATGGTA

CTTTAAATATCAATCTAGACCAAAATTTAACTCAACACCTAAATATATTAAATTCAAACATGACTATAATATTTAGAA
TTTAAACGATGGTACATTCGAATATGGTGCACGTCCACAATTTAATAAACACAGCAGCGAAACTGATGCACTATTAAAAA
AGAACAAAAATTGATTCAAGCTCAAAATCTTGTGAGAGAATTTGAAAAACACATACTGTCAGTGCACACAGAAAAAGCAC
AAAAGGCAGTCAACTTAGTTTCGTTTGAATACAAAGTGAAGAAAAATGTTCTTACAAGACGGAATTGATAATCTATTAAAA
CAAGGATTAGTGAGATAA

SEQ ID NO: 58 secuencia de polinucleótido

ATGAACACCGTATAGTCAGCTCAGTAACAACAACACTATTGCTAGGTTCCATATTAAATGAATCCTGTCGCTAATGCCGC
AGATTCTGATATTAATATTAAAAACCGTACTACAGATACTGGAAAGCAATACTACAGTAAAAACAGGTGATTTAGTCACTT
ATGATAAAGAAATGGCATGCAAAAAAGTATTTTATAGTTTATCGATGATAAAAATCACAATAAAAAACTGCTAGTT
ATTAGAACGAAGGTACCATTTGCTGGTCAATATAGAGTTTATAGCGAAGAGGTGCTAACAAAAAGTGGTTTAGCCTGGCC
TTCAGCCTTTAAGCTACAGTTGCACTACCTGATAATGAAGTAGCTCAAAATCTGATTACTATCCAAAGAAATTCGATTO
ATACAAAGAGCTATATGAGTACTTTAAGTTATGGATTCAACGGTAATGTTACTGGTGATGATACAGAAATAATGGCGGC
CTTATTGGTGCAAAATGTTTGGATTGGTCACTACAGTGAATATGTTCAACCTGATTTCAAAACAATTTAGAGAGCCCAAC
TGATAAAAAAGTAGGCTGGAAAGTGATATTAACAATATGTTGAATCAAAATGGGGACCATATGATAGAGATTCTTGGGA
ACCCGGTATATGGCAATCAACTTTTCATGAAAACTAGAAATGCTTCTATGAAGCAGCAGAGAACTTCTCTGATCCTAAC
AAAGCAAGTTCTCTATTATCTTCAGGTTTTCACAGACTTCCCTACAGTTATTACTATGGATAGAAAAAGCATCCAAACA
ACAAACAATATATATGTAATATACGACGAGTTCTGATGACTACCAATTCGATTGGACTTCAACAAATGGAAAGGTA
CCAATACTAAAGATAAAATGGACAGATCTTCTTCAGAAATATATAAAATCUATTTGGGAAAAAGAAATGCACAAATTA

SEQ ID NO: 59 secuencia de polinucleótido

ATACACATGAAAAATTAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTAAGCTACAATGATTTCAATGCG
GGAAAGCAAAAGCGAGTGAAACACGCACAACTTCAACTAAGCAACCAACACTCAAAACAAGTACGTAACAGATCAAC
AAAAAGCTTTTATCAAGTATTACATCTAAAGGTATCAAGAGAACCAAGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAA
CAGCAGAACGTCACAGAAAGTATCTCTCAATCACTTAAGACAGCAAGAACCCAGACCGAGCTGTTGCACAAACAAA
CGCTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAAGTGAACAAAGAAAAATTAATACATTGCACAAATTAAGAAAAAC
CTGATAGAAGCCCAAGTTTGGGTAGAATCAATACAACTTCTTAAAGCTAAGGAACGTCAAAATATTGAAAAATGCGAT
AAAGCAATTAAGATTTCAGATACAAAGCACCACAGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAACTCAAAATTAAGTAA
AGATTACGCGATAAAAAATAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATTGAAAAAGCAATCGTTCTCATGATGAGCGGTGA
AATCAGCAATGATGCAATCTCAAAATTAATGAAAAAGATTCAATGAAAAACAGACGTTTACCAACAGCTGAAGTTAAC
AAGCAGCTATGATGTAAGAGGCTTTACAGAAACAATTAGACGCATTAGTAGCTCAAAAGATGCTGAAAAAGAAAGT
GCCGCCAAAGTTGAGGCTCTCAAAATCAATCACCACAAATTCAAAAACCTAAAGCAGATCACCAAAAGTTGAAGTCC
CTCAATCTAAATTAAGCTTACTACCAATCATTAAAGATTCAATTAAGCTATGTTTACAAGTATTTAACAGATCTTA
AAAAAGCTATAAGAAAAATATGATACAGCAAGTACTACTATAATACGTACTATAATACAAAGGTGCGATTGATCAAC
AGTATTAACAGTACTAGTATGTTCTTAATCTTACATCCAACATTGAAAGTTGATGATAAAAAAGGCTACTTAGCTA
AATCATATGACAAAGTAAGAACTATGTAAGTGAAGTCAATCAATCTGTTAAAGTATTTATATCTTTCTACCAAAACCCA
ACATTAGTAAAAACAGCTATTAAAGCTCAAGAACTGCAATCATCAATCAAAATACATTAAAGTAATTTATATCATTTCTG
GAATAA

SEQ ID NO: 60 secuencia de polinucleótido

ATGACAAAACATTATTTAAACAGTAAGTATCAATCAGAAACAGTTTCATCAGCTATGAAAAAGATTACAAATGGGTACAGC
ATCTATCATTTTAGGTTCCCTTGTATACATAGGCGCAGACAGCCAAACAGTCAATGCGGCAACAGAGCTACGAAACGCA
CTAATAATCAAAGCACACAGTTTCTCAAGCAACATCACAAACCAATTAATTTCCAAGTGCAAAAGATGGCTCTTCAGAG
AAGTCACACATGATGACTATATGCACACCTTGGTAAAGTAATTAACCAAAATTAATTAATATTTTCCAAACCGTGT
AAACAATGCATCATTTCTGGAAGAAATACAAATTTTACAATGCAACAAATCAAGAAATTAGCAACAACTGTTGTTAACGATA
ATAAAAAAGCGGATACAGAAACAAATCAATGTTGAGTTGAACCTGGATAAAGAGCTTAAGTACTAAAGTACATTTGTC
GTGCCACAAATTAATTACAATCATAGATATACTACGCATTTGGAATTTGAAAAAGCAATTCCTACATTAGCTGACGCAGC
AAAAACCAACAATGTTAAACCGTTCAACCAAAACAGCTCAACCTAAACACCTACTGAGCAAACTAAACAGTTCTAAC
CTAAAGTTGAAAAAGTTAAACCTACTGTAACTACAACAAGCAAGTTGAAGCAATCACTCTACTAAAGTTGTAAGTACT
GACACAAACAAAGATCAAACTAAACACAACTGCTCATACAGTTAAACAGCAAACTGCTCAAGAACAAATAAAGT
TCAAACACCTGTTAAAGATGTTGCAACAGCAAAATCTGAAAGCAACAACTCAAGCTGTAAGTGATAATTAATCACAACAAA
CTAACAAAGTTACAAACATAACGAAACCGCTAAACAGCATCTAAAGCTAAAGAAATACCAAAACCTGTTTTAACTTCA
GTTGATAACTTTATTAGCACAGTTGCTTCGCAACACTTGCCTTTTAGGTTCAATATCTTTTACTTTTCAAAAGAAA
AGAACTCAATAA

SEQ ID NO: 61 secuencia de polinucleótido

ATGAACAAACAGCAAAAGAAATTTAAATCATTTTATTCAATTAGAAAGTCATCACTAGGCGTTGCATCTGTAGCGATTAG
TACACTTTTATTTAATGTCAATGGCGAAGCACAGCAGCAGCTGAAGAAACAGGTGGTACAAATACGAAAGCACAAAC
CAAAACCTGAAGCAGTTGCAAGTCCAACAACAACTTTGAAAAAGCTCCAGAACTAAACAGTAGCTAATGCTGTCTCA

SEQ ID NO 62 secuencia de polinucleótido

[illegible]

2/18

SEQ ID NO 63 secuencia de polinucleótido

ATUAAATATGAGAAAAAAGAAACACGCAATTCGGAAAAAATCGATTUUCGTGGLTTTCAGTGCTTGTAGGTACGTTAA1
 CGGTTTTGGACTACTCAACAUTAAAGACAGATGCAAGTGAAATAGTGTTACGCAATCTGTATAGCGCAAGTAAACGAAA
 GCAAAAGTAA1GATTCAAGTAGCGTTAGTGCTCCACCTA/AAACAGACGACACAAACGTTGATGATACTAAACATCGTCA
 AACACTAAATAATGGCGAAACGAGTGTCGCGCAAAATCCAGCAC/ACAGGAAACGACACAATCATCA1CAACAAATGCAAC
 TACGGAGAAACCCUOTAACGTGTGAAGCTACTACTACGACAAACGAATCAAGCTAATACACCGCAACCACTCAATCAA
 GCAATACAAATGCGGAGGAATTAGTGAAATCAAAACAAGTAATGAAACGACTTCTAA/GATACTAATACAGTATCATCTGTA
 AATTCACCTCAAAATTTACAAATGCGGAAAAATGTTTCAACACCGCAAGATACTTCAACTGAAGCAACACCTTCAACAA
 TGAATCAGCTCCACAGAAATACAGATGCAAGTAATAAGATGTAGTTAGTCAAGCGGTTAATCCAAAGTACGCCTAGAATCA
 GAGCATTTAGTTTAGCGCAGTAGCTUCAGATGCACCGCAGCTGGCACAGATATTACGAATCAGTTGACAGATGTGAAA
 GTTACTATTGACTCTGCTACGACTGTGTATCCGACCCAGCAGGTTATGTCAAACGAAATATGGTTTTTCAGTGCTTAA
 TTCTGTGTTAAAGGTGACACATTCAAAATAACTGTACCTAAAGAATTAACCTTAAATGGTGTAACTTCAACTGCTAAAG
 TCCACCAATTAATGCTGGAGATCAAGTATTGCAAAATGOTGTAAATCGATAGTGAATGTGAATGTTATTATACATTTACA
 GACTATGTTGATTAATAAGAA/AAATGTAACAGCTAATATTACTATGCCAGCTTATATGACCCGAAAAATGTTACAAAGAC
 AGGTAAATGTGACTTACAACTGGCATAGGAACCAATCTCTAGTAGTAAGACAGTATTAAATCGACTATGAGAAATA/AGGAC
 AATTCCTAATTTATCAATTAACGTTAGGATTGATCAAAATCGATAAAACAAATATACGTATCCGCAACCAATTTATGTC
 AATCCAAAGCGAGATAACGTTGTGTTTACCTGCTTAAACAGTAATTTAATTCCTAATACAAAGAGTAATGCGTTAATAGA
 TGCAAAACACTGATATTAAAGTTTATAGAGTCGATAATGCTAATGATTTATCTGAAAGTTATTATGTGAATCCTAGCG
 GTTATTGAAGATGCTGAGGAAATCAAGTTAGAATTTCAATTCGAAATGCTAATCAATACAAAGTAGAATTTCTTACCGACGAT
 GACCAAAATTACAAACCCGATATTGTAGTTTAAATGCGCATATTGATCCTGCTAGTACAGGTGATTTACCACTACGTTTC
 GACATTTTATGTTATGATTTCTAATTTTATATGGAATCTTATGTCTATGGACAAACGAATAGCATTTAATAACGATCAG
 GTTCTGTGACGGTATCGATAAACCAATGTTCTCTGAACCACTGATGAGCTTGGTGAATTTGAACCAATTCAGAGGAT
 TCAGATTCTGACCCAGGTTAGATTCTGGCAGCGATTCTAATTCAGATAGCGGTTAGATTCTGGCAGTGATTTACATC
 AGATAGTCGTTAGATTTCAGCGACTGATTTCAGATTTCAGCAAGTGAATTCAGACTCAGCAAGTGAATTCAGATTTCAGCAAGTG
 ATTTCAGATTTCAGCAAGTGAATTCAGATTTCAGCAAGTGAATTCAGACTCAGCAAGTGAATTCAGATTTCAGCAAGTGATTCAGAT
 TCAGCAAGCGATTTCAGATTTCAGCAAGCGATTTCAGATTTCAGCAAGCGATTTCAGATTTCAGCAAGCGATTTCAGATTTCAGCAAGCG
 CGATTTCAGACTCAGATAGTGAATTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAG
 ACTCAGACAGCGATTTCAGACTCAGACAGTGAATTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAG
 AGCGATTTCAGATTTCAGACAGTGAATTCAGACTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAG
 AGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGACAGTGAATTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAG
 ATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGTGAATTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAG
 TCAGAAATCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAG
 AGCGAGTGAATTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAG
 AGCGAGTGAATTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAG
 ACAGCGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAGATTTCAG
 AATGGTACTAATGCTTCTAA/AAAAATGAGGCTAAAGATAGTAAGAAACCAATTACAGATACAGGTTCTGAAAGATGAAGC
 GAATACGTCACTAATTTGGGGATTATTAGCATCATTAGGTTCTATTACTACTTTTCAGAAAGAAAAAGAAATTAAGATA
 AGAAATAA

SEQ ID NO 64 secuencia de polinucleótido

GTGAAAAACAATCTTAAGTACGGCATTAGAAAAACATAAA/TCGGAGCAACATCAGTATTCTTAGGAACAATGATCGTTOT
 TGGGATGGGACAAAGATAAAGAAAGCTG/CAGCATCAGAACAAAAAGACA/CTACAGTAGAAGAAAAATGGGAATTCAGCTACTG
 ATAAATAAAACAAGTGAACACAAACAACCTGCTACTAAGCTTAATCATATAAGAA/AACTCAATCATATAACGCAACAGTA
 ACAGAACAA/CCGTCAAACGCAACACAAGTAACAACTGAGAGAGCACCAAAAGCAATACAGCACCAAACTGCAACCC
 AGCAATGTAGAAACAGTTAAAGAAAGAGAGAAACCTCAAGTTAAGGAAACGACACAACCTCAAGACAATAGCGGAAATC
 AAACACAAGTAGATTAAACACCTAAAAAGGTTACACAAAAT/CAAGGGACAGAAACACAAGTTGAAGTGGACAGCCAAAGA
 ACGGCATCAGAAAGTAAGCCACGTGTGACAAAGATCAGCAGATGTAGCGGAAGCTAAGGAAGCTAGTGACGTTTCAGAAAT
 TAAAGGCACAGATGTTACAAAGTA/AGTTACAGTAGAAAG/CGTTCTATTGAGGCACCTCAAGAAATAAAGTAGAGCCAC
 ATGCTGCTCAACGTTGCTGATTGAAATACAAATGAAAT/CCGAGATGGAATTAAGAAAGAGAGATTATTGATTGTTTACA
 TTATCAAAATAATGTAATACTTATGGGGTTTCAACAGCTAGAAAGGTACCAAGATTAAGAAATGGCTCAGTTGTAATGGC
 TACAGGTGAGATCTTAGGGAA/TTGTAACATAAGATATACATTTACTAAGCAAAATGAACACAAGGTAGAGTAAACAGCTA
 ATTTAGAAATCAACTTATTATTGACCCCTAAAACCTGTAC/AAAGCAATGGAGAACAAAAGATTACTTCTAAATTAATAGGT
 GAAGAAAC/AAAAAAACAATACCAGTTGTTTATAATCCAGGTGTTAGCAATAGTTATACAAATGTAATGGATCAATTTGA
 AACATTTAATAAGGAATCTAATAAATTTACACATATAGCTTATATTAAAGCAATGAATGGAAACCAAGTCAAAACACTGTAT
 CAGTAACAGGGACGTTGACTGAAGGTAGTAATTTAGCTGCTGACCAACCTACTGTTAAAGTATATGAATATCTAAGGAAA
 AAAGATGAATTTGCCACAAAGTGTATTGCAAAATACATCAGATACTAACAAATTC/AAAGATGTAACAAAGGAAATGAATGG
 AAAATTGAGTGTGCAAGACAATGCTAGTTACTCATTGAAATTTAGATAAGTTGCAATAAAACGTATGTCATTCAATTATACAG
 GTGAATATTGCAACCGTCAAGTACAGTTAATTTAGAACTGAATTATATGGGTATCCAGAACGAGCATATAA/TTCTTAC
 TATCTTTATGGGGGATATCGTTTAACTTGGGATAATGTTTAA/TTTATATAACCAATAAAGCTGACCCCAATGGT/AAAA
 TGCACAAATTAAT/CAAGATAATGATTTTGAATATAAGAAAGATACTGCAAAAGGAACTATGAGCCGGCAGTACGATGCCA
 AGCAATTAATTGA/ACAGAGAAATCAAGACAATACACCGCTTGACATTGATTACCACACAGCTATAGATGGTGAAGGT

GGTATOTTTGATGGGTATATTGAAACAATAGAAAGAAACGGATTTCATCAGCTATTGATATCGATTACCATACTGCTGTGGA
TAGTGAAGTGGGTTCAGTTGGAGGATACACTGAGTCTCTGAGGAATCAAAATCCAATTGACTTTGAAGAAATCGACACATG
AAAATTCAAAACATCAAGCTGATGTTGTTGAATATGAAGAGGATACAAATCCAGCTGGTGGCCAAAGTAACAACTGATCT
AACTTAGTTGAATTCACGAAGAGTCTACAAAAGGTAATTTAACTGGCCAGTGAGCCGACCATACAACAAATTCAGATAC
GAAAGAAATACGACTGAAAGTATCTGATTGAACTAGTAGATGAACCTGAAAGAACATGGTCAAGCACAAGGACCAA
TOGAGCAAATTAAGTGAAGAACATCATATTTCTCATTTGTTTAGGAAGTGAAGAAAGGTACGGTAATTTATGGCGTG
ATTGAAGAAAATCGAAGAAAATAGCCACGTTGATAATTAAGAGTGAATTAGGTTACGAAGCTGGCCAAAATAGCGGTAAACA
CTCATTTCGAGGAAGACACAGAAGAGACAAACCTAAATATGAACAAGGTGGCAATATCGTAGATATCGATTTCGACAGTG
TACCTCAAATTCATGGTCAAAATAAGGTGACCAAGTCATTTCGAAGAGATACAGAGAAAGACAGCTAAATATGAAAT
GGCGTAATATCATTTGATATCGACTTCGACAGTGTGCCACAAATTCATCGATTCAATAAGCATTAATGAAATTAATGAAAG
AGATACAAACAAAGATAAACCTTAATTTCAATTCGGTGGACACAATAGTGTGACTTTGAAGAGATACACTTCCAAAG
TAAAGCGCCAAAATGAAGGTCAACAAACGATTAAGAGAGATACAACGCCGCCAACGCCACCGACACCAAGTACCGAGT
GAGCCGGAAACCAATGCCACCGACACCAAGTACCGAGTGAGCCGAAACACCAACGCCCAACCAACCAAGGTAAC
AAGTGAGCCCGGAAACCAACCAACCAACCGACTCCGGAAGTACCAAGTGAGCCGGAACCAACCAACCAACCAAGGTAAC
TGCCGAGTGAGCCAGAAACCAACCAACCGCAACCAACCAAGGTACCGAGTGAGCTGGTAAACCAATACCAACCGCAAA
GAAGAACCTAAAGAGCTTCTAAACCAAGTGGAACAAGGTAAAGTAAGTAACACCTGTTATTCAAATCAATGAAGAGGTAA
AGCAGTGGCACCACCTAAAGAACCAATCTAAGAAATCTGAACCTACCTGAACCAAGTGAAGAGAAATCAACAAACAAAG
GTATGTTGTTGGCGGATTAATTCAGCATTCTAGGTTAGCATTATTACGCAGAAATAAAAGAAATACAAAGCATAA

SEQ ID NO 65 secuencia de polinucleótido

TTGAAAAAAGAAATGATTATTTGTCGAATAAGCAGAAATAGTATTTCGATTAGACGTTTACAGTAGGTACCACATCAGT
AATAGTAGGGGCAACTATACTATTGGGATAGGCAATCATCAAGCACAAGCTTCAGAACAAATCGAACGATACAACGCAAT
CTTCGAJAAATTAATGCAAGTGCAAGTTCCUAAAAAACAATATGATAGAAACACCTCAATTAATATCAACGGCTAATGAT
ACATCTGATATTGTGCAACACAAACAGTGGCAATGTACATAGCACAAACAAACCAATGTTCTACACAAACGAGCAATAC
CACTACAACAGAGCCAGCTTCAACAAATGAAACACCTCAACCGAGCGCAATTAAGAAATCAAGCAACTGCTGCAAAATCC
AAGATCAAACTGTTCTCAAGAGCAATTTCAAGTAGATAATAAAACAACGAATGATGCTAATAGCATAGCAACAAAC
AGTGAGCTTAAAAATTTCTCAAACTTAGATTAACCAATCATCACCAAAACGATTTCCAATGCGCAAGGAAGTAGTAA
ACCAAGTGTAGAAAGAGAGCTGTACGTAGTTTAGCTGTGTGCTGACCGGTAGTAAATGCTGCTGATCTAAAGGTACAA
ATGTAATGATAAAGTTACGGCAAGTAATTTCAAGTTACAAAGACTACATTTCAGCCCTAATCAAGGTGTAACACATTT
ATGGCGCAAAATTTACAGTGACAGATAAAGTAAATACAGGGGATTATTACAGCGAAGTTACCAAGATAGTTTAACTGG
TAATGGAGAGCTGGATTTCTAATTTCAAAATAACGATTCAGTCCCAATTCAGACATTAAGAGTACGAATGCCGATGTTGATG
CTAAGCAACATATGATCTTACTAAGAGCTATACATTTGCTTTACAGATTATGTAATTAATAAGAAATATTAAAC
GGACAAATTTTATTACCTTTATTTACAGACCGAGCAAGGCACCTAAATCAGGAACATATGATCGGAATATTAAATTTGC
GGATGAAATGTTTAAATAAAATTACTTATAACTAAGTTGCGCAATTCGAGGAATTAATAACCAAAATGGCGCAACA
TTTCTCTCAAAATTTGGTGTAGATACAGCTTCAGGTCAAAACACATACAAGCAACAGTATTGTTTAACTTAAGCAA
CGAATTTTAGCTAATACGTGGGTGATATTAAAGGCTACCAAGATAAAATCGAAGAAAGTAGCGGTAAAGTAAGTGCTAC
AGATACAAACTGAGAAATTTTGAAGTGATGATACATCAAAATATCAGATAGCTACTATGCAATTCCAATGACTCTA
ACCTTAAAGAAAGTAACAGACCAATTTAAATATGAAATCTATTATGAGCATCCAAATGTAGCTAGTATTAAATTTGGTGT
TTTACTGAAACATATGATGATTAGTAGAAGGGCATTCAGCAATACAGGTAAAGAACTTAAAACTCAGGTTATTCAAGA
AAATGTTGATCTGTAAACAAATAGAGACTACAGTATTTTCGGTTGGAATTAATGAGAAATGTTGTACGTTATGTTGGTGGAA
GTGCTGATGGTGAATTCAGCAGTAAATCCGAAAGACCCAACTCCAGGGCCGCGGTTGACCCAGAAACCAAGTCCAGACCCA
GAACCAAGAACCAACGCCAGATCCAGAACCAAGTCCAGACTCCAGAACCGAAACCAAGCCAGACCCGATCCGGATTCGGA
TTCAGACAGTCACTCAGCTCAGACAGCGACTCAAGTTTCAGATAGCGACTCAGAAATCAGATAGCGATTTCGATTTCAGACA
CTGATTTCAGATTTCAGACAGCGACTCAGAAATCAGATAGCGATTTCAGAAATCAGATAGCGACTCAGATTTCAGATAGCGATTTC
GATTTCAGATAGCGATTTCAGAAATCAGATAGCGATTTCGATTTCAGACAGTATTTCAGATTTCAGACAGCGACTCAGAAATCAG
TAGCGACTCAGAAATCAGATAGTGAAGTCAAGTTTCAGACAGTGAATTCGAGTTCAGACAGTGAATTCAGACTCAGATAGCGATT
CAGACTTCAGATAGCGATTTCAGACTCAGACAGCGATTTCAGATTTCAGACAGCGACTCAGAAATCAGACAGCGACTCAGACTCA
GATAGCGACTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTTCAGATAGCGATTTCAGACTCAGACAGCGACTCAGACTCAGACAGCGA
CTCAGACTCAGATAGCGATTTCAGACTCAGACAGCGACTCAGATTTCAGATAGCGATTTCGAGTTCAGACAGCGATTTCAGATT
CAGACAGCGACTCAGACTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGACAGCGACTCAGACTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGT
GACTCCGATTCAAGAGTTACACCAAAATAATGAACAGAAAGCACCATTCAATCCTAAAGGTGAAGTAAACCAATTCATA
TAAGGTATCAAAACCAACAAACTGATGCTTACCAGAAACAGGAGATAAGAGCCAAACACAAATGCAACTTTATTG
GTGCAATGATGGCATTTATTAGGATCATTAATTUTTAAGAAACCGCAAGCATTAAGAAAAAGCGTAA

SEQ ID NO 66 secuencia de polinucleótido

ATGAAAAACAAATAATTTGCTAGGCGCATTAGCAGTTGCATCTAGCTTATTTACATGGGATAACAAAGCAGATGCGAT
AGTAACAAAGGATTATAGTAAAGAAATCAAGAGTGAATGAGAAAGTAAAGGGAGCTACTGTTTCAGATTATTACTAT
CGAAAAATAATTGATAGTTTAGAGGCACAATTTACTGAGCAATAGACTTATGGAGATTATAAATATGGAGATCTCTATC
TATAAGAAAGCGAAAGAATAGATTGATGACAAGATATTAGAGAGAGACCAATTTATTAAAGAAAGAGATTGATGAATA
TGAGCTTTATAAAAGTGGTATAAAAGTTCAAAATGAAGACCTAATATGCTTACTTTCCATAAATATAATCTTACAATT

TAACAATGAATGAATATAACGATATTTTAACTCTTTGAAAGATGCAGTTTATCAATTTAATAAAGAAGCTTAACGAAATA
 GAGCATAAAAAATGTTGACTTGAAGCAGTTTCATAAAGATGGAGTAGACAAGGCAACTAAAGAAAGTTTATGACCTTGTTC
 TGAAATTOATACATAGTTGTAACCTTATTATGCTGATTAAGGATTATGGGAGCATGCGAAAGAGTTACGAGLAAAACCTGG
 ACTTAATCCTTGGAGATACAGACAAATCCACATAAAATTACAAATGAGCCTATATAAAAAAGAAATGATCGATGACTTAAAT
 TCAATTATAGATGATTTCTTTATOGAGACTAAACAAAATAGACCCTTCTATTAACAAAATATGATCCAACAAAACACAA
 TTTTAAAGAGAGAGCTGAAAATAAACCTAATTTTGATAAATTAOTTAAGAAACAAAAGCAGTTAAAGAGCAGAGCG
 AATCTTGGAAAAATAAACTGTCAAAAAATACGAGGAACTGTAAACAAAATCTCTGTGTGTAAGAGAGAGAGAAAGTT
 QAAGAACCTCAATTAACCTAAAGTTGGAAACCAGCAAGAGGTTAAACTACGGCTGTGTAAGCTGAAGAAACAAACACAAAC
 AGTGGCAGACCCATTAAGTAAAAATCCACAAGAAACAATCTATGGTGAACCTOTAAAAAGGTCCAGAAATATCCAACGATGG
 AAAATAAAACCTTACAAAGTGAAATGGTTCAAGGTCCTGCTTTTCAACAATGGAACAAAACAGACCATCTTTAAGCGAT
 AATTTACTCAACCGACACACCGAACCTTATTTAGAAAGTCTTGAAGGTAGCTCATCTAAACTTGAATTAACCCACA
 AAGTACTGAATCAACCTTGAAGGTATTCAAGGAGAAATCAAGTCATATTGAAGTTAAACCTCAAGCAACTGAACAAACAAQ
 AAGCTTCTCAATATGGTCCGAGACCCAAATTAACAAAACACCTAAGTATGTGAATATAGAGATGCTGGTACAGGTATC
 CGTGAATCAACGATGAAACATTTGGATATGAAGCGAGACCAAGATTCACAAAGCCAGTGAACAAATGCATACACCT
 AACGACAAAACAAGAAGGACAGTATCATACGAGCTCGCCCAACACAAAACAAAGCCAAGTGAACAAACGATATTAAG
 TAACAAACATGCAAAATGGTCAAGTATCATACGGTGTCTGCCCAACACAAAAAAGCCAGCAAAACAAATGCATACAA
 GTAAACAAACATGCAAAATGGTCAAGTATCATATGGCGCTCGCCCAACACAAAAAAGCCAGCAAAACAAATGCATACAA
 CATAACAAACATGCAAAATGGTCAAGTATCATATGGCGCTCGCCCAACACAAAAAAGCCAGCAAAACAAATGCATACAA
 AAGTAAACAAACATGCAAGTGGTACTGGCAGATATGGGCTTAGAGTAAACAAATAA

SEQ ID NO 71 secuencia de polinucleótido

GTGAAAGCAATCTTAGATACGGCATAAGAAAACACAAATGGGAGCGGCTCAGTATTTAGGAACAATGATCGTTGT
 TGGATGGGACAAAGAAAAGAGCTGCAGCATCGGAACAAAACAACTACTACAGTAGAGGAAAGTGGAGTTTCACTACTG
 AAAGTAAAGCAAGCGAAACACAAACAACTACAAATAACGTTAATACAAATAGATGAAACACAAATCATACAGCGGACATCA
 AATGAAATCACAAGAGATTACCATCAGAAAAGTTGCTGATAAGGAACTACAGGAACTCAAGTTGACATAGCTCAAC
 CAAGTAACTCTCAGAAATTAACCAAGAAATGAAAGATCAGCTGACGTTACAGCAGTTTCAGAGAAAGAGTAGCGGAA
 GAAGCTAAAGCGCAGGTACAGATGTAACAAATAAGTGAAGTTACTGAAACCTCTTGAAGGACATAATAAGATTTC
 GAATTAATGTTAATCCGATAATGCTCAAGAGTAACCTTAAATACAAATGGAAATTTGAGAGAGGAAATTAAGGCGAGAG
 ATTATTTTGAATTTACATTAAGTGATAATGTTGAAACACATGGTATAACCACTGCGTAAAGTTCCGGAGATAAAAGT
 TCAACAGAAATTAAGTTATGCAAAATGCTCAAGTTATAATGAACGATACAAATTCGCTATACATTTACTUATTATATAAA
 TAACAAAAAAGATTAACTGCTGAATTAACCTTAAACCTTTCTATTGACCCAAACACAGTGACAAAGCAAGGAGTCAAA
 AAGTTGAAGTAAACATAGGTCAAAATAAAGTCTCAAAAGAAATTTGATATCAAAATTTAGACCGGCTTAAAGATAGAAATG
 GGTGTTACGTTAATGGTGTATTGATACTTTGAATTAAGAGAGGGTAAATTTAGCCATTTTGCATATGTGAAGCCTAA
 CAACCACTGCTTAACTTCTGTCACAGTAACTGCTCAAGTAACTCTGGATATAAAACAAATGCTAAATTTCAACAGTCA
 AAGTATAAACAACATTTGGTTCAAGTAAATAGCTGAAGTGTATTGCAAAATTTGATGATACCAAGTAAATTTGAAGAT
 GTGACTGAAGAAAGTAAATCTATCTTACACAAGTAAATGGTGGTACACATTTGAACCTTGGCGATTTAGATTAATTCGAAAG
 CTAIGTAATTAATAATGAAGGTGAATATGATCAAAATGCTAAGGATCTAAATTTCCGAACACATCTTTCAAGGATATCATA
 AATACTACCCATATCTCTTATTAACCGTATATCCAGTTCAATTAACCTTGAACCAACCGGTTTGCATTTACTCTAAT
 AATGCTAAAGGCGATGGTAAAGATAAACCAAAATGATCTTATCTTTGAGAGAGGTGAACCAATTTGATTAAGACATTAATC
 AGAGCCACCACTGGAGAGGATGAATTTGACTGGTACAAATCGAAGAAAGTAAACCAATTTAAAGCAATTTGATTTTGAATATC
 ATACAGCTGTTGAAGCTGCAGAAAGTCATGCAAGGATATTATTGAACCTGAAGAAAGATTCTATTCATGTOGATTTTGA
 GAATCTACACATGAAATTTCAAAACATCACGCTGATGTTGTTGAATATGAAGAGGATACAAACCCAGGTGGTGGCCAAAGT
 AACCACTGAGTCTAACTTAGTTGAATTTGACGAAGAGTCTACAAAGGTATTGTAACCTGGCAGTGAGCGAACCATACAA
 CAGTTGAAGATACGAAAGAAATATACAACTGAAAGTAAATTTGATTGAATTAGTGGATGAATTAACCTGAAGAAATGTTCA
 GCACAAGGGCCAAATCGAGGAAATTAAGTGAACCAATCATCATATTTCTCATTTCTGGTTTAAGAACTGAAATGTTCAACGG
 TAAATATGCGCTGATTTGATGAATCGAAGAAATAGCCACCTTGATATTAGAGTGAATTAGGTTATGAAGGTGGCCAAA
 ATAGCCGTAATCAGTCAATCGAGGAAGACACAGAAGAGATAAACCTAAATATGAACAAAGGTGTTAATATCTAGATATC
 GATTTGCAAGTGTACCTCAAAATTCATGCTCAAAATTAATGGTAAACCACTCATTTGAGGAAAGACACAGAAGAGACAAAGCC
 TAAGTATGAACAAAGGTGTTAACATCATGATATCACTTCGACAGTGTGCCACAAATTCATGGATTCAATAAGCATAATG
 AAATTTTGAAGAGATACAAACAAAGATAAACCTTAATTTATCAATTTGGTGAACACAACTGTTGATTTTGAAGAGAT
 ACACCTTCAAAAGTAAAGTGTCAAAATGAAGTCAACAAAGATTGAAGAGATACAAACCGCCCAACACCGCCCAACACC
 AGAGCTACCAAGTGAAGCCGAAACACCAACACCAACCAACCAAGGATACCGAGTGAGCCAGCCGAAACCAACCGCCACCA
 AACCGGAAGTACCAAGTGAGCCGGAACACCAAGTACCAACCAACCAAGGATACCATCTGAACCTGGTAAACCAAGTACCA
 CCTGCTAAAGAGAACTTAAACCTTTTAAACCAAGTGAAGGATAGGATACCACTGTTATTGAAATCAATGA
 AAAGGTTAAAGCAGTGGCAACCACTAAACAAACAAATCTAAGAAATCTGAACCTACCTGAACCAAGGTGGAGAGAAATCA
 CAACAAAGGTAAGTTGTTGGCGGATATTACAGCATTTAGGTTTAGTATTATTACGCAAGAAATAAAACAAATAACAA
 GCATAA

SEQ ID NO 72 secuencia de polinucleótido

ATGAAATTTAAAGTCATTGATACACAACATTAGCAATAGGCGTTATAGCATCAACAGGAGCAAACTTTAATACTAACCA
 AGCATCTGCCGCAAGCTAAGUCATAGATAAATCATCAAGTACATTACACCATGGACATTCTAACATCCAGATTCCATATA
 CAATTAAGTGTGAACGGTACAGCCAAAACATTTTATCAACCTTAACATTTAATAAGAAATCAAAATATTAGTTATAAAGAT
 ATAGAGAATAAAGTTAAATCAGTTTATACCTTAATAGACCTATTAGTGATATCGATTAAAGACTTTCAAAGCAAGCGGA
 ATATACGGTTCATTTTAAAAATGGAACAAAAGAGTTATCGATTGAAATCAGGTATCTACACAGCTGACTTAATCAATA
 CAAGTGACATTAAAGCTATCAAGTGTAACTAGATACTAAAAAGCAACCTAAAGATAAAGCTAAAGCAAAATGTTCAAGTG
 CCATATACAATCAGTGAAAGCGCACAGCCAAAACATTTTATCAACCTAACATTTAATAAAATCAAAATATTAGTTA
 CAAAGATTTAGACGGTAAAGTTAAATCAGTTTATAGAAATCAAAATAGAGGTATTACTGATGTTGATTTAAGACTTCGAAGC
 AAGCGAAATATACAGTTAATTTAAAAATGGAACCAAGAAAGTTATCGATTGAAATCAGGTATTTACACAGCGAATTTA
 ATCAATTCAGGTGATATTAAGATATCAATATTAACTACATACAAAACATATCGAAAAATAAGCTAAAGGAAACTA
 TCAAGTTCCATATTCAATTAATCTAAATGGTACATCTACAAACATTTTATCGAATCTTTCATTTTCAAATAAACCTTGA
 CAAATTCAAAAAATTTAAGTGTAAATAAAAATCAGTACTGAAGCATGATAGAGGTATTAGTGAACAAGATTAAAAATAT
 GCTAAGAAAGCTTATTATACGTTTATTTTAAAAATGGTGTAAAGAAATCTTACAGTTAAATTCAAAAAATTCACACAGC
 AAATTAAGTTTCAATGCGAAAGATGTTAAGAGAAATGAAATTAAGTTTAAACACAGAACTAAAGCGAAAGCAGACGATATG
 TACCATACACAAATGCGAGTAAATGGCAGTCAACACCAATTTTATCAAACTAAAAATTCGAATAAACAAATTAATTAGT
 TACAAATATTAAAAAGCAAAAGTGAATCTGTATTAAAAAGTGAAGAGGTATCAGTGATCTTGACTTAAAAATTTGCGAA
 ACAAGCAAAATATACAGTATATTTCAAAAAATGCAAGAAACAGTGTAGTGAATTTAAAAATCAGACATCTTACACCTAAT
 TATTAGTGGCAGCAAGATATTAAGAAATGATATTGATGTTAAACAAATACACTAAATCAAAAAAATAAATAAATCT
 AATAATGTGAATTTCCAGTAAACAAATAAATTTTGAACATAGTTTCAAAATGAATTTGTGTTCTATANTOCAGCA
 AATTACAAATTAATGATTTAAGTATAAACTTAAATCAGCTATGCGAAATGATCAAGGGATACTAAACATGACATAGGAC
 TTGCTGTAACGCGCAGTGTATAAAGTGTATTTAAAAATCGTTGCTCAAAATATGTAGACTTAAAACTGAGTATAAAGAT
 GAAAGATATTAAAGCAACTGACATTAAGAGGTAGATATTGAACCTTAAATCTAA

SEQ ID NO 73 secuencia de polinucleótido

ATGAATAATAAAAGCAGCAACAAATAGAAAGCATGATACCAATCGATTAAACAA
 TTTTCGATAAGAACTATTCTGTAGGTACTCTTCAATTTTAGTAGGACAACTTGATT
 TTTGGGTTAAGTGGTCATGAACCTAAAGCGGCAGAACATACGAATGGAGAAATTAATCAA
 TCAAAAAATGAACGACAGCCCAAGTGAGAAATAAACATCTAAAAAAGTTGATAGTCT
 CAACTAAAAGCAATACCGAACTGCAATGCGAGTCAAGCTAAAGTGACAAATGAGTGAT
 AGTGCAACAAATGAAGAACTAGTAGTAACATGCAATCAACCAAAACGCTACAGCTAAT
 CAATCTACTACAAAACTAGCAATGTAAACAAATGATAAATCATCAACTACATATAGT
 AATGAACCTGATAAAAATTAATTAACACAAAGCAAAAGATGTTTCAACTACACCTAAAAACA
 ACGACTATTAAACCAAGAACTTTAAATCGCATGGCAGTGAATAGTGTGCGAGCTCCACAA
 CAAGGAACAAATGTTAATGATAAAGTACATTTTCAAAATATGACATGCGATGATATAA
 CGACATGTTAATCAGACTACTGTTAAACTGAATTTTGGCAACTTCAAGTGATGTTTAA
 AAATTAAGCAAAATTAACAAATCGATGATCTGTTAAAGAGGGCGATACATTTACTTTT
 AAATATGCTCAATATTTCCGTCAGGATCAGTAAGATTACCTTCACAACTCAAAATTTA
 TATAATGCCCAAGGTAAATATTATTGCAAAAGGTATTATCATAGTACAAACAAACAAACA
 ACATATACCTTTACGAACTATOTAGATCAATATACAAATGTTAGAGGTAGCTTTGAACAA
 GTTGCAATTTGCGAAACGTAATAATGCAACAACTGATAAAACAGCTTATAAAAATGGAAAGTA
 ACTTAGGTAAATGATACATATAGCGAAAGAAATCAATTGCTGATTAAGTAAATAAAAAGCA
 CAACCGCTTATTTCAAGTACAACTATATTAAACAAATGAAGATTTATCGCGTAATAGACT
 GCATATGTAAATCAACCTAAAAATACATATACTAAACAAACGTTTGTACTAATTTAACT
 GGATATAAATTTAATCCAAATGCAAAAACTTCAAAATTCAGAAAGTGACAGATCAAAAT
 CAATTTGTGGATAGTTTACCCCTGATACCTTCAAACTTAAAGATGTTACTGATCAATTC
 GATGTTATTATAGTAAATGATAAATAAACAGCTACAGTCGATTAAATGAAGGCCAAACA
 AGCAGCAATAAACAATACATCATTCAACAAGTTGCTTATCCAGATAATAGTTCAACAGAT
 AATGGAAAAATTGATTATACCTTAGACACTGACAAACCTAAATATAGTTGGTCAAAATAGT
 TATTCAAAATGTGAATGGCTCATCAACTGCTAATGGCGACCAAAAGAAATATAATCTAGGT
 GACTATGTTATGGAAGATACAAATAAAGATGGTAAACAAAGATGCCAATGAAGAAAGGATT
 AAAGGTGTTTATGTCATCTTAAAGATAGTAACGGTAAAGAAATAGATCGTACGACAACA
 GATGAAAAATGTAATATCAGTTTCACTGTTTAAAGCAATGGAATTTATAGTGTAGAGTTT
 TCAACACCAGCCGTTATACACCGCAACCTGCAAAATGATAGGTACAGATGATGCTGTAGAT
 TCTGATGGACTAACTACAACAGGTGTCATTAAAGACGCTUACAACATGACATTAGATAGT
 GGAATCTACAAAAACCAAAATATAGTTTAAAGTATTGTTTGGTACGACAGTAAATAA
 GATGGTAAACAAAGATTGACTGAAAAAGGAATTAAGGTGTTAAAGTTACTTTGCAAAAC
 GAAAAAGCGCAAGTAAATGGTACAACTGAAACAGATGAAATGTTAAATACCGCTTTGAT
 AATTTAGATAGTGGTAAATACAAAGTATCTTTGAAAAACCTGCTGGCTTAACCTCAACA
 GGATACAAATACAACTGAAGATGATAAAGATGCCGATGGTGGCAAGTTGATGTAACTT

ACGGATCATGATGATTTTCACACTTGATAATGGCTACTACCAAGAAGAACATCAGATAGC
 GACTCAGATTCTGACAGCGATTTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATTCAGATAGCGACTCA
 GATTTCAGACAGCGATTTCAGACAGCGACTCAOACTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGACAGC
 GACTCAGACTCAGACAGCGATTTCAGACTCGGATAGCGACTCAGACTCAGATAGCGACTCA
 GATTTCGGATAGCGACTCAGACTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGATTTCGGACTCA
 GACAGTGATTTCAGATTTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATTCTGACAGCGATTTCAGACTCA
 GACAGCGACTCAGACTCAUACAGTGATTTCAGATTTCAGACAGCGACTCAUATTTCAGATAGC
 GACTCAGACTCAGATAGCGACTCAGATTTCAGATAGCGATTTCGGACTCAGACAACGACTCA
 GATTTCAGATAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGACTCAGATTTCGGACAGCGATTTCAGACTCA
 GATAGCGATTTCAGACTCAOACAGCGATTTCAGATTTCAGATAGCGACTCAGACTCAGATAGC
 GACTCAGACTCGGATAGCGATTTCAGATTTCAGACAGCGACTCAGATTTCAGATAGCGATTTCG
 CCGCTAAACCAATGAGTACGGTTAAAGATCAGCATAAACAGCTAAAGCATTTACCAGAA
 ACAGGTAGTGAATAATAATTCAAATAATGCCACATTATTTCGGTGGATTATTTCGGCGCA
 TTACGATCATTATTGTTATTTCGGTCGTCGTAACCAACAAATAAATAA

SEQ ID NO 74 secuencia de polinucleótido

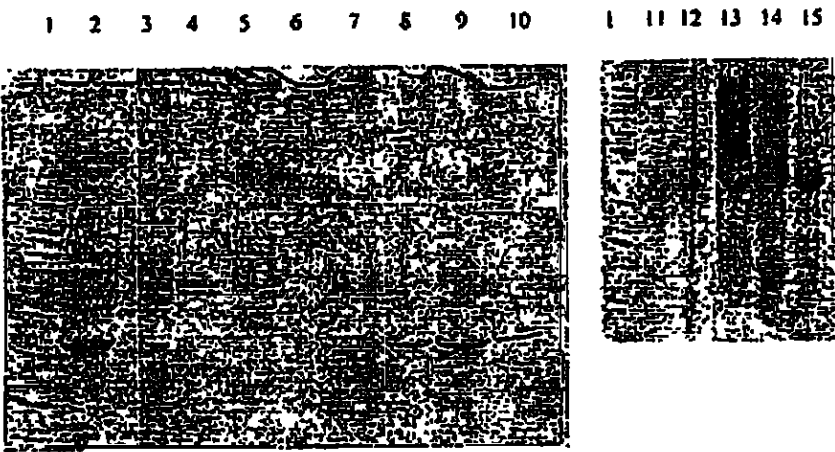
GAGGAGAATTTCAGTACAAGACGTTAAAGUATCUAATACGGATGATGAATTATCAGACAGC
 AATGATCAGTCTACTGATGAAGAAAAGAAATGATGATCAATAATAATCAGTCAATAAAC
 ACCGACGATAATAACCAATAATTAAGAAAGAAAGAAACGAAATAACTACGATCGCATAGAA
 AAACGCTCAGAAAGTAGAACAGAGTCAACAACAAATGTAGATCAAAACGAAGCAACATTT
 TTACAAAAGACCCCTCAAGATAATACTCATCTTACAGAAGAAGAGGTAAAGAAATCTCTCA
 TCAGTCGAATCCTCAAATTCATCAATTGATGACTGCCAACCAACCATCTCACACAACAATA
 AATAAGAGAAGAATCTGTTCAAACAAGTGATAATGTAGAAGATTACACGTATCAGATTTT
 GCTAACTCTAAATAAAAGAGAGTAACACTGAATCTGUTAAAGAGAGAAATACTATAGAG
 CAACCTAATAAAGTAAAAGAGATTCAACAACAAGTCAGCCGCTCTGGCTATACAAATATA
 GATGAAAAATTTCAAATCAAGATGAGTTATTAATTTACCAATAAATGAATATGAAAT
 AAGGCTAGACCATTTATCTACAACATCTGCCAACCATCGATTAAACGTTGTAACCGTAAAT
 CAATTAGCGCGGAAACAAGGTTCUAATGTAATCATTAAATTAAGTTACTGATCAAGT
 ATTACTGACGATATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
 ATCTATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
 GATATAGATAAGAAATACAGTTCCATCAGATTAAACCGATAGCTTTACAATACUAAAAATA
 AAAGATAATTTCTGGAGAAATCATCGCTACAGGTACTTATGATAACAAAAATAAACAAATC
 ACCTATACTTTTACAGATTATGTAGATAACTATCAAAATATTAAGCAACCTTAAATTA
 ACGTCATACATTGATAAATCAAAGGTTCCAAATAATAATACCAAGTTAGATGTAGATAT
 AAAACGCGCCCTTTCACTAGTAAATAAAACAATTACGGTTGAATATCAAAGACCTAACGAA
 AATCGGACTGCTAACCTTCAAAGTATGTTTACAAACATAGATACGAAAAATCATACAGTT
 GAGCAACGATTTATATTAACCTCTCTCGTTATTCAGCCAAGGAAACAAATGTAAATATT
 TCAGGGAATGGTGATGAGGTTCAACAATTATAGACGATAGCAATAAATTAAGTTTAT
 AAGGTTGAGATAATCAAAATTTACCAGATAGTAACAGAATTTATGATTACAGTGAATAT
 GAAGATGTCACAAATGATGATTATGCCCAATTAAGCAATAAATGATGTGAATATTAAAT
 TTTGTAATATAGATTACCATATATTTATTAAGTTATTTAGTAAATATGACCCTAATAAG
 GATGATTACAGGACTATACAGCAAACTCTGACAATGCAGACGACTATAAATGAGTATACT
 GGTGAGTTTAGAACACCATCTATGATAATACAATTGCTTTCTCTACAAGTTTCAGGTCAA
 GGACAAGGTGACTTGCCCTCTGAAAAAACCTTATAAATCCGAGATTACGTATGGGAAGAT
 GTAGATAAAGATGGTATTTCAAATACAAATGATAATGAAAAACCGCTTAGTAATGTATTG
 GTAACCTTTGACGTATCTGATGGAATTTCAAATCAGTCAGAACAGATGAAGATGGGAAA
 TATCAATTTGATGGATTGAAAAACGGATTGACTTATAAAATTACATTTCGAAACACCTGAA
 CGATATACGCCGACGCTTAAACATTTCAGAACAAATCTGCACTAGACTCAGAAGGTAAAT
 TCTGTATGGGTAACATTAATGGACAAGACGATATGACGATTGATAGTGGATTTTATCAA
 ACACCTAAATACAGCTTAGGGAACATGTATGGTATGACCTAATAAAGATGGTATTCAA
 GGTUATGATGAAAAAGGAATCTCTCGAGTTAAAGTGACGTTAAAGATGAAAAACGGAAT
 ATCATTAGTACAACACCAACCGATGAAAAAGTATCAATTTGATAATTTAAATAGT
 GGTAAATTATTTGTTTATTGATAAACCTTCAGGTATGACTCAACAACAACAGATTCT
 GGTGATGATGACGAACAGATGCTGATGGGAGAGGTTTATGTAACAATTACTGATCAT
 GATGACTTTAGTATAGATAACCGATACTATGATGACGAA

221

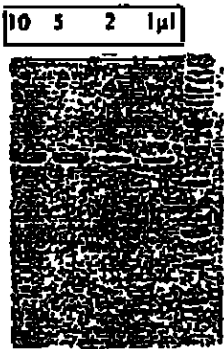
Fig. 3

Purificación de toxina alfa

A



B



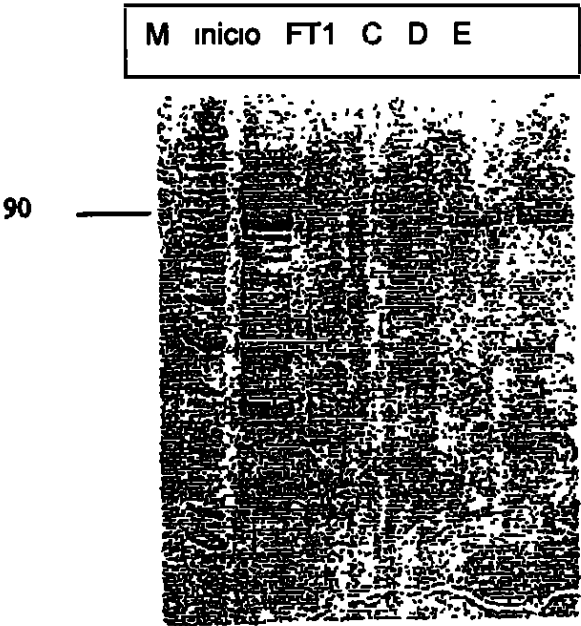
22A

22

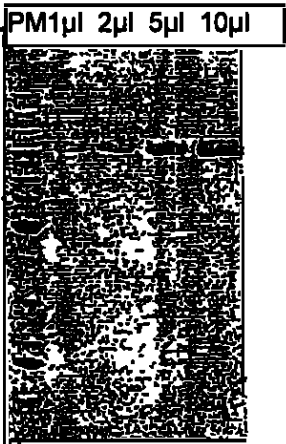
Fig. 4

Purificación de SdrC

A



B



25

Fig. 5

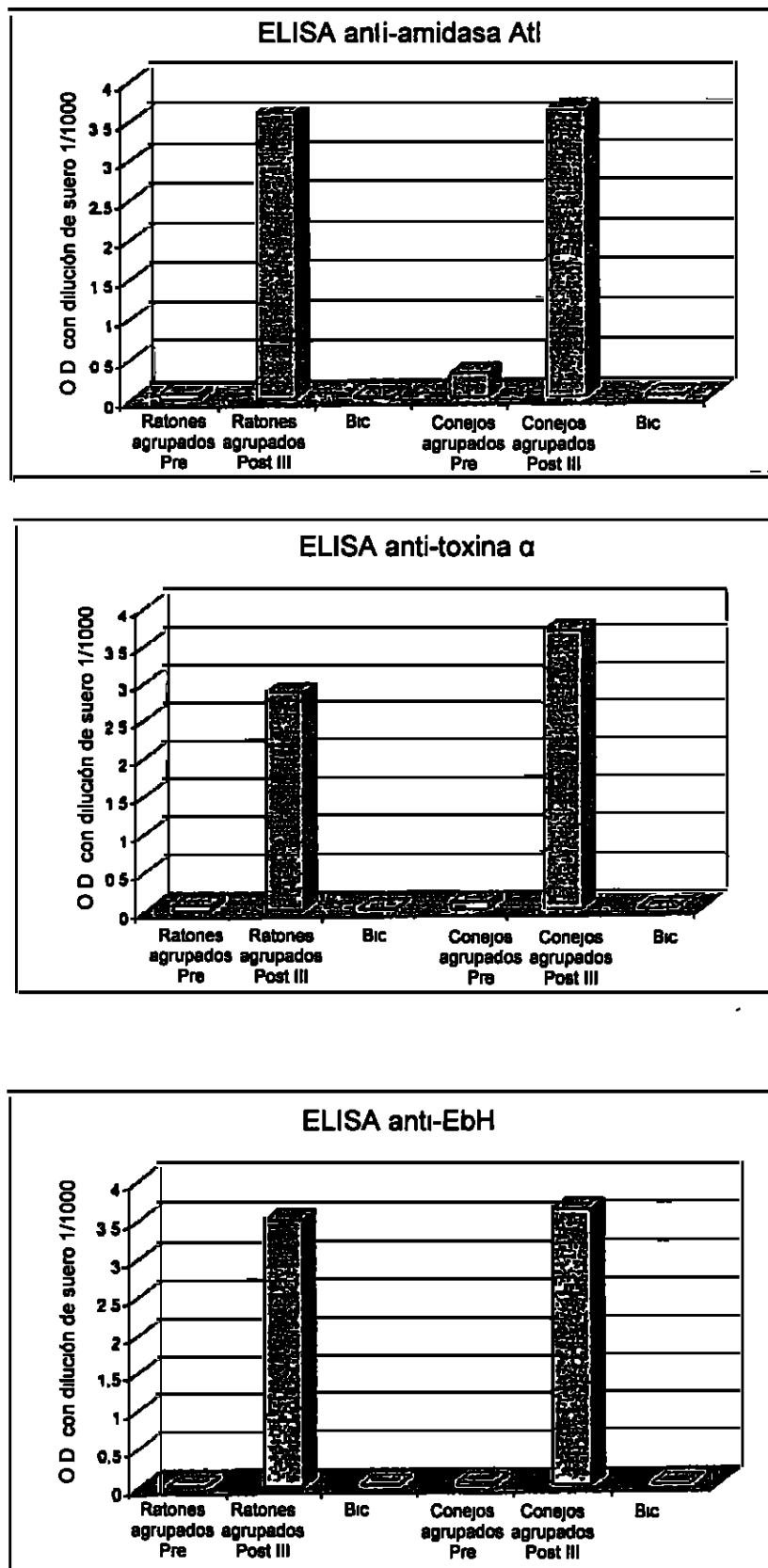
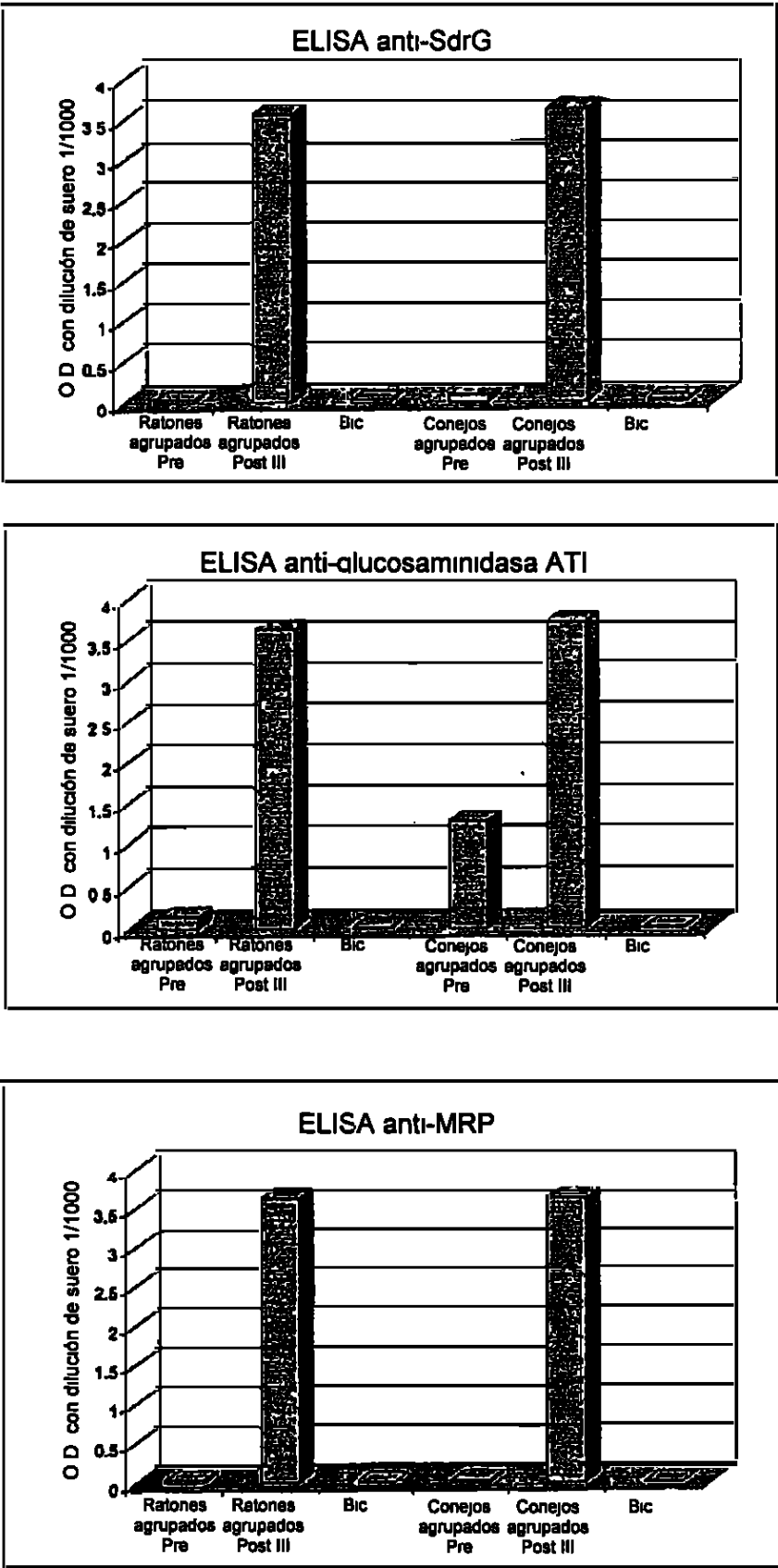
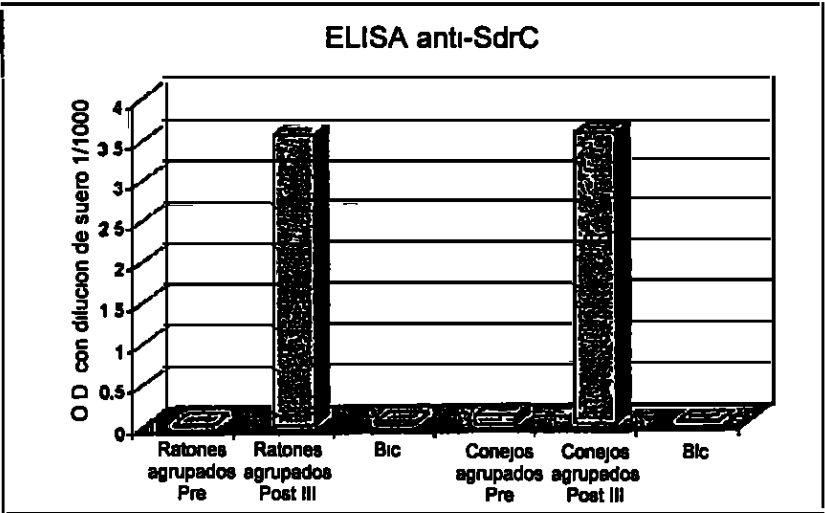
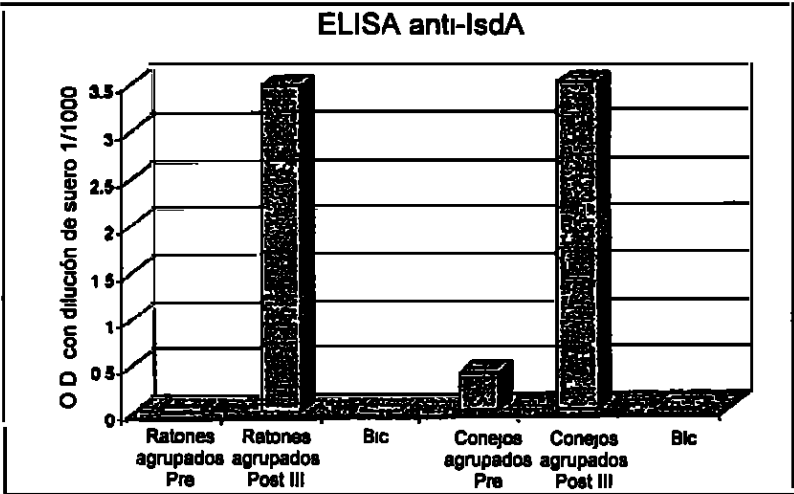
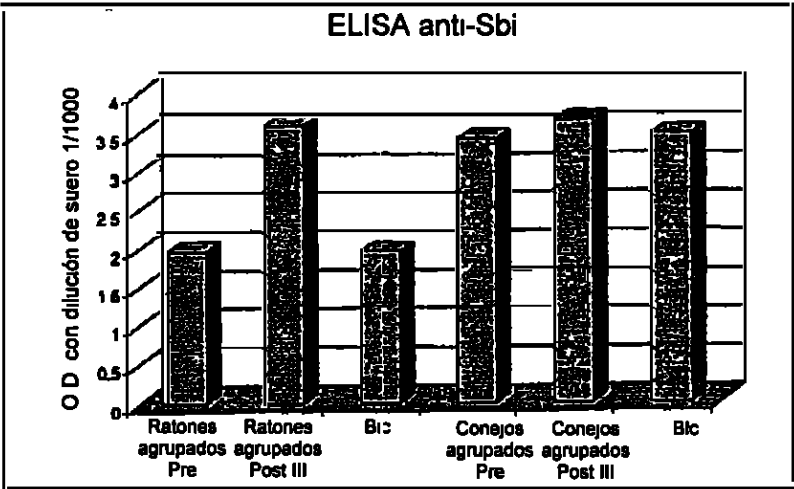


Fig. 5



225

Fig. 5



278

Fig. 5

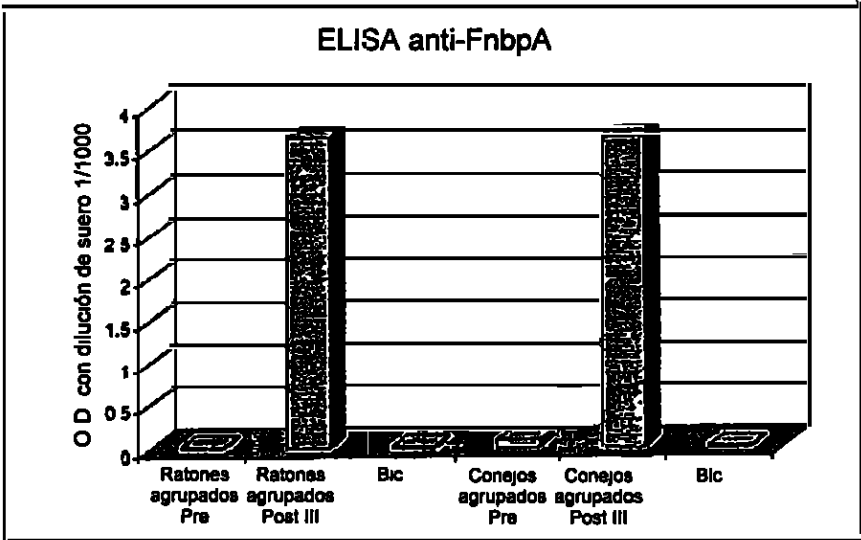
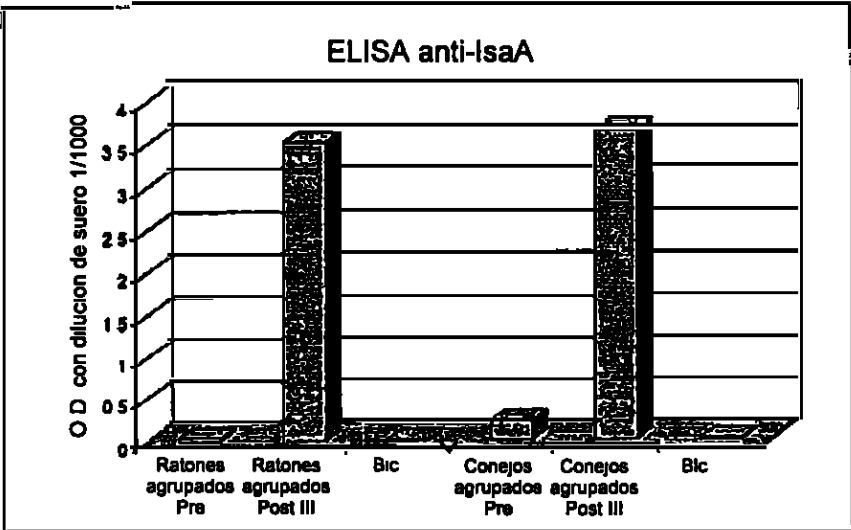
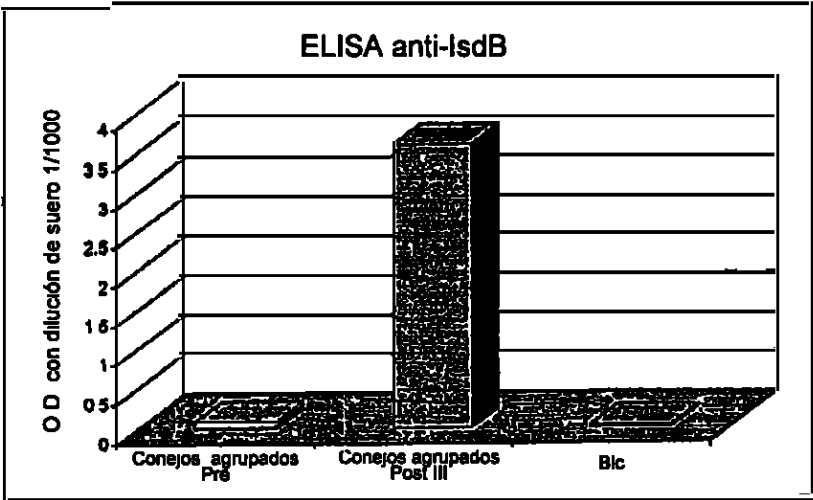
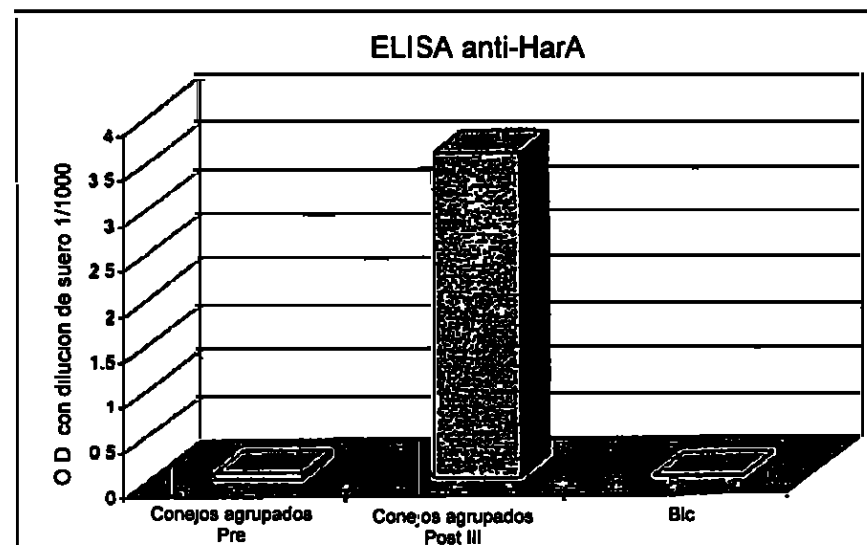
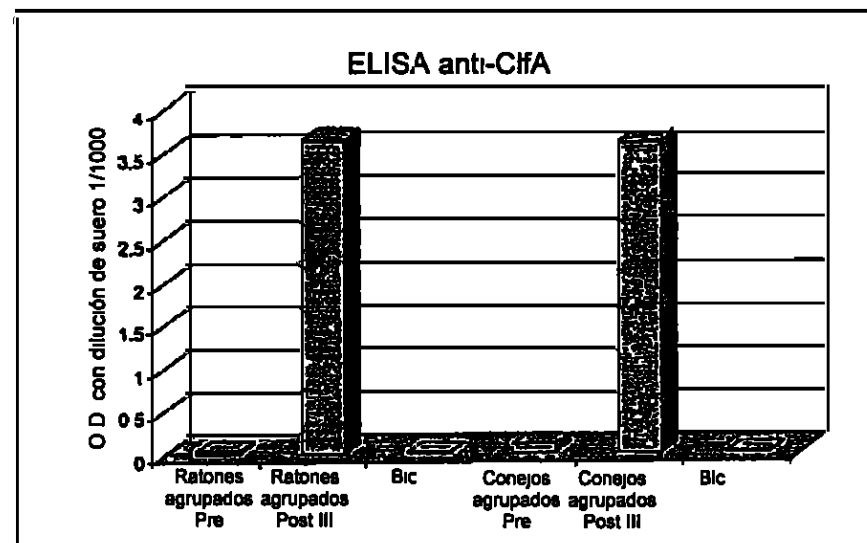
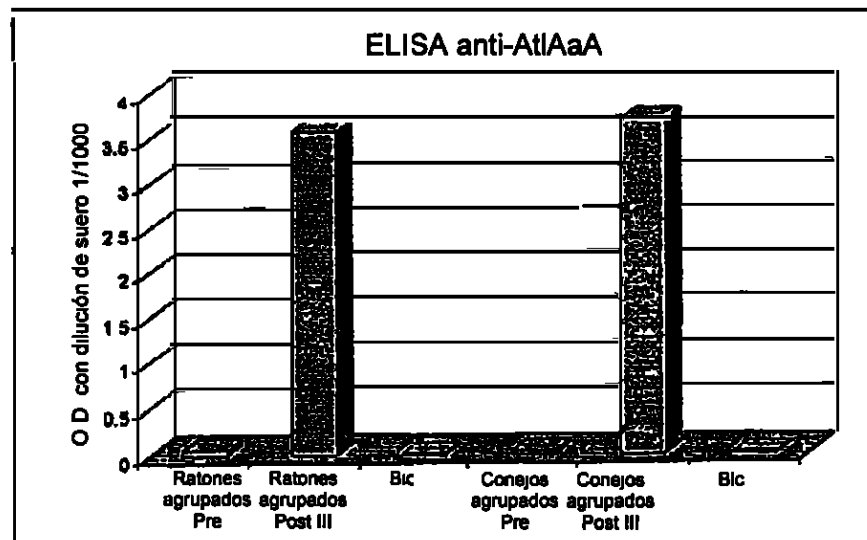
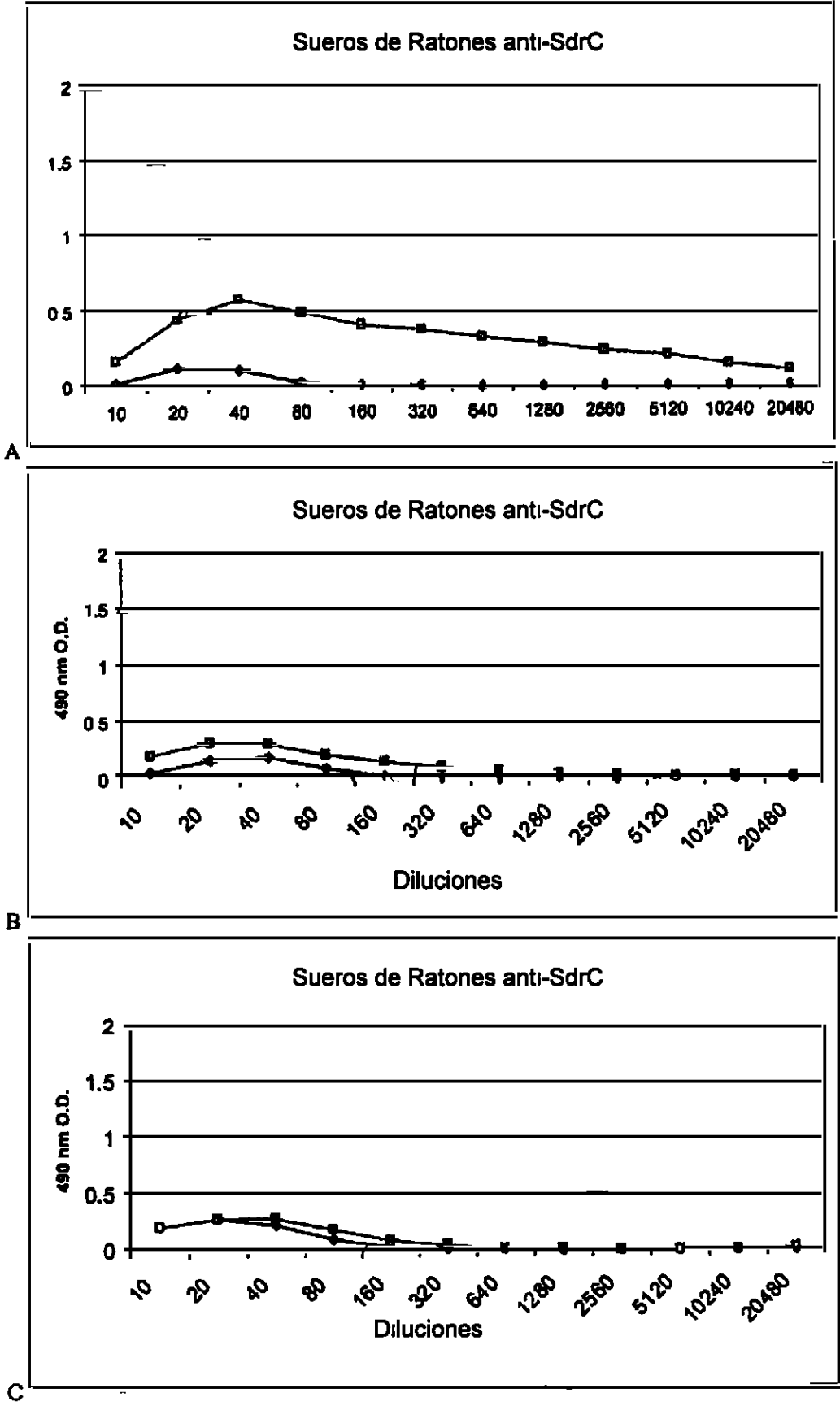


Fig. 5



228

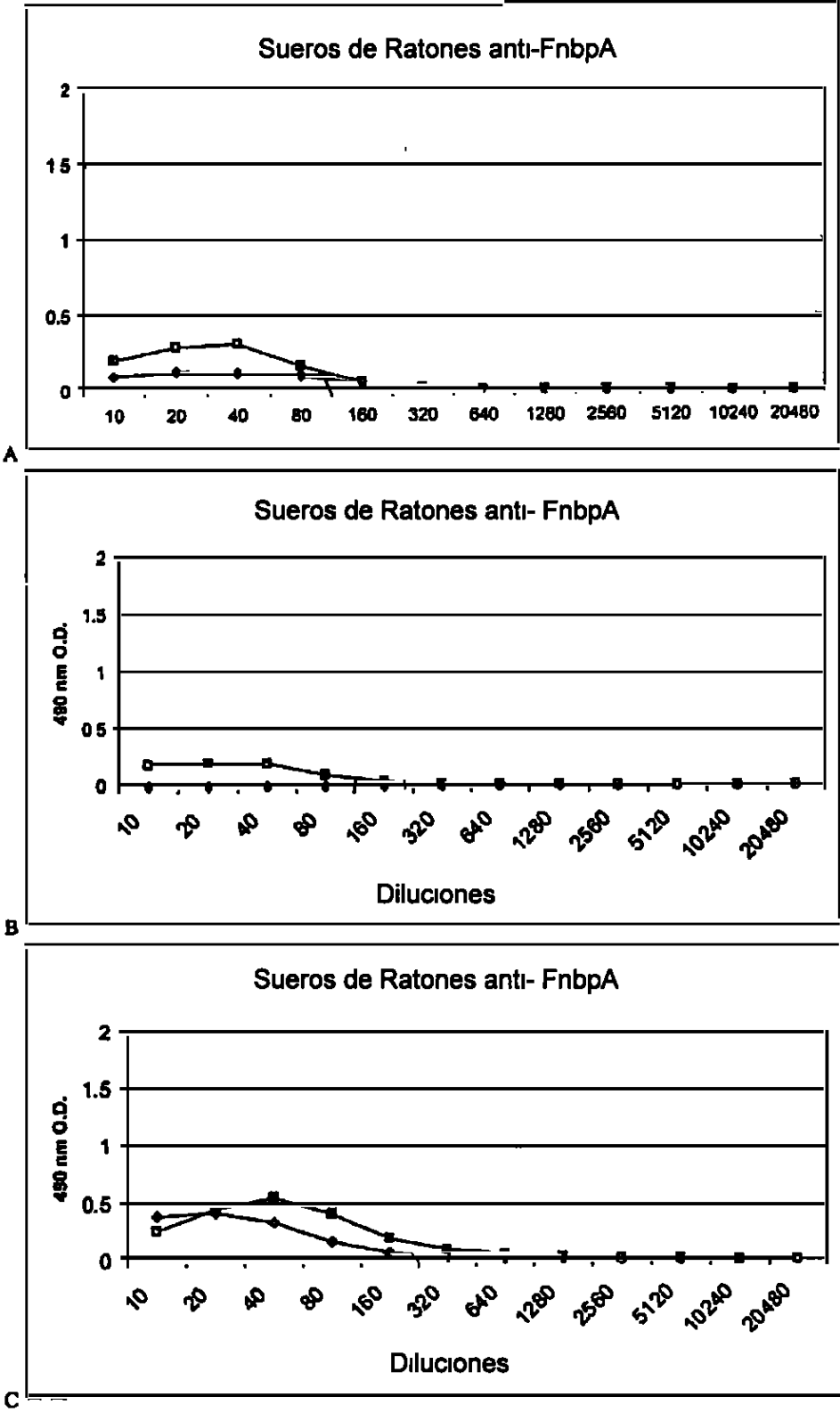
Fig. 6



2/1

229

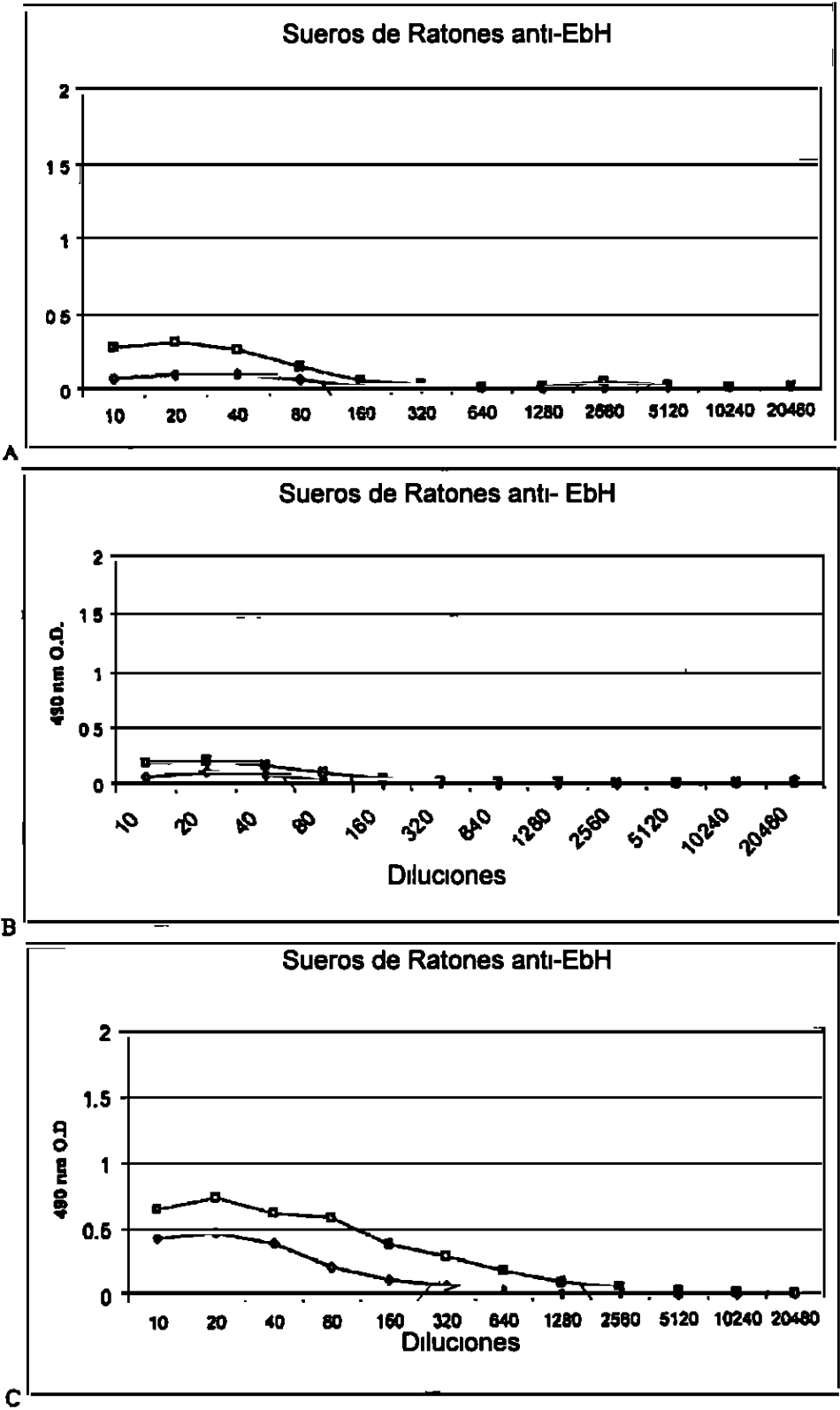
Fig. 6



232

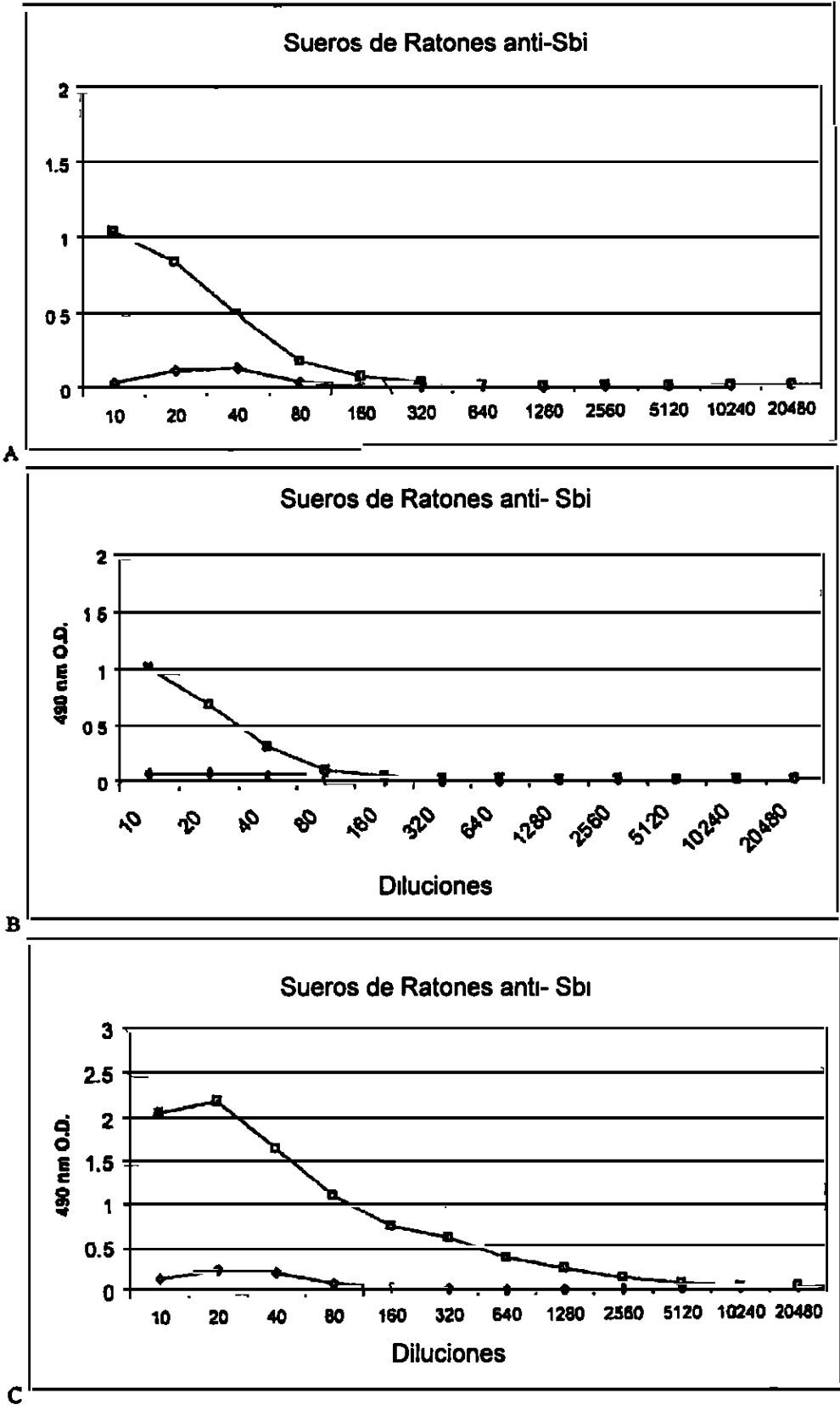
230

Fig. 6



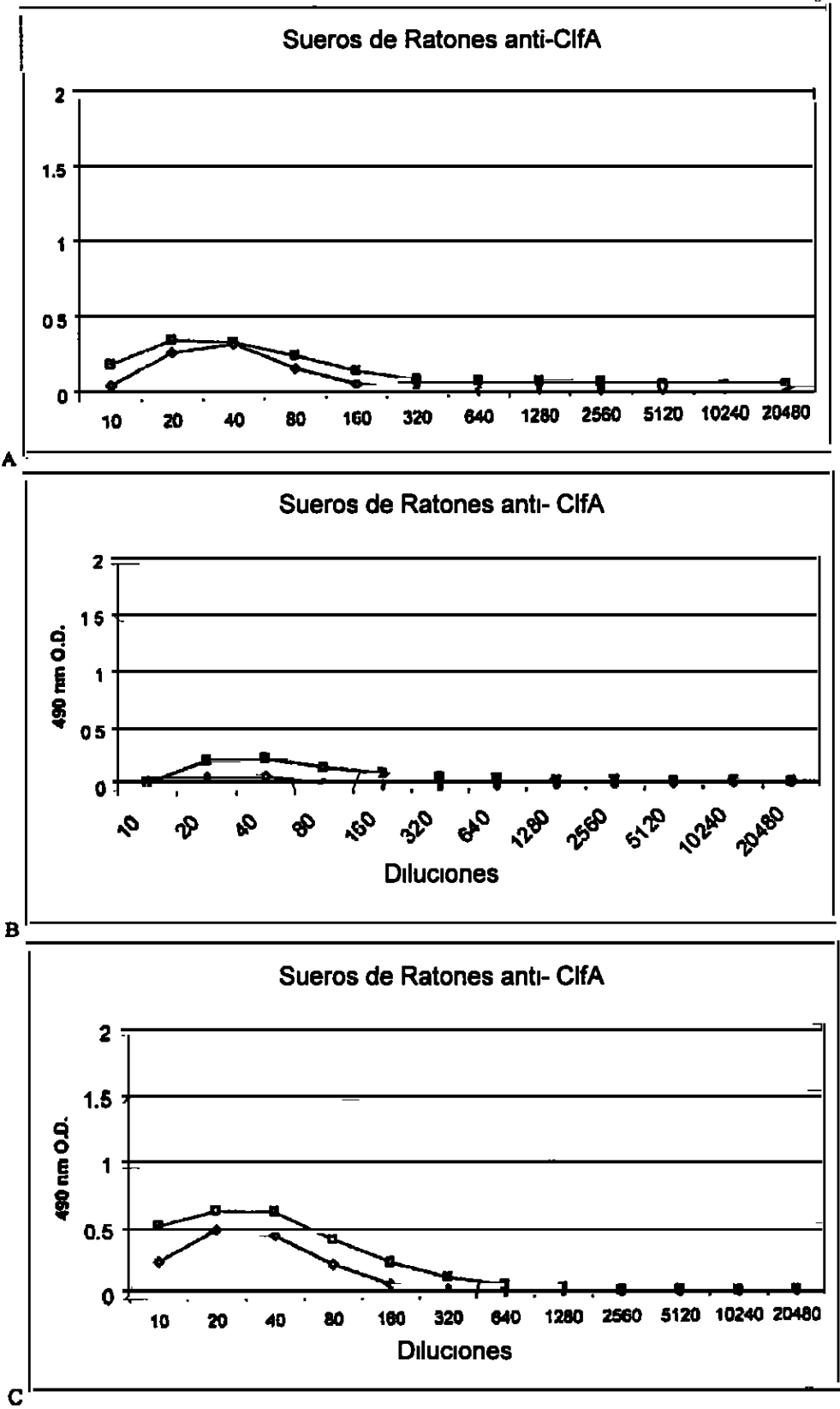
238

Fig. 6



232

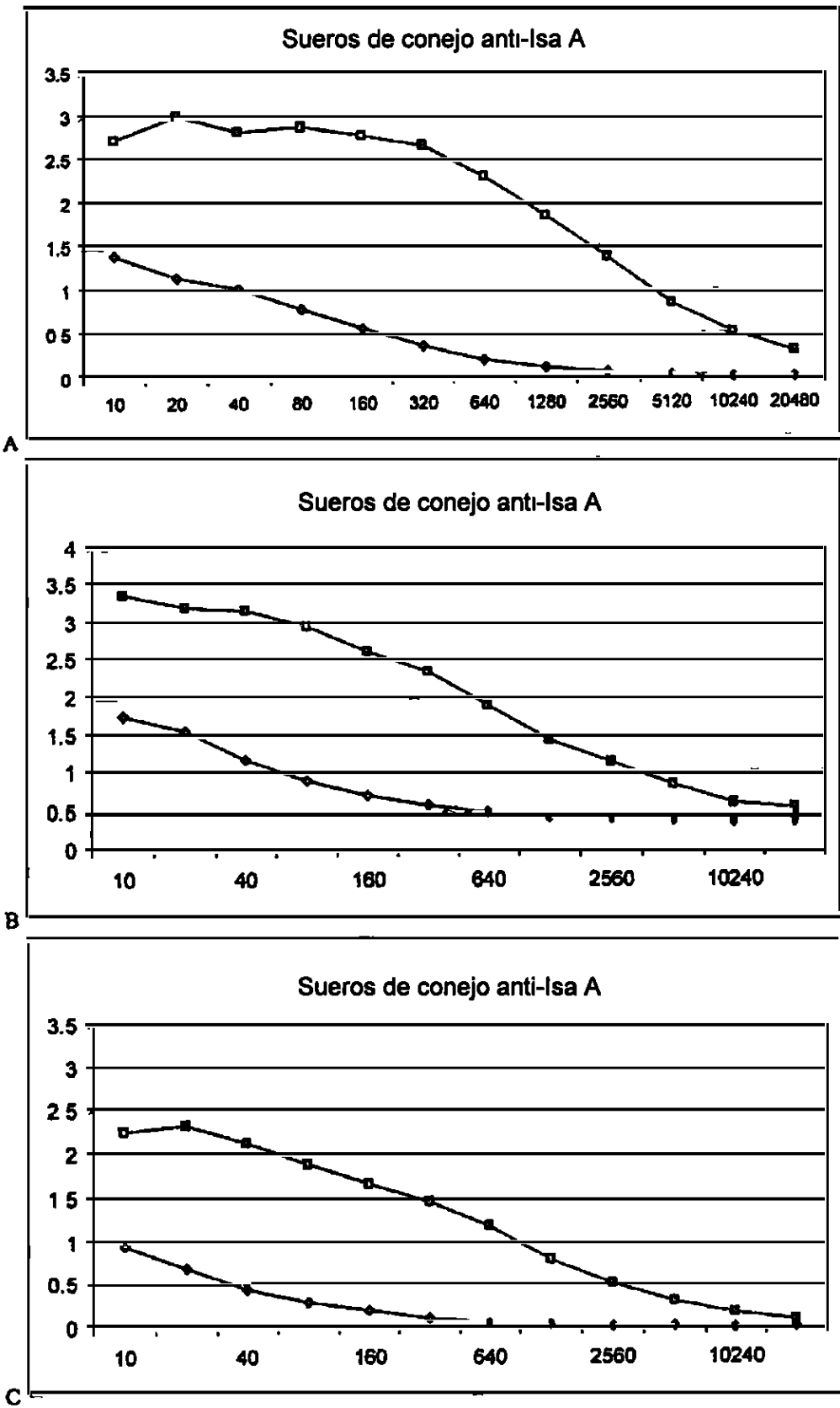
Fig. 6



235

233

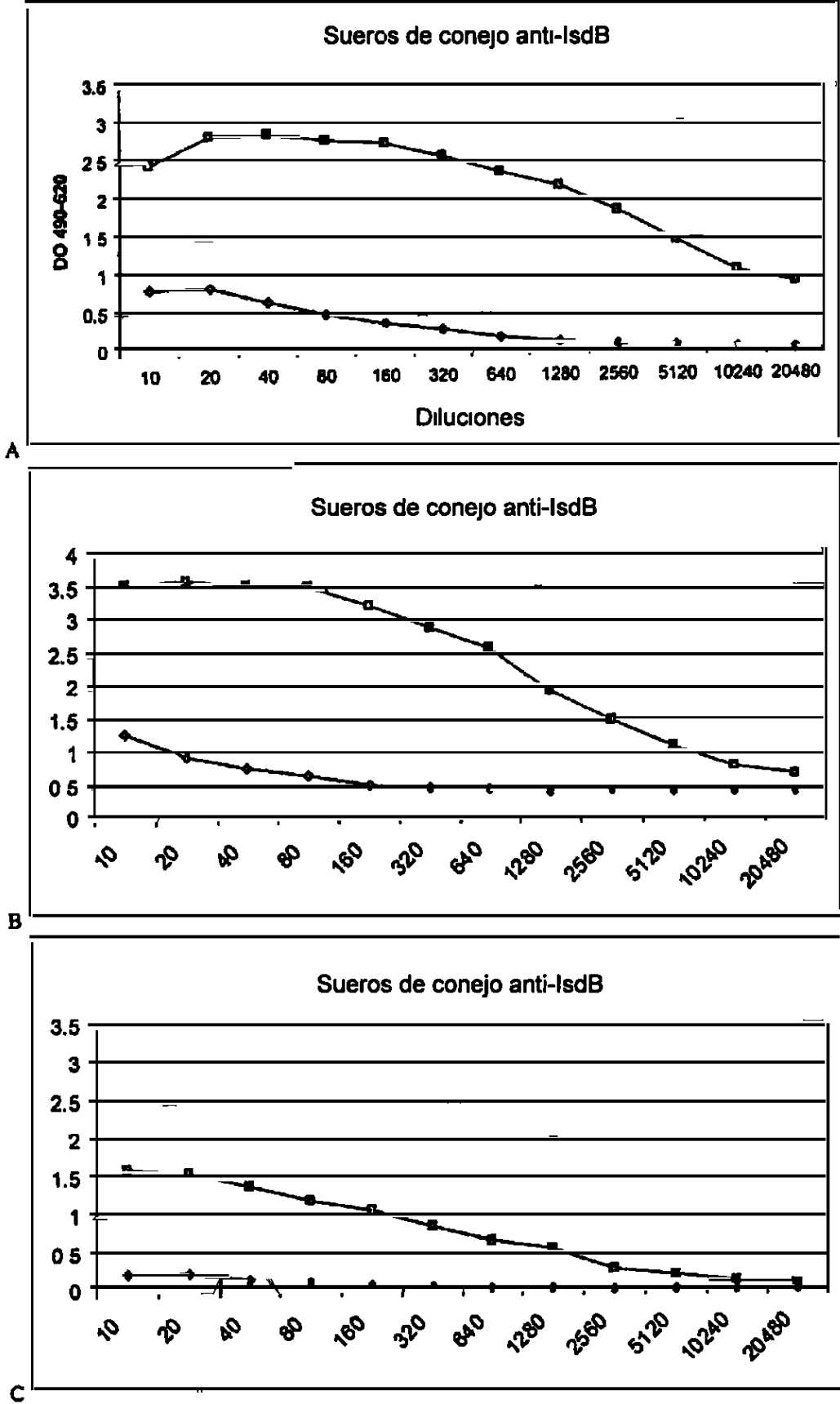
Fig. 7



236

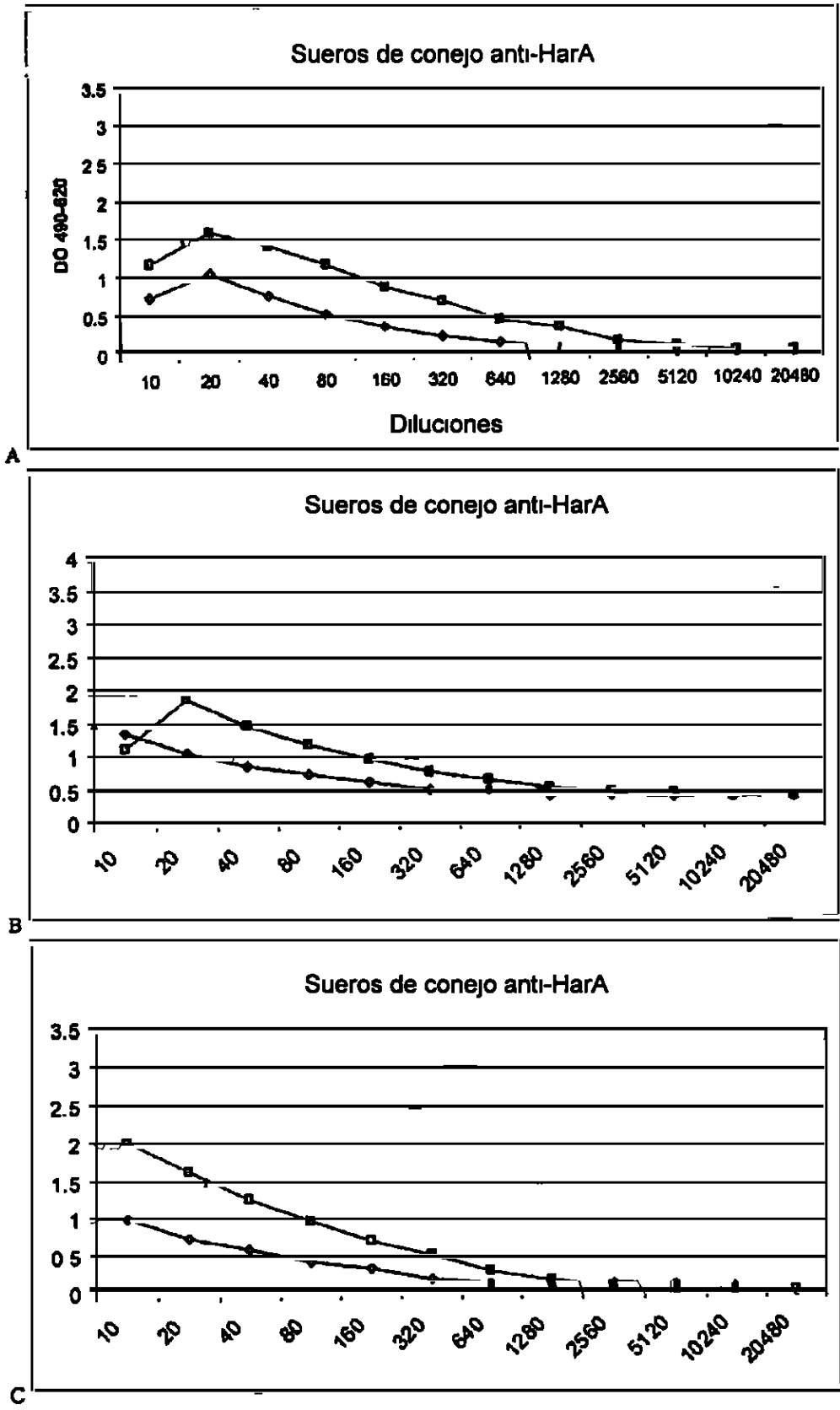
234

Fig. 7



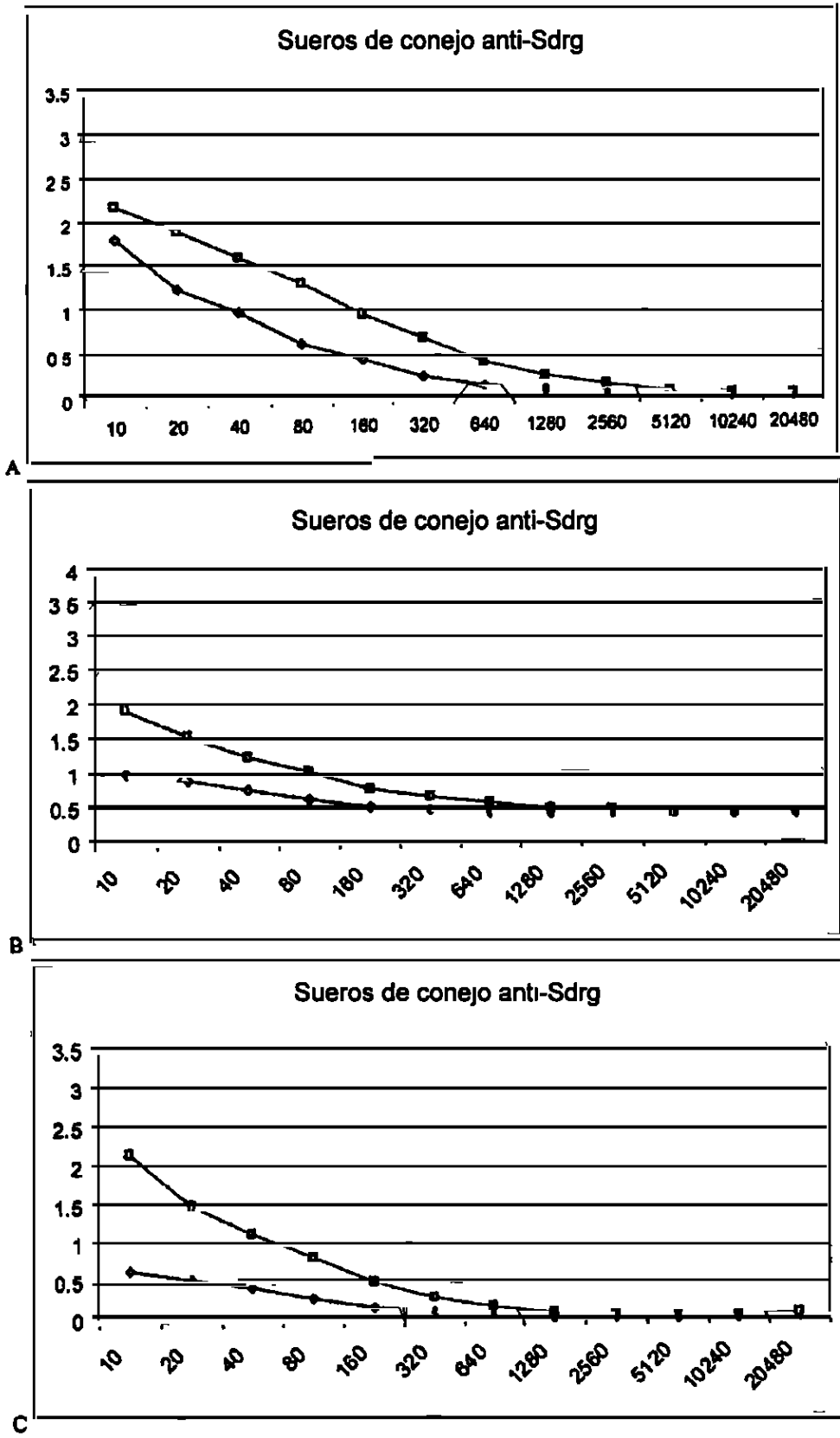
257

Fig. 7



236

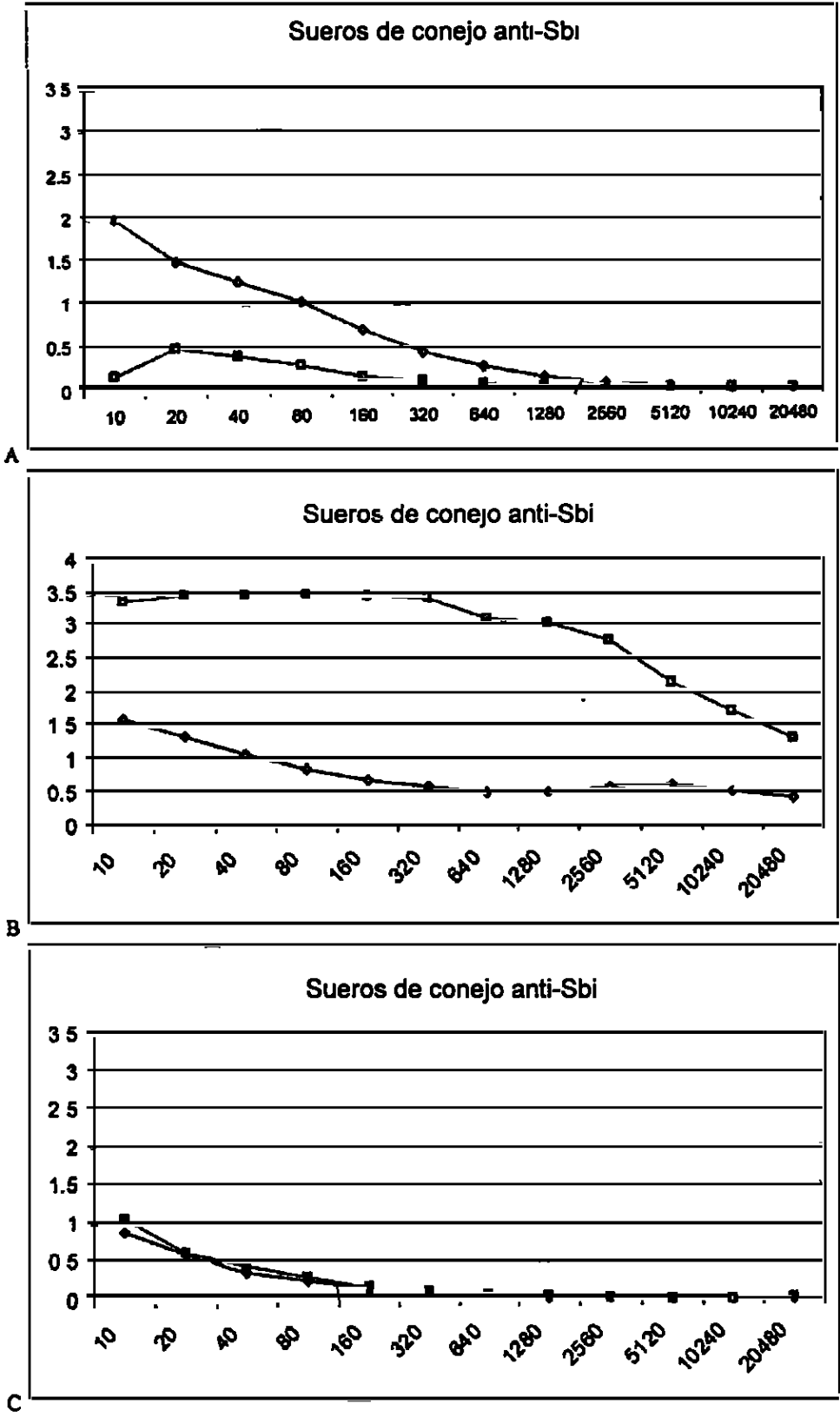
Fig. 7



239

237

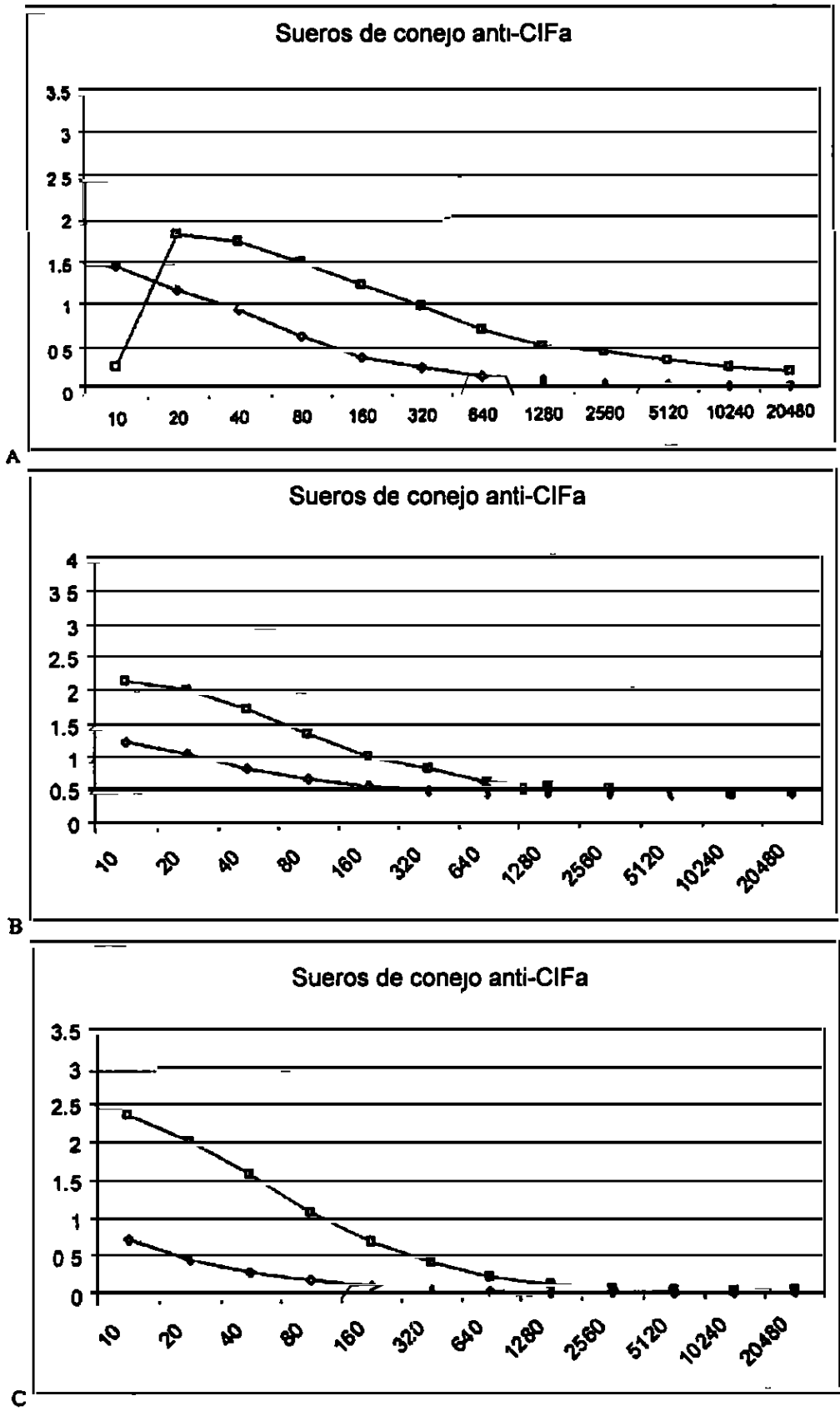
Fig. 7



240

238

Fig. 7



241

Fig. 7

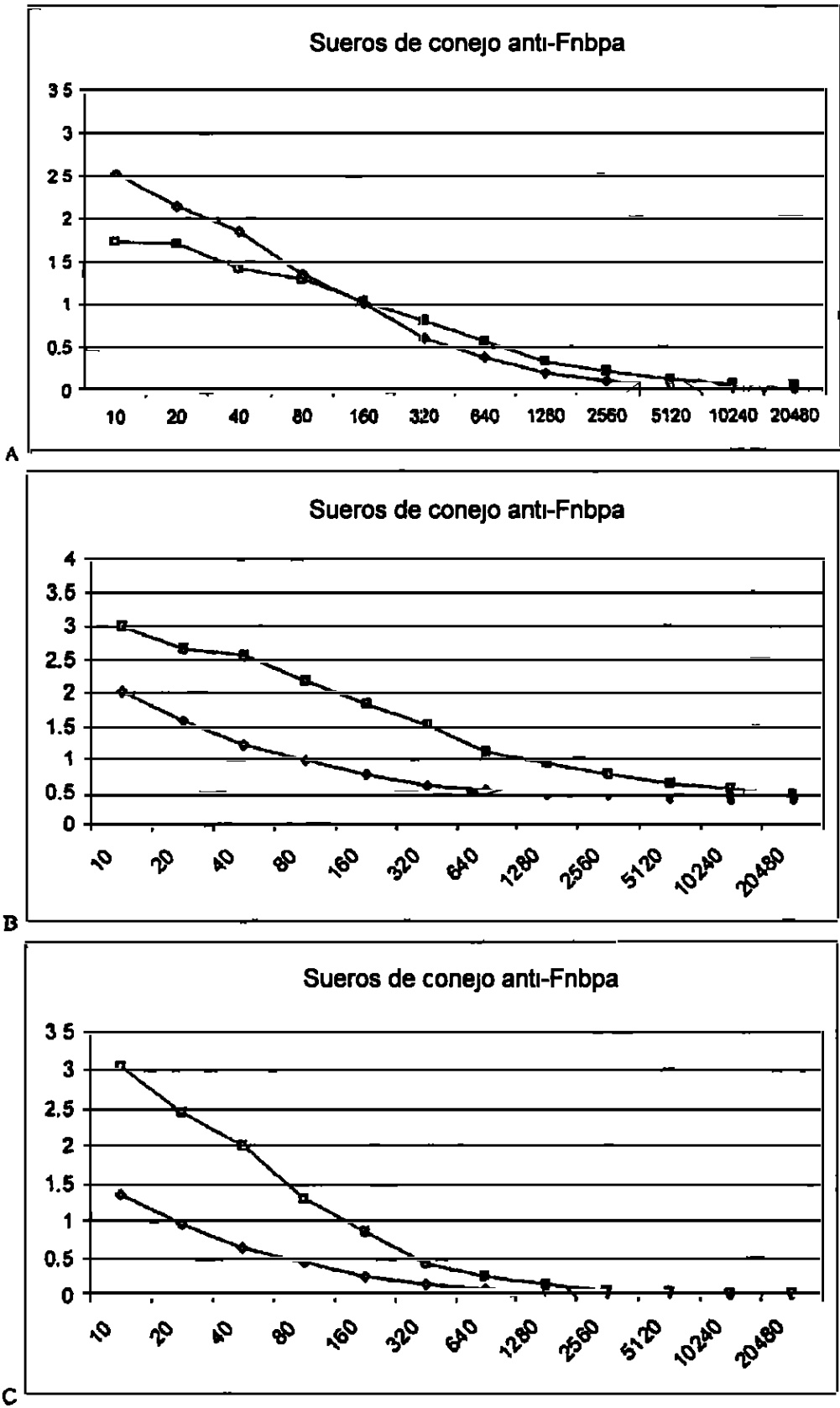


Fig. 7

