

VECTORES DE VIRUS ADENOASOCIADOS PARA EL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE HUNTER

REFERENCIAS CRUZADAS A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 [0001] La presente solicitud reivindica el beneficio y la prioridad del n.º de serie 62/945,920 de EE. UU. que se presentó el 10 de diciembre de 2019, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia.

ANTECEDENTES

10 [0002] El síndrome de Hunter, también conocido como mucopolisacaridosis tipo II (MPS II), es una enfermedad de almacenamiento lisosomal causada por la deficiencia o ausencia de la enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S). La iduronato-2-sulfatasa está implicada en la descomposición y el reciclado de mucopolisacáridos específicos, también conocidos como glucosaminoglicanos o GAG. Como resultado, en el síndrome de Hunter, el GAG se acumula en las células de todo el cuerpo, que a su vez interfiere con la función normal de varias células y órganos en el cuerpo, lo que provoca varios síntomas. En muchos casos del síndrome de Hunter, hay una gran acumulación de los GAG en las neuronas y las meninges de las personas afectadas, lo que conduce a varias formas de síntomas del sistema nervioso central (CNS), deterioro del desempeño cognitivo y retrasos en el desarrollo.

20 [0003] Se han usado varias opciones de tratamiento en el manejo del síndrome de Hunter, incluido el tratamiento de reemplazo de enzimas (ERT). Los tratamientos de ERT terapéuticos aprobados incluyen la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante. Sin embargo, la enzima I2S administrada por vía intravenosa tiene varias limitaciones, incluida la distribución deficiente en las células y los tejidos del CNS y la distribución deficiente en las células de los tejidos somáticos profundos, tales como el corazón, los pulmones y huesos. El tratamiento del síndrome de Hunter sigue siendo un desafío.

25 [0004] El uso de vectores que producen proteínas terapéuticas *in vivo* es conveniente para el tratamiento de la enfermedad, pero está limitado por varios factores, incluida la producción deficiente de las proteínas terapéuticas deseadas *in vivo*.

COMPENDIO

30 [0005] La presente invención proporciona vectores del virus adenoasociado recombinante (rAAV) eficientes y sólidos que codifican I2S (denominado I2S o IDS, en toda esta solicitud). La presente invención se basa en parte en el descubrimiento sorprendente de que los vectores del rAAV optimizados que comprenden las secuencias de I2S provocan la expresión sólida de I2S *in vivo*.

35 [0006] En algunos aspectos, la presente invención proporciona un vector del virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende una cápside de AAV8 y una secuencia que codifica una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) humana.

- [0007]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona un vector del virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende una cápside de AAV9 y una secuencia que codifica una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) humana.
- 5 **[0008]** En algunas realizaciones, el rAAV codifica una enzima I2S humana optimizada por codones. En algunas realizaciones, la I2S humana optimizada por codones tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada de la SEQ ID n.º: 11 o 12.
- 10 **[0009]** En algunas realizaciones, la secuencia que codifica una enzima I2S humana comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad a la SEQ ID n.º: 6. En algunas realizaciones, la enzima I2S humana se codifica mediante una secuencia de nucleótidos al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad a la SEQ ID n.º: 6. En algunas realizaciones, la enzima I2S humana se codifica mediante una secuencia de nucleótidos f la SEQ ID n.º: 6.
- 15 **[0010]** En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una enzima I2S humana comprende una secuencia idéntica a la SEQ ID n.º: 1. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una enzima I2S humana es la secuencia idéntica a la SEQ ID n.º: 1.
- [0011]** En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una enzima I2S humana comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad a la SEQ ID n.º: 2.
- 20 **[0012]** En algunas realizaciones, la secuencia que codifica una enzima I2S humana comprende una secuencia idéntica a la SEQ ID n.º: 2. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una enzima I2S humana es la secuencia idéntica a la SEQ ID n.º: 2.
- [0013]** En algunas realizaciones, la secuencia optimizada de codones que codifica una enzima I2S humana comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad a la SEQ ID n.º: 11 o 12. En algunas realizaciones, la
- 25 secuencia optimizada de codones que codifica una enzima I2S humana comprende una secuencia idéntica a la SEQ ID n.º: 11 o 12.
- [0014]** En algunas realizaciones, el vector comprende, además, un promotor específico del hígado.
- 30 **[0015]** En algunas realizaciones, el promotor específico del hígado es el promotor de transtiretina (TTR).
- [0016]** En algunas realizaciones, el vector comprende, además, una repetición terminal invertida 3' y 5' (ITR), un gen arriba de intrón de la secuencia de I2S y un módulo regulador cisactuante (CRM).
- [0017]** En algunas realizaciones, el vector comprende, además, un promotor ubicuo.
- 35 **[0018]** En algunas realizaciones, el vector comprende, además, una repetición terminal invertida 3' y 5', un gen arriba de intrón de la secuencia de I2S y un módulo regulador cisactuante (CRM).
- [0019]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende un factor que modifica la sulfatasa 1 (SUMF1).

- [0020]** En algunas realizaciones, el SUMF1 está precedido por un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).
- [0021]** En algunas realizaciones, el vector comprende, además, una secuencia de WPRE. En algunas realizaciones, la secuencia de WPRE es una secuencia variante de WPRE o una
5 secuencia optimizada de WPRE. En algunas realizaciones, la secuencia de WPRE se codifica mediante una secuencia de nucleótidos que tiene al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad a la SEQ ID n.º: 7. En algunas realizaciones, la secuencia de WPRE se codifica mediante una secuencia de nucleótidos que tiene una SEQ ID n.º: 7.
- [0022]** En algunas realizaciones, el intrón es un virus diminuto de ratón (MVM) o intrón de SV40.
10 En algunas realizaciones, el intrón es un intrón quimérico de β -globina/IgG.
- [0023]** En algunas realizaciones, el CRM es un CRM específico del hígado.
- [0024]** En algunas realizaciones, el CRM es un CRM específico de la neurona. En algunas realizaciones, el CRM es un CRM específico del músculo.
- [0025]** En algunas realizaciones, el CRM es CRM8.
- [0026]** En algunas realizaciones, el vector comprende al menos tres CRM.
15
- [0027]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona un virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende una cápside del AAV8 y un vector del rAAV, dicho vector que comprende: a) una repetición terminal invertida 5' (ITR); b.) un módulo regulador cisactuante (CRM); c.) un promotor específico del hígado; d) un virus diminuto de ratón (MVM); e. una
20 secuencia que codifica una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) humana; f.) un elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis Woodchuck (WPRE); y g.) un ITR 3'.
- [0028]** En algunas realizaciones, la secuencia que codifica una enzima I2S humana es una secuencia de tipo salvaje o una secuencia optimizada de codones.
- [0029]** En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que codifica una enzima I2S
25 humana es una secuencia que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% de identidad con la SEQ ID n.º: 6. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que codifica I2S humana es idéntica a la SEQ ID n.º 6. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que codifica una enzima I2S humana es una secuencia que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% de identidad con la SEQ ID n.º: 11 o 12. En algunas realizaciones, la
30 secuencia de nucleótidos que codifica una enzima I2S humana es una secuencia idéntica a la SEQ ID n.º: 11 o 12.
- [0030]** En algunas realizaciones, que comprende una secuencia que codifica un factor que modifica la sulfatasa 1 (SUMF1) y un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).
- [0031]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona un virus adenoasociado
35 recombinante (rAAV) que comprende una cápside del AAV9 y un vector del rAAV, dicho vector que comprende: a.) repetición terminal invertida 5' (ITR); b.) un módulo regulador cisactuante (CRM); c) un promotor ubicuo; d.) un virus diminuto de ratón (MVM); e.) una secuencia que

codifica una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) humana; f.) un elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis Woodchuck(WPRE); y g.) un ITR 3'.

[0032] En algunas realizaciones, la secuencia que codifica una enzima I2S humana es una secuencia de tipo salvaje o una secuencia optimizada de codones.

5 **[0033]** En algunas realizaciones, que comprende una secuencia que codifica un factor que modifica la sulfatasa 1 (SUMF1) y un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).

[0034] En algunas realizaciones, el vector del rAAV no comprende ApoB.

[0035] Un método para tratar un sujeto que tiene síndrome de Hunter (MPS II), que comprende la administración al sujeto que lo necesita de un rAAV de cualquiera de las reivindicaciones
10 anteriores.

[0036] Un método de tratamiento para un sujeto con síndrome de Hunter (MPS II), que consiste en administrar al sujeto que lo necesita un vector del virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende una cápside de AAV8 o AAV9 y un promotor unido operativamente a una secuencia de ácido nucleico que codifica la iduronato-2-sulfatasa (I2S), y donde la administración
15 da lugar a un aumento de la actividad enzimática de la I2S en el sujeto.

[0037] En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el suero del sujeto.

[0038] En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el hígado del sujeto.

20 **[0039]** En algunas realizaciones, la actividad del I2S se detecta en el sistema nervioso central (CNS).

[0040] En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el cerebro del sujeto.

[0041] En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el hipocampo, tálamo, cuerpo calloso, corteza, cerebelo o estrato del cerebro.
25

[0042] En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el riñón, etc. del sujeto. En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el corazón del sujeto. En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el pulmón del sujeto. En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en la médula
30 ósea del sujeto. En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se detecta en el riñón del sujeto.

[0043] En algunas realizaciones, el aumento de la actividad del I2S se mantiene durante al menos 30, 60, 90, 120, 150, 180 días o más después de una sola administración.

[0044] En algunas realizaciones, la concentración de la actividad de I2S se mide mediante el
35 ensayo de sulfato de heparina.

[0045] En algunas realizaciones, la concentración de la actividad de I2S se mide mediante el ensayo de dermatán sulfato.

- [0046]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del glucosaminoglicano (GAG) en el sujeto.
- [0047]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el suero del sujeto.
- 5 **[0048]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el hígado del sujeto.
- [0049]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el riñón, etc. del sujeto. En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el corazón del sujeto. En algunas realizaciones, la administración del
- 10 AAV reduce la concentración del GAG en el pulmón del sujeto. En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en la médula ósea del sujeto. En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el riñón del sujeto.
- [0050]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en
- 15 el CNS del sujeto.
- [0051]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el cerebro del sujeto.
- [0052]** En algunas realizaciones, la administración del AAV reduce la concentración del GAG en el hipocampo, tálamo, cuerpo calloso, corteza, cerebelo o estrato del cerebro.
- 20 **[0053]** En algunas realizaciones, el AAV se administra por vía intravenosa.
- [0054]** En algunas realizaciones, el AAV se administra por vía intratecal.
- [0055]** En algunas realizaciones, el AAV se administra en una dosis de aproximadamente 5×10^9 vg.
- [0056]** En algunas realizaciones, la administración del rAAV no provoca una respuesta
- 25 inmunitaria.
- [0057]** En las siguientes secciones se describen en detalle varios aspectos de la invención. El uso de las secciones no tiene como fin limitar la invención. Cada sección puede aplicarse a cualquier aspecto de la invención. En esta solicitud, el uso de “o” significa “y/o” a menos que se indique lo contrario. Como se usa en el presente documento, las formas singulares “un”, “una” y
- 30 “el/la” incluyen los referentes singulares y plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- [0058]** La Figura 1A es una representación esquemática del constructo de expresión para el vector de expresión hIDS. La Figura 1B es una serie de esquemas que muestran los constructos
- 35 de expresión optimizados de hIDS-WPRE. ITR: repetición terminal invertida; pTBG: promotor de la globulina de unión a la hormona de la tiroides; hTTR: promotor de transtiretina humana; CRM: módulo regulador cisactuante; intrón de MVM: intrón del virus diminuto de ratón; WPRE: elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis Woodchuck (WHV); BGH pA:

terminador de la hormona de crecimiento bovina + poliA; COOLopt: optimizado por codones mediante la plataforma COOL (optimización por codones en línea); AUSopt: optimizado por codones mediante la tabla interna de frecuencia de uso de codones.

5 **[0059]** La Figura 2 es una serie de esquemas que muestran los constructos de expresión optimizados de hIDS-IRES-SUMF1. ITR: repetición terminal invertida; pTBG: promotor de la globulina de unión a la hormona de la tiroides; hTTR: promotor de transtiretina humana; CRM: módulo regulador cisactuante; intrón de MVM: intrón del virus diminuto de ratón; WPRE: elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis Woodchuck (HWP); BGH pA: terminador de la hormona de crecimiento bovina + poliA; COOLopt: optimizado por codones
10 mediante la plataforma COOL (optimización por codones en línea); AUSopt: optimizado por codones mediante la tabla interna de frecuencia de uso de codones.

[0060] La Figura 3 es un gráfico que muestra las concentraciones totales de I2S en el suero de ratones el día 0, día 2, día 7, día 21, semana 8 y semana 12 después de la inyección de los vectores del rAAV identificados. La concentración de hI2S se determinó mediante ELISA.

15 **[0061]** La Figura 4A es un gráfico que muestra la actividad de I2S en el suero de ratones el día 0, día 2, día 7, día 21, semana 8 y semana 12 después de la inyección de los vectores del rAAV identificados. La Figura 4B es un gráfico que muestra la concentración de I2S en tejidos de ratones. La Figura 4C es un gráfico que muestra la actividad de I2S en tejidos de ratones. La Figura 4D es un gráfico que muestra la actividad relativa de I2S en animales a los que se les
20 administró vector que expresa hIDS en relación con el tipo salvaje.

[0062] La Figura 5A es un gráfico que muestra la concentración de GAG en el cerebro de los ratones. La Figura 5B es un gráfico que muestra la concentración de GAG en el hígado de los ratones. La Figura 5C es un gráfico que muestra la concentración de GAG en el riñón de los ratones en la semana 12 después de la inyección de los vectores del rAAV identificados.

25 **[0063]** La Figura 6A es un gráfico que muestra la concentración de GAG de heparán sulfato (HS) y dermatán sulfato (DS) en el hígado y riñón, etc. de los ratones en la semana 12 después de la inyección de los vectores del rAAV identificados. Se llevó a cabo ANOVA unidireccional en relación con los animales inactivados con varias comparaciones usando el método de Dunnett. **P<0,01, ***P<0,001.

30 **[0064]** La Figura 6B es un gráfico que muestra las concentraciones de la reducción porcentual de heparán sulfato (HS) y dermatán sulfato (DS) en el hígado y riñón, etc. en relación con los animales de control en la semana 12 después de la inyección de los vectores del rAAV identificados.

35 **[0065]** La Figura 7A es un gráfico que muestra la concentración de LAMP1 en el hígado determinada por la tinción inmunohistoquímica de LAMP1, que funciona como un biomarcador de detección del compartimento reducido de almacenamiento lisosómico. Se llevó a cabo ANOVA unidireccional en relación con los animales inactivados con varias comparaciones usando el método de Dunnett. *** P<0,001 indicado. La Figura 7B es un gráfico que muestra la

concentración de LAMP1 en el cerebro determinada por la tinción inmunohistoquímica de LAMP1, que funciona como un biomarcador de la detección del compartimento reducido de almacenamiento lisosómico. Se llevó a cabo ANOVA unidireccional en relación con los animales inactivados con varias comparaciones usando el método de Dunnett. *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001.

[0066] La Figura 8 es un gráfico que muestra concentraciones totales de hI2S en el suero de ratones el día 2, día 7 y día 21 después de la inyección con vectores que expresan hI2S y SUMF1.

[0067] La Figura 9 es un gráfico que muestra la actividad de hI2S en el suero de ratones el día 0, día 2, día 7 y día 21 después de la inyección de los vectores del rAAV identificados.

[0068] La Figura 10 es un gráfico que muestra la concentración de I2S hasta 364 días después de la inyección. La Figura 11 es un gráfico que muestra la concentración de I2S hasta 364 días después de la inyección.

[0069] La Figura 12A es un gráfico de la concentración de I2S en ratones a los que se les administró hI2S según lo medido por ELISA en suero y tejido durante 12 meses. La Figura 12B es un gráfico de la actividad de I2S en suero y tejido de ratones. La Figura 12C es un gráfico de la concentración de GAG en tejidos de ratones. La Figura 12D es un gráfico de reducción del porcentaje en la concentración de GAG en tejidos de ratones. La Figura 12E es un gráfico de tinción de LAMP1, que es un biomarcador del compartimento de almacenamiento lisosómico. Se realizaron estadísticas usando ANOVA unidireccional en relación con los animales inactivados con varias comparaciones usando el método de Dunnett. *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ns=no significativo.

[0070] La Figura 13A muestra un gráfico de volumen óseo en el húmero. La Figura 13B muestra un gráfico de volumen óseo en el arco cigomático según lo medido por microCT en ratones a los que se les administró I2S en relación con los animales de control.

[0071] La Figura 14A muestra un gráfico de la concentración de I2S en ratones a los que se les administró dosis baja de hI2S según lo medido por ELISA en suero durante 90 días. La Figura 14B es un gráfico de la actividad de I2S en suero. La Figura 14C es un gráfico de la concentración de I2S en tejidos de ratones. La Figura 14D es un gráfico de la actividad de I2S en tejidos de ratones. La Figura 14E es un gráfico de la actividad relativa de I2S en animales a los que se les administró una dosis baja de hI2S en relación con animales de tipo salvaje.

[0072] La Figura 14F es un gráfico que muestra las concentraciones de tinción de LAMP1 en ratones a los que se les administró hI2S en tejidos somáticos incluido el hígado, bazo, corazón y riñón. La Figura 14G es un gráfico que muestra las concentraciones de tinción de LAMP1 en el cerebro.

[0073] La Figura 15A es un gráfico que muestra la concentración de I2S en suero en primates no humanos que recibieron una dosis baja de I2S. La Figura 15B es un gráfico que muestra la actividad de I2S en suero en primates no humanos que recibieron una dosis baja de I2S.

[0074] La Figura 15C es un gráfico que muestra la concentración de I2S en suero en primates no humanos que recibieron una dosis alta de I2S. La Figura 15D es un gráfico que muestra la actividad de I2S en suero en primates no humanos que recibieron una dosis alta de I2S.

[0075] La Figura 16 muestra los perfiles de la concentración de I2S y actividad enzimática en primates no humanos y perfiles de actividad ADA contra I2S en los mismos animales.

[0076] La Figura 17A muestra la concentración de hI2S en el hígado de primates no humanos administrados con una dosis baja de hI2S. La Figura 17B muestra la concentración de hI2S en el hígado de primates no humanos administrados con una dosis alta de hI2S.

[0077] La Figura 18A muestra la concentración de hI2S en el riñón de primates no humanos administrados con dosis altas y bajas de I2S. La Figura 18B muestra la concentración de hI2S en el bazo de primates no humanos administrados con dosis altas y bajas de I2S. La Figura 18C muestra la concentración de hI2S en el pulmón de primates no humanos administrados con dosis altas y bajas de I2S. La Figura 18D muestra la concentración de hI2S en el corazón de primates no humanos administrados con dosis altas y bajas de I2S. La Figura 18E muestra la concentración de hI2S en la médula ósea de primates no humanos administrados con dosis altas y bajas de I2S.

DEFINICIONES

[0078] *Virus adenoasociado (AAV)*: Como se usa en el presente documento, los términos “virus adenoasociado” o “AAV” o AAV recombinante (“rAAV”) incluye, a mero título enunciativo, AAV tipo 1, AAV tipo 2, AAV tipo 3 (incluidos tipos 3A y 3B), AAV tipo 4, AAV tipo 5, AAV tipo 6, AAV tipo 7, AAV tipo 8, AAV tipo 9, AAV tipo 10, AAV tipo 11, AAV aviar, AAV bovino, AAV canino, AAV equino y AAV ovino (véase, p. ej., Fields *et al.*, Virology, volume 2, chapter 69 (4th ed., Lippincott-Raven Publishers); Gao *et al.*, J. Virology 78:6381-6388 (2004); Mori *et al.*, Virology 330:375-383 (2004)). En general, el AAV puede infectar las células divisorias y no divisorias y puede estar presente en el estado extracromosómico sin integrarse en el genoma de una célula hospedadora. Los vectores de AAV se usan con frecuencia en la terapia génica.

[0079] *Administración*: Como se usa en el presente documento, los términos “administración” o “introducción” se usan de forma intercambiable en el contexto de suministro de vectores de rAAV que codifican I2S en un sujeto, mediante un método o vía que causa un suministro eficaz del vector del rAAV. En la técnica se conocen varios métodos para la administración de los vectores de rAAV, incluida, por ejemplo, intravenosa, subcutánea o transdérmica. La administración transdérmica del vector del rAAV se puede realizar mediante el uso de “biolística” o sistema de suministro de partícula de biolística. En algunas realizaciones, los vectores de rAAV y/o el casete de expresión transgénica y/o las secuencias transgénicas optimizadas de *IDS* y/o cualquier composición del casete de expresión génica se administran a través de las partículas químicas no víricas tales como nanopartículas lipídicas, moléculas biológicas no víricas tales como exosomas y/o vesícula extracelular.

[0080] *Animal*: Como se usa en el presente documento, el término “animal” se refiere a cualquier miembro del reino animal. En algunas realizaciones, “animal” se refiere a humanos, en cualquier etapa del desarrollo. En algunas realizaciones, “animal” se refiere a animales no humanos, en cualquier etapa del desarrollo. En determinadas realizaciones, el animal no humano es un mamífero (*p. ej.*, un roedor, un ratón, una rata, un mono, un perro, un gato, una oveja, vacas, un primate y/o un cerdo). En algunas realizaciones, los animales incluyen, a mero título enunciativo, mamíferos, pájaros, reptiles, anfibios, peces, insectos y/o gusanos. En algunas realizaciones, un animal puede ser un animal transgénico, un animal diseñado genéticamente y/o un clon.

[0081] Los polipéptidos de inmunoglobulina reconocidos incluyen cadenas ligeras κ y λ , y las cadenas pesadas α , γ (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), δ , ϵ y μ o equivalentes en otras especies. Las “cadenas ligeras” de gen de longitud completa de inmunoglobulina (de aproximadamente 25 kDa o aproximadamente 214 aminoácidos) comprenden una región variable de aproximadamente 110 aminoácidos en la NH₂-terminal y región constante de κ o λ en la COOH-terminal. Las “cadenas pesadas” de gen de longitud completa de inmunoglobulina (de aproximadamente 50 kDa o aproximadamente 446 aminoácidos), comprenden, de forma similar, una región variable (de aproximadamente 116 aminoácidos) y una de las regiones constantes de la cadena pesada y ligera mencionadas arriba, *p. ej.*, γ (de aproximadamente 330 aminoácidos).

[0082] *Aproximadamente*: Como se usa en el presente documento, el término “aproximadamente”, según se aplica a uno o más de uno de valores de interés, se refiere a un valor que es similar a un valor de referencia indicado. En determinadas realizaciones, los términos “aproximadamente” y “alrededor de” se refieren a un intervalo de valores que caen dentro del 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o menos en cualquier dirección (mayor o menor) del valor de referencia establecido, a menos que se indique lo contrario o sea evidente por el contexto (excepto cuando tal número exceda el 100% de un posible valor).

[0083] *Biológicamente activo*: Como se usa en el presente documento, la frase “biológicamente activo” se refiere a una característica de cualquier agente que tiene una actividad en un sistema biológico y particularmente en un organismo. Por ejemplo, un agente que, cuando se administra a un organismo, tiene un efecto biológico en ese organismo, se considera biológicamente activo. En realizaciones particulares, donde un péptido es biológicamente activo, una porción de ese péptido que comparte al menos una actividad biológica del péptido en general se denomina una porción “biológicamente activa”.

[0084] *Equivalente o derivado funcional*: Como se usa en el presente documento, el término “equivalente funcional” o “derivado funcional” denota, en el contexto de un derivado funcional de una secuencia de aminoácidos, una molécula que retiene una actividad biológica (ya sea la función o estructural) que es sustancialmente similar a la de la secuencia original. Un derivado o equivalente funcional puede ser un derivado natural o prepararse sintéticamente. Los derivados funcionales ejemplares incluyen secuencias de aminoácidos que tienen sustituciones, delecciones

o adiciones de uno o más de uno de aminoácidos, siempre que se conserve la actividad biológica de la proteína. El aminoácido de sustitución tiene, preferentemente, propiedades químico-físicas que son similares a la del aminoácido sustituido. Las propiedades químico-físicas similares deseables incluyen similitudes en carga, voluminosidad, hidrofobicidad, hidrofiliidad y similares.

5 **[0085]** *In vitro*: Como se usa en el presente documento, el término “*in vitro*” se refiere a eventos que ocurren en un entorno artificial, p. ej., en un tubo de prueba o recipiente de reacción, en el cultivo celular, etc., en lugar de dentro de un organismo multicelular.

[0086] *In vivo*: Como se usa en el presente documento, el término “*in vivo*” se refiere a eventos que ocurren dentro de un organismo multicelular, tal como un animal humano y no humano. En
10 el contexto de sistemas basados en células, el término se puede usar para referirse a eventos que ocurren dentro de una célula viviente (en oposición a, por ejemplo, sistemas *in vitro*).

[0087] *IRES*: Como se usa en el presente documento, el término “*IRES*” se refiere a cualquier secuencia adecuada del sitio de entrada interna del ribosoma.

[0088] *Aislado*: Como se usa en el presente documento, el término “aislado” se refiere a una
15 sustancia y/o entidad que (1) se ha separado de al menos algunos de los componentes con los que estaba asociado cuando se produjo inicialmente (ya sea en un entorno de naturaleza y/o experimental), y/o (2) se ha producido, preparado y/o fabricado por la mano del hombre. Las sustancias y/o entidades aisladas se pueden separar de al menos aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente
20 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, sustancialmente 100%, o 100% de los otros componentes con los que se asociaron inicialmente. En algunas realizaciones, los agentes aislados son más de aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente
25 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, sustancialmente 100%, o 100% puros. Como se usa en el presente documento, una sustancia es “pura” si está sustancialmente libre de otros componentes. Como se usa en el presente documento, el término “célula aislada” se refiere a una célula no contenida en un
30 organismo multicelular.

[0089] *Polipéptido*: El término “polipéptido” como se usa en el presente documento se refiere a una cadena secuencial de aminoácidos ligados juntos a través de enlaces peptídicos. El término se usa para referirse a una cadena de aminoácidos de cualquier longitud, pero un experto en la técnica comprenderá que el término no está limitado a cadenas largas y puede referirse a una
35 cadena mínima que comprende dos aminoácidos ligados juntos a través de un enlace peptídico. Como lo conocen los expertos en la técnica, los polipéptidos se pueden procesar y/o modificar.

[0090] *Proteína*: El término “proteína” como se usa en el presente documento se refiere a uno o más de uno de los polipéptidos que funcionan como una unidad discreta. Si un polipéptido único

es la unidad discreta de funcionamiento y no requiere una asociación física permanente o temporal con otros polipéptidos para que forme la unidad discreta de funcionamiento, los términos “polipéptido” y “proteína” se pueden usar de forma intercambiable. Si la unidad discreta funcional está compuesta de uno o más de un polipéptido que se asocia físicamente con otro, el término “proteína” se refiere a varios polipéptidos que están físicamente unidos y funcionan juntos como la unidad discreta.

[0091] Elemento regulador: Como se usa en el presente documento, el término “elemento regulador” se refiere a los elementos de control transcripcionales, en particular los elementos de control de transcripción cisactuantes de no codificación, capaces de regular y/o controlar la transcripción de un gen. Los elementos reguladores comprenden al menos un sitio de unión del factor de transcripción, por ejemplo, al menos un sitio de unión para un factor de transcripción específico del tejido. En realizaciones descritas en el presente documento, los elementos reguladores tienen al menos un sitio de unión para un factor de transcripción específico del hígado. En general, los elementos reguladores aumentan o estimulan la expresión génica impulsada por el promotor cuando se compara con la transcripción del gen a partir de solamente el promotor, sin los elementos reguladores. Por lo tanto, los elementos reguladores comprenden, particularmente, las secuencias estimulantes, aunque se debe comprender que la transcripción estimulante de los elementos reguladores no está limitada a las secuencias estimulantes típicas lejos en el gen arriba, pero pueden ocurrir en cualquier distancia del gen que regulan. Como se comprende en la técnica, las secuencias que regulan la transcripción se pueden situar ya sea gen arriba (p. ej., en la región del promotor) o gen abajo (p. ej., en el UTR 3') del gen que está regulado *in vivo*, y se puede ubicar en la vecindad inmediata del gen o más lejos. Los elementos reguladores pueden comprender secuencias que ocurren de forma natural, combinaciones de (partes de) dichos elementos reguladores o varias copias de un elemento regulador, p. ej., secuencias que ocurren de forma no natural. Por consiguiente, los elementos reguladores incluyen elementos reguladores que ocurren de forma natural y optimizados o diseñados para lograr un contenido de expresión deseado.

[0092] Sujeto: Como se usa en el presente documento, el término “sujeto” se refiere a un humano o cualquier animal no humano (p. ej., ratones, ratas, conejos, perros, gatos, ganado, cerdos, ovejas, caballos o primates). Un humano incluye formas prenatales y posnatales. En muchas realizaciones, el sujeto es un ser humano. Un sujeto puede ser un paciente, que se refiere a un humano que se presenta ante un proveedor médico para el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad. El término “sujeto” se usa en el presente documento de forma intercambiable con “persona” o “paciente”. Un sujeto puede estar afectado por o ser propenso a una enfermedad o un trastorno, o puede no mostrar síntomas de la enfermedad o del trastorno

[0093] Sustancialmente: Como se usa en el presente documento, el término “sustancialmente” se refiere a la condición cualitativa de exhibir un alcance o grado total o casi total de una característica o propiedad de interés. Un experto en la técnica biológica comprenderá que el

fenómeno biológico y químico rara vez, si sucede, alcanza la compleción y/o procede a la compleción, o logra o evita un resultado absoluto. El término “sustancialmente”, por lo tanto, se usa en el presente documento para capturar la posible falta de compleción inherente en muchos fenómenos biológicos y químicos.

5 **[0094]** *Homología sustancial*: La frase “homología sustancial” se usa en el presente documento para referirse a una comparación entre secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos. Como apreciarán los expertos en la técnica, dos secuencias en general se consideran “sustancialmente homólogas” si contienen residuos homólogos en posiciones correspondientes. Los residuos homólogos pueden ser residuos homólogos. De manera alternativa, los residuos homólogos
10 pueden ser residuos no homólogos que tendrán, de manera adecuada, características estructurales y/o funcionales similares. Por ejemplo, como es bien conocido por los expertos en la técnica, determinados aminoácidos se clasifican, en general, como aminoácidos “hidrofóbicos” o “hidrofílicos” y/o como que tienen cadenas laterales “polares” o “no polares”. La sustitución de un aminoácido por otro del mismo tipo a menudo se puede considerar una sustitución
15 “homóloga”.

[0095] Como es bien conocido en esta técnica, las secuencias de aminoácido o ácido nucleico se pueden comparar usando una variedad de algoritmos, incluidos los disponibles en programas informáticos comerciales tal como BLASTN para las secuencias de nucleótidos y BLASTP, BLAST con huecos y PSI-BLAST para las secuencias de aminoácidos. Los ejemplos de dichos
20 programas se describen en Altschul, *et al.*, basic local alignment search tool, *J. Mol. Biol.*, 215(3): 403-410, 1990; Altschul, *et al.*, *Methods in Enzymology*; Altschul, *et al.*, “Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs”, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997; Baxevanis, *et al.*, *Bioinformatics : A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, Wiley, 1998; and Misener, *et al.*, (eds.), *Bioinformatics Methods and Protocols* (Methods
25 in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999. Además de identificar las secuencias homólogas, los programas mencionados arriba proporcionan, en general, una indicación del grado de homología. En algunas realizaciones, dos secuencias se consideran sustancialmente homólogas si al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de sus residuos correspondientes son homólogos en un
30 tramo relevante de residuos. En algunas realizaciones, el tramo relevante es una secuencia completa. En algunas realizaciones, el tramo relevante es al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 o más residuos.

[0096] *Identidad sustancial*: La frase “identidad sustancial” se usa en el presente documento para referirse a una comparación entre secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos. Como apreciarán los expertos en la técnica, dos secuencias en general se consideran “sustancialmente idénticas” si contienen residuos idénticos en posiciones correspondientes. Como es bien conocido en esta técnica, las secuencias de aminoácido o ácido nucleico se pueden comparar
35

usando una variedad de algoritmos, incluidos los disponibles en programas informáticos comerciales tal como BLASTN para las secuencias de nucleótidos y BLASTP, BLAST con huecos y PSI-BLAST para las secuencias de aminoácidos. Los ejemplos de dichos programas se describen en Altschul, *et al.*, basic local alignment search tool, *J. Mol. Biol.*, 215(3): 403-410, 1990; Altschul, *et al.*, *Methods in Enzymology*; Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997; Baxevanis *et al.*, *Bioinformatics : A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, Wiley, 1998; and Misener, *et al.*, (eds.), *Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132)*, Humana Press, 1999. Además de identificar las secuencias idénticas, los programas mencionados arriba proporcionan, en general, una indicación del grado de identidad. En algunas realizaciones, dos secuencias se consideran sustancialmente idénticas si al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de sus residuos correspondientes son idénticos en un tramo relevante de residuos. En algunas realizaciones, el tramo relevante es una secuencia completa. En algunas realizaciones, el tramo relevante es al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 o más residuos.

[0097] Padece: Una persona que “padece” una enfermedad, trastorno y/o afección ha sido diagnosticada una enfermedad, un trastorno y/o una afección o muestra uno o más de un síntoma de estos.

[0098] Cantidad terapéuticamente eficaz: Como se usa en el presente documento, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” de un agente terapéutico que es suficiente, cuando se administra a un sujeto que padece o es propenso a una enfermedad, un trastorno y/o una afección, para tratar, diagnosticar, prevenir y/o retrasar la aparición de los síntomas de una enfermedad, un trastorno y/o una afección. Los expertos en la técnica apreciarán que una cantidad terapéuticamente eficaz se administre, en general, a través de una pauta posológica que comprende al menos una dosis unitaria.

[0099] Tratar: Como se usa en el presente documento, el término “tratar” o “tratamiento” se refiere a cualquier método usado para aliviar, mitigar, atenuar, inhibir, prevenir, retrasar la aparición, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de forma parcial o completa de uno o más de un síntoma o característica de una enfermedad, un trastorno y/o una afección particular. El tratamiento se puede administrar a un sujeto que no exhibe signos de una enfermedad y/o exhibe solamente los signos tempranos de la enfermedad con el fin de disminuir el riesgo de desarrollar la patología asociada con la enfermedad.

[0100] El recitado de los intervalos numéricos mediante criterios de valoración en el presente documento incluye todos los números y las fracciones incluidos dentro de ese intervalo (p. ej. 1 a 5 incluye 1, 1,5, 2, 2,75, 3, 3,9, 4 y 5). También se debe comprender que todos los números y todas las fracciones de estos se asumen modificados por el término “aproximadamente”.

[0101] En las siguientes secciones se describen en detalle varios aspectos de la invención. El uso de las secciones no tiene como fin limitar la invención. Cada sección puede aplicarse a cualquier aspecto de la invención. En esta solicitud, el uso de “o” significa “y/o” a menos que se indique lo contrario. Como se usa en el presente documento, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen los referentes singulares y plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

[0102] En las siguientes secciones se describen en detalle varios aspectos de la invención. El uso de las secciones no tiene como fin limitar la invención. Cada sección puede aplicarse a cualquier aspecto de la invención. En esta solicitud, el uso de “o” significa “y/o” a menos que se indique lo contrario.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0103] La presente divulgación describe los vectores eficientes y sólidos del virus adenoasociado recombinante (rAAV) para la producción *in vivo* de I2S para el tratamiento de enfermedades asociados con una deficiencia de I2S, tal como síndrome de Hunter.

[0104] La mucopolisacaridosis tipo II (MPS II, síndrome de Hunter) es un trastorno lisosómico recesivo ligado con el cromosoma X que proviene de una deficiencia en la enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S). I2S escinde las porciones del terminal 2-O-sulfato del dermatán sulfato y heparán sulfato de los glucosaminoglicanos (GAG). Debido a la enzima I2S faltante o defectuosa en pacientes con síndrome de Hunter, GAG se acumula de forma progresiva en los lisosomas de una variedad de tipos de células, lo que conduce a la congestión celular, organomegalia, destrucción del tejido y disfunción del sistema orgánico.

[0105] En general, las manifestaciones físicas para las personas con síndrome de Hunter incluyen síntomas somáticos y neuronales. Por ejemplo, en algunos casos del síndrome de Hunter, la implicación del sistema nervioso central (CNS) conduce a retrasos en el desarrollo y problemas del sistema nervioso. Los síntomas tal como la neurodegeneración y el retraso mental aparecen durante la infancia, y los pacientes con síndrome de Hunter que padecen efectos neuronales a menudo mueren a temprana edad debido al daño del órgano al cerebro. De manera similar, la acumulación de GAG puede afectar de manera adversa los sistemas de órganos del cuerpo. Inicialmente manifestándose como un engrosamiento de la pared del corazón, los pulmones y las vías respiratorias, y engrosamiento anormal del hígado, bazo y riñones, estos cambios profundos pueden conducir, finalmente, a una insuficiencia orgánica catastrófica diseminada. Como resultado, el síndrome de Hunter siempre es grave, progresivo y limitante.

[0106] El tratamiento de reemplazo de enzimas (ERT) es un tratamiento aprobado para el síndrome de Hunter (MPS II), que implica la administración de la enzima I2S de reemplazo exógena a pacientes con síndrome de Hunter. Sin embargo, hay varias desventajas asociadas con el ERT, incluido, entre estos se encuentra, por ejemplo, la distribución limitada de I2S a varios órganos selectivos.

[0107] Los vectores descritos en el presente documento proporcionan la expresión sólida de I2S en varios órganos, incluidos, por ejemplo, hígado, riñón, bazo, corazón, pulmón y el sistema nervioso central. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el hígado. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el riñón. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el bazo. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el corazón. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el pulmón. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el sistema nervioso central. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento provocan la expresión del I2S en el plasma.

Diseño del vector del I2S del rAAV

[0108] En algunos aspectos, en el presente documento se proporciona un vector del virus adenoasociado recombinante (rAAV) que codifica una proteína iduronato-2-sulfatasa (I2S). En la Figura 1B se muestra un esquema de los vectores de rAAV ejemplares de la presente divulgación. Como se muestra en la Figura 1B, en algunas realizaciones, un vector del rAAV de la presente divulgación comprende un promotor específico del hígado, una repetición terminal invertida 3' y 5' (ITR), un módulo regulador cisactuante (CRM), un intrón y una secuencia de WPRE.

[0109] En algunas realizaciones, el vector también incluye un gen del factor que modifica la sulfatasa 1 (SUMF). En algunas realizaciones, el vector comprende un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).

[0110] La iduronato-2-sulfatasa (I2S) del vector puede ser una variante de tipo salvaje u optimizada por codones. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende una secuencia de nucleótidos de I2S de tipo salvaje. En algunas realizaciones, comprende una secuencia de I2S optimizada por codones.

[0111] Un I2S adecuado para la presente invención es cualquier proteína o una porción de una proteína que puede sustituir al menos la actividad parcial de la proteína iduronato-2-sulfatasa (I2S) que ocurre de forma natural o rescatar uno o más fenotipos o síntomas asociados con la deficiencia de I2S. Como se usa en el presente documento, los términos “una enzima I2S” y “una proteína I2S”, y equivalentes gramaticales, se usan de forma intercambiable.

[0112] En general, la proteína I2S humana se produce como una forma precursora. La forma precursora de la I2S humana contiene un péptido señalizador (residuos de aminoácidos 1-25 del precursor de gen de longitud completa), un propéptido (residuos de aminoácidos 26-33 del precursor de gen de longitud completa), y una cadena (residuos 34-550 del precursor de gen de longitud completa) que se puede procesar adicionalmente en la cadena de 42 kDa (residuos 34-455 del precursor de gen de longitud completa) y la cadena de 14 kDa (residuos 446-550 del

precursor de gen de longitud completa). En general, la forma precursora también se denomina precursor de gen de longitud completa o proteína I2S de gen de longitud completa, que contiene 550 aminoácidos. Las secuencias de aminoácidos de la forma madura (SEQ ID n.º: 1) que tiene el péptido señalizador eliminado y el precursor de gen de longitud completa (SEQ ID n.º: 2) de una proteína I2S humana de tipo salvaje o que ocurre de forma natural se muestran en la Tabla 1. El péptido señalizador está subrayado.

Tabla 1. Iduronato-2-sulfatasa humana

Forma madura	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRLPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQ NAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYF KENG YVTMSVGKVFHPGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTC RGPDGELHANLLCPVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPPF LAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDI RQREDVQALNISVPYGPVDFQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDD LQLANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASL PEAGEKLPYLDPFDSASQLMEPGRQSM DLVELVSLFPTLAGLAGLQVP PRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPR PSDIPQWNSDKPSLKD IKIMGYSIRTIDYRYTVWVG FNPDEFLANFSDIHA GELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP (SEQ ID n.º: 1)
Precursor de gen de longitud completa	<u>MPPPR</u> TGRGLLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDDLRLPS LGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDT TRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVTMSVGKVFHPGISSNHTD DSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLCPVDVLDVPEGT LPDKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPPFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLE NITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPVDFQR KIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWALGEHGE WAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLPYLDPFDSASQLMEP GRQSM DLVELVSLFPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFR FRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKD IKIMGYSI RTIDYRYTVWVG FNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ GGDLFQLLMP (SEQ ID n.º: 2)

[0113] Se pueden usar varios tipos de promotores en el vector del rAAV descrito en el presente documento. Estos incluyen, por ejemplo, promotores ubicuos, específicos del tejido y regulables (p. ej. inducible o reprimible). En algunas realizaciones, el promotor es un promotor específico del hígado. Los ejemplos de los promotores específicos del hígado son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, promotor de transtiretina humana (TTR), promotor α -antitripsina, oligómeros que responden al factor IX pro humano/de transcripción del hígado, LSP, y el

promotor de albúmina básico. Los promotores específicos del hígado se describen, por ejemplo, en Zhijian Wu *et al.*, *Molecular Therapy* vol 16, no 2, February 2008, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia.

5 **[0114]** En algunas realizaciones, el promotor es un promotor ubicuo. En algunas realizaciones, el promotor es un promotor de β actina de gallinas.

10 **[0115]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV contiene elementos reguladores o estimulantes adicionales para promover la transcripción y/o traducción del mRNA (p. ej., secuencias estimulantes, secuencias Kozak, secuencias de poliadenilación, secuencias de terminación transcripcional, IRES y similares). En algunas realizaciones, el vector comprende una repetición terminal invertida 3' y 5' (ITR). En algunas realizaciones, el vector comprende uno o más de un elemento estimulante. En algunas realizaciones, el vector comprende una cola de poli(A).

15 **[0116]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende uno o más de un elemento pequeño, tal como un intrón. Varios intrones son conocidos en la técnica. Los intrones adecuados para el vector del rAAV descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, un intrón de MVM, un intrón de F.IX, un intrón de SA quimérico de cadena pesada de β globina SD/inmunoglobulina, SV40 y/o un intrón de α globina 1.º. En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende un intrón de MVM. En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende un intrón de SV40.

20 **[0117]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende el elemento de control postranscripcional del virus de la hepatitis Woodchuck (WPRE). Varias formas optimizadas o variantes de WPRE son conocidas en la técnica, incluye WPRE3, WPREmut6delATG entre otros. Otras formas variantes de WPRE incluyen, por ejemplo, WPRE2, WPRE_wt (GenBank N.º de acceso J04514); WPRE_wt (GenBank N.º de acceso J02442) y WPREmut6.

25 **[0118]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende un módulo regulador cisactuante (CRM). Varios tipos de CRM son adecuados para usar en los vectores descritos en el presente documento e incluyen, por ejemplo, específico del hígado CRM, específico de la neurona CRM. En algunas realizaciones, los vectores descritos en el presente documento incluyen un CRM específico del hepatocito, por ejemplo, CRM8. En algunas realizaciones, el vector incluye más de un CRM. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el vector comprende dos, tres, cuatro, cinco o seis CRM. En algunas realizaciones, el vector comprende tres CRM, por ejemplo, tres CRM8.

30 **[0119]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV es secuencia optimizada para aumentar la estabilidad de la transcripción, para traducción más eficaz y para reducir la inmunogenia. En algunas realizaciones, es I2S está optimizado para la secuencia.

35 **[0120]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV es un vector AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 o AAV11. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 1. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 2. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 3. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 4. En algunas

realizaciones, el vector del rAAV es AAV 5. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 6. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 7. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 8. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 9. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 10. En algunas realizaciones, el vector del rAAV es AAV 11.

- 5 **[0121]** Las secuencias de elementos ejemplares se muestran en la Tabla 2 a continuación. En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende un elemento del vector del rAAV que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad con una secuencia del elemento del vector que se muestra en la Tabla 2. En algunas realizaciones, el vector del rAAV comprende una secuencia del elemento
- 10 del vector de nucleótidos idéntica a una secuencia de nucleótidos del elemento del vector que se muestra en la Tabla 2. En la tabla, Xn (60-100) significa la etiqueta del título de DNA que comprende de 60 a 100 nucleótidos.

Tabla 2. Secuencias del elemento rAAV de I2S ejemplares

<u>3xCRM8</u>
gggggaggctgctggtgaatattaaccaaggtcaccccagttatcggaggagcaaacaggggctaagtccaccgggggaggc tgctggtgaatattaaccaaggtcaccccagttatcggaggagcaaacaggggctaagtccaccgggggaggctgctggtgaat attaaccaaggtcaccccagttatcggaggagcaaacaggggctaagtccac (SEQ ID n.º: 3)
<u>promotor de hTTR</u>
aatgacctattaagaatatttcataagaacgaatgttccgatgctctaattctctagacaagggtcatattgtatgggttactattctct ctttgttgactaagtcaataatcagaatcagcaggttgtagtcagattggcagggataagcagcctagctcaggagaagtgagtat aaaagccccaggtgggagcagccatcacagaagtcactcattcttggcagg (SEQ ID n.º: 4)
<u>intrón MVM</u>
ctaaggaagttggcgccgttaagggatggttggttggtgggtattaatgttaattacctttttacaggcctg (SEQ ID n.º: 5)
<u>peso de hIDS</u>
atgccgccaccccgagccggccgagcccttctctggctgggtctggttctgagctccgtctgctgcgccctcgatccgaaacgca ggccaactcgaccacagatgctctgaacgttcttctcatcatcgatgacctgcgcccctccctgggctgttatggggataagctg gtgaggtccccaatattgaccaactggcatccacagcctcctctccagaatgccttgcgcagcaagcagtgctgcgccccgag ccgcgtttcttctcactggcaggagacctgacaccacccgcctgtacgactcaactcctactggaggggtgcacgctggaaactt ctccaccatccccagttactcaaggagaatggctatgtgacctgtcggtgggaaaagtcttccacctgggatatcttctaaccat accgatgattctccgtatagctggtctttccacctatcatccttctctgagaagtatgaaaacactaagacatgtcgagggccaga tggaactccatgccaacctgttggcctgtggtatgtgctggatgtcccaggggcaccttgctgacaaacagagcactgagc aagccatacagttgttgaaaagatgaaaacgtcagccagtccttcttctgcccgttgggtatcataagccacacatcccctcag ataccccaaggaatttcagaagttgatccctggagaacatcacctggcccccgatcccagggtccctgatggcctacccctgt ggcctacaacccctggatggacatcaggcaacgggaagacgtccaagccttaaacatcagtggtccgtatggtccaattcctgtg gacttcagcgggaaaatccgcccagagctactttgcctctgtgtcatatttggatacacagggtcgccgcctcttgagtgtttggacga

tcttcagctggccaacagcaccatcattgcatttacctcggatcatgggtgggctctaggtgaacatggagaatgggccaataca
gcaattttgatgtgtacctcatgttcccctgatattctatgttctggaaggacggcttcacttccggaggcaggcgagaagctttccc
ttacctgacccttttgattccgcctcacagttgatggagccaggcaggcaatccatggaccttggtgaacttggtctcttttccacg
ctggctggactgcaggactgcagggtccacctcgctgccccgttccctcatttcacgttgagctgtgcagagaaggcaagaaccttc
tgaagcattttcgattccgtgacttgaagaggatccgtacctccctggtaatccccgtgaactgattgcctatagccagtatccccgg
ccttcagacatcccctcagtggaattctgacaagccgagtttaaaagataaaagatcatgggctattccatacgcaccatagactat
aggtatactgtgtgggtggctcaatcctgatgaattctagctaactttctgacatccatgcaggggaactgtattttgtggattctgac
ccattgcaggatcacaatatgtataatgattcccaaggtggagatctttccagttgtgatgcctga

(SEQ ID n.º: 6)

WPREmut6delATG

aatcaacctctggattacaaaattgtgaaagattgactggtattcttaactttgttgccttttacgctttgtggatacgtgctttattgcc
tttgatcttctgattgttcccgtttggcttcatcttctcctctgtataaatcctgggtgctgtctcttttgaggagttgtggccggtgtcag
gcaacgtggcgtggtgtgactgtgttctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctccttccgggact
ttcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgctgcttgcctgcccgtgctggacaggggctcggctgttgggcactg
acaattccgtggtgtgtcggggaaatcatcgctccttctggctgctcgctgtgttgcacctggattctgcgcgggacgtccttctg
ctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttcttcccgcggtgctgcccggctctgcccgccttctccgcgtcttcgccttcgac
ctcagacgagtcggatctcccttgggcccgcctccccgcac

(SEQ ID n.º: 7)

BGH pA

cctagagctcgctgatcagcctcgactgtgcctctagttgccagccatctgttgttggccctcccccgctccttctgacctggaag
gtgccactcccactgtccttcttaataaaatgaggaaattgcatcgattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggtgg
ggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggaa

(SEQ ID n.º: 8)

ITR 3'

aggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggctgcccgcac
gcccgggcttggccgggcccctcagtgagcgagcgagcgcgagaga

(SEQ ID n.º: 9)

ITR 5'

ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggctcgggacaccttggctgcccggcctcagtgagcga
gcgagcgcgagagaggagtgccaactccatcactaggggtcct

(SEQ ID n.º: 10)

ID5 humano optimizado por codones (COOL opt)

atgccaccacctaggacaggcaggggcctgcttggcttgactggtgctgagctctgtctgttgcctgggctccgagacccaa
gccaactctacaaccgatgctctcaatgttctgctcatcatagtgatgacctgcggccctctctaggctgctatggagacaagtgtgt
gctggagccccaacatagaccagctagcctctcactccctgctgttccagaatgccttcgccagcaagctgtgtgcgccccctcta
gagtgcttcttctgaccgggagaaggcctgataacaaggctgtatgactttaacagctactggaggggtgcacgcaggcaacttc
tccactatccccaatacttcaaggagaatggctatgtgacatgagcgtgggcaaggcttccaccctggaatctctccaaccac
actgatgatagtcctactcttggcttcttctccctatcacctagcagtgagaagtatgagaacaccaaaccctgcagaggccctg

atggggagctgcatgctaacctctgtgtcctgtagatgtgtgacgtcccagagggcaccttgccagataagcagtctactgag
caggctatccagctgcttgagaaaatgaagactctgcatctccctcttcttggtgttggtaccacaagcctcacatcccctcagg
taccctaaggagttccaaaagctctatcctctggaaaacatcacacttgccccgatcctgaggtccctgacggcctcccaccagt
agcctacaatccttggatggacattaggcagagagaggatgtccaggctctgaatatttctgtgccctatggggccatcccgttga
ctccagcgcaaaatcagacagtcctactttgcctctgtgagctatctggacaccaggtgggaggctcctctccgcccttgacgac
ctccagttggccaacagcaccattatagccttcacctctgaccacggctgggactgggggaacacggggagtgaggtaagtact
ctaacttgatgtggccaccacgtgcccctcatctttatgtgcctggcaggactgccagcctggcgaagctggggaaaaactgtt
tccatactggaccctttgacagtgctctcagctcatggaacctggcctcagagcatggatctggtggagctagtgtccctctcc
caaccttggctggccttgtgttccaggtgcctcctagatgccagctcccctccttcatgttgaaactctgccgtgaggggaagaat
ctgtgaagcacttcagattcagagacttgaggaggaccctacctcctgggaaccccaggagttgattgcatactcccagtat
cccaggccaagtgcattccccagtggaactccgacaaaccaagtctgaaggacatcaagatcatgggttacagcatcaggac
cattgactacagatacacagtggttggatttaaccagatgagttcttgcaaaactttctgacatccatgaagtcagttgtattt
gtggacagcgaccctctgcaggatcacaacatgtacaatgacagccagggtggggacctcttcaactcctcatgccatag
(SEQ ID n.º: 11)

IDS humano optimizado por codones(optimizado por AUS)

atgccacccccccggaccgggagaggcctctgtggttgggctggtgctgagcagcgtgtgctggccctgggcagtgagacc
caggctaactctacaacagatgccttgaatgtgtgtgatcattgtggatgacctgaggccaagtctgggctgctatggggacaaa
ttggtgaggtccccaacatcgaccagttggcctcccactctctcctattccaaaatgcttgcgccagcaggcagtttgtgcccctct
agggtagcttctcactggcaggcgccctgacaccactagactgtatgactttaacagctattggagggtgcacgcaggaaactt
ctccacaatccctcaatacttcaaggagaatggttatgtgacaatgtctgtgggcaagggtgtccaccctggcatcagcagcaacca
caccgatgactcacctatagtgtgttcttccccctaccatccttcatctgagaaatagaaaacacaaaaacctgccgaggccc
agacggggaactgcatgccaacctactctgtcctgttgatgtactggacgtgccgaggggcacctcctgataagcagtcacaca
gaacaggccattcagctgcttgaaaagatgaagacctccgcatcccccttcttcttggtgtcggctaccacaagccccatatcccc
tttagatacccaaggaattccagaaactgtaccactggagaacatcacacttgctcctgaccctgaagtgcctgacggactgcc
tccagtggcctataaccttggatggacatccggcagcgcgaggatgtgcaggctctgaacattagtgtgccttatggggccatccc
tgtggacttccagaggaagattcgccagtcctactttgcctctgtatcctacctggacacacagggtgggacgcctgtgtcgccttg
atgatctgcaactggccaacagcaccattatagctttcacatcagacatgggtgggctcttggggagcatggtgaatgggctaagt
actccaacttcgatgtggcaacctatgtccctctgatcttctatgtgccaggaaggaccgctctctgcagaggcaggtgagaag
ctgttcccctatctggaccctttgactccgcccagcagctgatggagcctggccgacagctctatggacctggtgagctggtcagcct
gtttccacactcgctggactggctggcctgcaagtacccccacgctgcccagtgccctccttccatgtggagcttgcaggagggg
gaagaacctcctcaagcacttcagggtcagggacctagaggaggatccttatctgcctggaaaccccagagagcttattgcttactc
ccagtatccaaggcctagtgcattcccaatggaactcagacaaaccaagcctgaaagacatcaagatcatgggatactctatc
aggaccattgactacaggtacactgtgtgggttggttcaaccggatgagttcctggctaatttctctgacatacatgtggcgagct
gtactcgtggacagtgacccccctgcaggatcacaacatgtacaatgattcccaggggggtgacctcttcagcttctgatgcccta
a
(SEQ ID n.º: 12)

IRES

gccccctcctccccccccctaacgttactggccgaagccgcttgaataaggccggtgtgcgtttgtctatatgttattttccacca
tattgccgtcttttggcaatgtgagggccccggaacacctggcctgtctcttgacgagcattcctaggggtctttccccctcgcctcaag
gaatgcaaggtctgttgaatgtcgtgaaggaagcagttcctctggaagcttctgaagacaaacaacgtctgtagcgaccctttgca
ggcagcggaaacccccacctggcgacaggtgcctctgcggccaaaagccacgtgtataagatacacctgcaaaggcggcac
aaccacagtgccacgttgtagttggatagttgtgaaagagtcaaattggctcacctcaagcgtattcaacaaggggctgaagga
tgcccaagaaggtacccattgtatgggatctgatctggggcctcggtgcacatgctttacatgtgttagtcgaggttaaaaaacgtct
aggccccccgaaccacggggacgtggttttccttgaaaaacacgatgataat

(SEQ ID n.º: 13)

SUMF1 de tipo salvaje

atggctgcgcccgcactagggctggtgtgtggacgttgcctgagctgggtctcgtcctcttgctgctgctgctcgtgctgtgtgga
gcggcagggagccaggaggccgggaccggtgcgggcggggtccctgcgggttctgcggctgcggcacgccccagcgg
cctggcgcccatggcagttcggcagccgctcacgatactgcgggaggctaacgctccgggccccgtaccggagagcggc
aactcgcgcactcaaagatggtcccatccctgctggagtattacaattgggcacagatgatcctcagataaagcaggatgggga
agcacctgcgaggagagtactattgatgcctttacatggatgcctatgaagtcagtaatactgaatttgagaagtttgtgaactcaa
ctggctatttgacagaggctgagaagtttggcactcctttgtctttgaaggcatgttgagtgaagtaagaccaatattcaaca
ggcagttgcagctgctccctggtgtgttacctgtgaaaggcgtaactggagacaccagaagggcctgactctactattctgcaca
ggccggatcatccagttctccatgtgtcctggaatgatcggttgccactgcacttgggcagggaagcggtgcccacggaagct
gagtgggaatacagctgtcgaggaggcctgcataatagactttccctggggcaaaaactgcagcccaaaggccagcattat
gccaacatttggcagggcgagttccggtgaccaacactggtgaggatggctccaaggaaactgcgcctgttgatgccttccctccc
aatggttatggcttataacaatagtggggaacgcatgggaatggacttcagactggtggactgttcattctgttgaaagaaacgc
ttaacccaaaagggtcccccttctgggaaagaccgagtgaagaaaggtggatcctacatgtgccataggtcttattgttacaggtatc
gctgtgctgctcggagccagaacacacctgatagctctgctcgaatctgggattccgctgtgcagccgaccgcctgccactatgg
actga

(SEQ ID n.º: 14)

SUMF-1 optimizado por codones (optimizado por COOL)

atggctgctcctgccctggggctggtgtgtggaagatgtcctgaactgggcctggttctgttactgcttctgctcagcctgctctgtggtg
ctgccggcagccaagaggcaggcactggcgctggagctggaagcctggctgggtcttgtggatgtggcacaccacagaggcc
aggggctcatggctcctctgctgcagctcataggtacagcagagaagccaatgtccaggccagtgcttgagagagacagct
ggctcacagcaagatggtgccatccctgctggggtgtcacaatgggaacagatgatcccagatcaagcaggatggggagg
cgctgccaggagggtgaccattgatgcattctatatggatgcctatgaggtgagcaatacagaatttgagaagtttgtgaactctac
tggtacctgactgaggctgaaaaatttgagactctttgtttgaaggaatgcttagtgaacagggttaagaccaacatccagcag
gctgttcagcagccccctggtggttgccgtcaaggagctaactggaggcacccctgagggaccagattctacaatcctgcatag
acctgatcatcctgttctgcatgtgtcttgaatgatgctgtggcttactgtacctgggcaggaaaaaggctgccaacagaagctgag
tggaataactcttgagaggaggcctgcacaatagactgttcccatggggcaacaagctgcaacccaagggccagcactatgct
aacatctggcagggagaattccctgtgacaaacacaggagaggacggcttcagggaactgcccctgtagatgctttccctccta
atggctatggcctgtataacattgttggcaacgcctgggagtggtgacttctgattggtggacagtcaccactctgttgaggagacact
gaatcctaagggggccaccttctggaaaggatagagtgaagaaggggggaagctacatgtccacaggtcttattgttacagatac

agggtgcgctgctaggtctcagaacaccccctgatagcagtgctagcaatctgggcttcaggtgtgccgctgacagactgcctaccat
ggattaa

(SEQ ID n.º: 15)

SUMF-1 optimizado por codones (optimizado por AUS)

atggctgcccctgctctgggattggttgtggcagatgtcctgagcttggctggtgctgtgctccttctgttctctgctgtgtggagca
gctgggtctcaggaagctggcacaggcgctggggctggctctctggccgggtcatgtggctgtggaactccccagcggcctggag
cccatggcagctctgccgcagcacacaggtattctaggaagccaatgccccaggccctgtgcctggggagagacagctagct
cattctaagatgggtgcctatcccagccgggggttttacaatgggcactgatgatcctcagattaagcaggatggagaggccccgc
cagaagagtgaccattgatgctttctacatggatgcatatgaagtgtccaacacagagtttgagaaatttgaactctactggatact
tgaccgaggctgagaagtttgagattccttcttgaaggcatgctgtctgagcaggtcaagaccaacattcagcaagcagtg
ccgctgcaccttgggtgcttctgtgaaggcgccaactggagacatccagaggggccagatagtaccatcctccacagacctg
atcaccagctcctcatgttctggaatgatgcagttgcttactgcacttggggccggcaagaggctccctactgaggcagagtggg
aatactcctgcagaggaggcctgcacaacagactgtcccttgggggaacaagcttcagcccaaaggccagcactatgctaaca
tctggcagggtgagttccagtcaccaatacaggggaggacggattccaggaaccgcaccagtagatgccttccctcctaattg
ctatggcctgtataatattgtgggcaatgcatgggagtggacctctgactggtggactgtgcaccactcagtgaggaaaccctga
accctaagggaacccctcaggcaaagatagagtcaaaaaggaggaggatctatgtgtcacagatcctattgctacagatata
gatgtgcagccagggtcccagaacaccccctgactcttctgctagcaacctgggcttcggtgtgctgctgatagactgccaccatgg
actaa

(SEQ ID n.º: 16)

5 [0122] En algunas realizaciones, el vector del I2S del rAAV comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad con una secuencia de nucleótidos que se muestra en la Tabla 3 a continuación. En algunas realizaciones, el vector del I2S del rAAV comprende una secuencia idéntica a una secuencia de nucleótidos que se muestra en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: Secuencias de nucleótidos del vector del I2S del rAAV ejemplares

pXL024

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGGCGACC
TTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCCTTTAATTAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCGCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG

TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGCCGC
CACCCCGGACCGGCCGAGGCCTTCTCTGGCTGGGTCTGGTTCTGAGCTCCGTCTGCGT
CGCCCTCGGATCCGAAACGCAGGCCAACTCGACCACAGATGCTCTGAACGTTCTTCTCA
TCATCGTGATGACCTGCGCCCCCTCCCTGGGCTGTTATGGGGATAAGCTGGTGAGGTC
CCCAAATATTGACCAACTGGCATCCCACAGCCTCCTCTTCCAGAATGCCTTTGCGCAGC
AAGCAGTGTGCGCCCCGAGCCGCGTTTCTTTCTCACTGGCAGGAGACCTGACACCAC
CCGCCTGTACGACTTCAACTCCTACTGGAGGGTGCACGCTGGAAACTTCTCCACCATCC
CCCAGTACTTCAAGGAGAATGGCTATGTGACCATGTGCGGTGGGAAAAGTCTTTCACCCT
GGGATATCTTCTAACCATAACCGATGATTCTCCGTATAGCTGGTCTTTTCCACCTTATCATC
CTTCCTCTGAGAAGTATGAAAACACTAAGACATGTGAGGGCCAGATGGAGAACTCCAT
GCCAACCTGCTTTGCCCTGTGGATGTGCTGGATGTTCCCGAGGGCACCTTGCCTGACAA
ACAGAGCACTGAGCAAGCCATACAGTTGTTGGAAAAGATGAAAACGTCAGCCAGTCCTT
TCTTCCTGGCCGTTGGGTATCATAAGCCACACATCCCCTTCAGATACCCCAAGGAATTC
AGAAGTTGTATCCCTTGGAGAACATCACCCCTGGCCCCCGATCCCGAGGTCCCTGATGGC
CTACCCCCTGTGGCCTACAACCCCTGGATGGACATCAGGCAACGGGAAGACGTCCAAG
CCTTAAACATCAGTGTGCCGTATGGTCCAATTCTGTGGACTTTCAGCGGAAAATCCGCC
AGAGCTACTTTGCCTCTGTGTCATATTTGGATACACAGGTCGGCCGCCTCTTGAGTGCTT
TGGACGATCTTCAGCTGGCCAACAGCACCATCATTGCATTTACCTCGGATCATGGGTGG
GCTCTAGGTGAACATGGAGAATGGGCCAAATACAGCAATTTTGATGTTGCTACCCATGTT
CCCCTGATATTCTATGTTCCCTGGAAGGACGGCTTCACTTCCGGAGGCAGGCGAGAAGCT
TTTCCCTTACCTCGACCCTTTTGATTCCGCCTCACAGTTGATGGAGCCAGGCAGGCAATC
CATGGACCTTGTGGAACCTTGTGTCTCTTTTTCCACGCTGGCTGGACTTGCAGGACTGC
AGGTTCCACCTCGCTGCCCGTTCTTCATTTACGTTGAGCTGTGCAGAGAAGGCAAG
AACCTTCTGAAGCATTTTCGATTCCGTGACTTGGAAGAGGATCCGTACCTCCCTGGTAAT
CCCCGTGAACGATTGCCTATAGCCAGTATCCCCGGCCTTCAGACATCCCTCAGTGGA
TTCTGACAAGCCGAGTTTAAAGATATAAAGATCATGGGCTATTCCATACGCACCATAGA
CTATAGGTATACTGTGTGGGTTGGCTTCAATCCTGATGAATTTCTAGCTAACTTTTCTGAC
ATCCATGCAGGGGAACTGTATTTTGTGGATTCTGACCCATTGCAGGATCACAATATGTAT
AATGATTCCCAAGGTGGAGATCTTTTCCAGTTGTTGATGCCTTGAGGTACCAATCAACCT
CTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACCTTTGTTGCTCCTTTTACGC
TTTGTGGATACGCTGCTTTATTGCCTTTGTATCTTGCTATTGCTTCCCGTTTGGCTTTCAT
TTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTTTGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTC
AGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCA
TTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCGGGACTTTCGCTTCCCCCTCCCTATTGCCACG
GCGGAACTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCA
CTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGT
GTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCC
AGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGC

CTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGGTACCGTC
GACCCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGT
TTGCCCCCTCCCCCGTGCCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCAGTGTCCCTTTCCT
AATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTG
GGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGG
AATCTAGA Xn(60-100)
GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCT
CGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCCGG
GCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCGGGT
GGCTGGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCGGGC
TCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCTCAA
GGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCAGCT
CCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAGGAG
GTCCCTACTCCCGCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCTTTC
CTTTCGCGCTCTGCGGGGTCACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCCGGC
ACCGCAGGCCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTGCGC
CTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGTTAG
GAAAGCCTGCCGGTGACTAACCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTGTGG
CGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGCTTT
TCCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCCTCTTGTGTCCCC
TCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCATG
GGTAGTTGGAAAAGGACATTTCCACCGCAAAATGGCCCCCTCTGGTGGTGGCCCCCTCCT
GCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCCGA
CCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTCACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGGGG
AACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAACCCAGATCTCCCACCGCACCCCTGGTC
TGAGGTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTCTC
CCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAAAA
GAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAAT
ACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCCAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTAGA
GAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGTTT
GATGATGCTGAGTGACAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGCAG
CAAGCATTCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCCCA
GACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGACTG
GGGGTGTGTTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAGCC
TGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAAAG
AGATGCTGCATTCGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTGGA
GGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTCGAA
TAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGTTTGT

ATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTTCCCTTTAT
TATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTTAACAACTAGAAATATTGTATATACAAAAA
TCATAAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACGTATC
TTATTTAAAGTGCGTTGCTTTTTTCTCATTTATAAGGTAAATAATTCTCATATATCAAGCA
AAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAACTCCCCCATAAA
AAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCAGAA
CCGCCCAGGGGGCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGTTTGT
AGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCAGTTC
CCTACTCTCGCCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTTCGTTTCGGCTGC
GGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGAT
AACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGG
CCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGA
CGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCC
TGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCG
CCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTT
CGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAGCCCGA
CCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTAT
CGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGC
TACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTAT
CTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA
AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGA
AAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAC
GACGCGCGCGTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCCGTCAAG
TCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTGCATATCAAAGTGCATCACTTCT
TCCCGTATGCCCACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATCTGCTTG
CACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGATGAGCG
CGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGATATAGAT
CTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTGGGCAGAACGTAAAGCCGCGAGAGCGCCAACAACC
GCTTCTTGGTGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTTCCCGAG
GTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCACGACCG
AAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTACATGTGCG
AATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCTGCGTAAC
ATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGCTGCTTGG
ATGCCCAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAACCGCCACT
GCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGCATTTT
TTTTTCCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTTGTAATTCA
TTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAATCGCCAG
CGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATTTGCCCATAGTGAAAACGGGGGCGA

AGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAAACTCACCCAGGGATTGG
CGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCCCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTTTTACCGT
AACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAATCGTCGTGTGCACTCA
TGGAACCGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCGTCTTTCATT
GCCATACGGAACTCCGGATGAGCATTATCAGGCGGGCAAGAATGTGAATAAAGGCCG
GATAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCCAGCTGAAC
GGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCTTTACGATG
CCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTTTCTCCTCT
TTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAATA
CCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCAT
AGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACC
TATTAATTTCCCCTCGTCAAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACT
GAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAG
CCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCATTCTGTGATTGC
GCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGA
GTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTCACCTGAATCAGGAT
ATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCAT
CATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATCCGTCAGCCAG
TTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAA
ACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATAACAAGCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCG
ACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCG
GCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTTCTCCTTTACCAATGCTTAATC
AGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTCCATAGTTGCCTGACTCCCC
GTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGCGCTGCGATGAT
ACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGA
AGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTG
TTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCAT
CGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTGAGCTCCGGTT
CCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGTCAGAAGTAAGT
TGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGC
CATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGT
GTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACA
TAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAG
GATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTC
AGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCG
CAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTCTTTTTCAATA
TTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAG
AAAAATAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAACATTATCGCG

AGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTTGCCTGGCGGCAGTAGCG
CGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAAGTGAAGTGAACGCCGTAGCGCCGATGG
TAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAACGAAAG
GCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTCGCCCTTATTCTG
ACTCGGGGCTCGAG

(SEQ ID n.º: 17)

pXL025

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCCTTTAATTAAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCCAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTCATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCGCCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG
TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGCCACC
ACCTAGGACAGGCAGGGGGCCTGCTTTGGCTTGGACTGGTGCTGAGCTCTGTCTGTGTT
GCCCTGGGCTCCGAGACCCAAGCCAACCTCTACAACCGATGCTCTCAATGTTCTGCTCAT
CATAGTGGATGACCTGCGGCCCTCTCTAGGCTGCTATGGAGACAAGTTGGTGCGGAGC
CCCAACATAGACCAGCTAGCCTCTCACTCCCTGCTGTTCCAGAATGCCTTCGCCCAGCA
AGCTGTGTGCGCCCCCTCTAGAGTGTCTTTCCTGACCGGGAGAAGGCCTGATACAACAA
GGCTGTATGACTTTAACAGCTACTGGAGGGTGACGCAGGCAACTTCTCCACTATCCCC
CAATACTTCAAGGAGAATGGCTATGTGACCATGAGCGTGGGCAAGGTCTTCCACCCTGG
AATCTCCTCCAACCACACTGATGATAGTCCCTACTCTTGGTCTTTTCTCCCTATCACCT
AGCAGTGAGAAGTATGAGAACACCAAAACCTGCAGAGGCCCTGATGGGGAGCTGCATG
CTAACCTCCTGTGTCTGTAGATGTGCTGGACGTCCCAGAGGGCACCTTGCCAGATAAG
CAGTCTACTGAGCAGGCTATCCAGCTGCTTGAGAAAAATGAAGACTTCTGCATCTCCCTTC
TTTCTGGCTGTTGGCTACCACAAGCCTCACATCCCCTTCAGGTACCCTAAGGAGTTCCAA
AAGCTCTATCCTCTGGAAAACATCACACTTGCCCCGATCCTGAGGTCCCTGACGGCCT
CCCACCAGTAGCCTACAATCCTTGGATGGACATTAGGCAGAGAGAGGATGTCCAGGCTC
TGAATATTTCTGTGCCCTATGGGCCCATCCCGGTGGACTTCCAGCGCAAATCAGACAG
TCCTACTTTGCCTCTGTGAGCTATCTGGACACCCAGGTTGGGAGGCTCCTCTCCGCCCT
TGACGACCTCCAGTTGGCCAACAGCACCATTATAGCCTTCACCTCTGACCACGGCTGGG
CACTGGGGGAACACGGGGAGTGGGCTAAGTACTCTAACTTTGATGTGGCCACCCACGT
GCCCCCTCATCTTTTATGTGCCTGGCAGGACTGCCAGCCTGCCCGAAGCTGGGGAAAAAC

TGTTTCCATACCTGGACCCTTTTGACAGTGCTTCTCAGCTCATGGAACCTGGCCGTCAGA
GCGATGGATCTGGTGGAGCTAGTGTCCCTCTTCCCAACCTTGGCTGGCCTTGCTGGTCTC
CAGGTGCCTCCTAGATGCCAGTCCCCTCCTTCCATGTTGAACTCTGCCGTGAGGGGAA
GAATCTGCTGAAGCACTTCAGATTGAGAGACTTGGAGGAGGACCCCTACCTTCCTGGGA
ACCCAGGGAGTTGATTGCATACTCCAGTATCCCAGGCCAAGTGACATTCCCCAGTGG
AACTCCGACAAACCAAGTCTGAAGGACATCAAGATCATGGGGTACAGCATCAGGACCAT
TGA CTACAGATACACAGTGTGGGTTGGATTTAACCCAGATGAGTTCTTGGCAAACCTTTTC
TGACATCCATGCAAGTCAGTTGTATTTTGTGGACAGCGACCCTCTGCAGGATCACAAACAT
GTACAATGACAGCCAGGGTGGGGACCTCTTTCAACTCCTCATGCCATAGCAATTGAATC
AACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACCTTTGTTGCTCCTTT
TACGCTTTGTGGATACGCTGCTTTATTGCCTTTGTATCTTGCTATTGCTTCCCGTTTGGCT
TTCATTTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTTTGAGGAGTTGTGGCCCG
TTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGG
GGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTGCTTTCCCCCTCCCTATTGC
CACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTG
GGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCTTGCTGCTCGC
CTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCA
ATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCT
TCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCCAATTG
GTGACCCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT
TGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTT
CCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGG
GTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTG
GGGAATCTAGA

Xn(60-100)

GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCT
CGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCGG
GCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTGCGGGGT
GGCTGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCGGGC
TCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCTCAA
GGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCAGCT
CCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAGGAG
GTCCCTACTCCCGCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCTTTC
CTTTCGCGCTCTGCGGGGTACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCCGGC
ACCGCAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGATCCCTGTCCGGATGCTGCGC
CTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGTTAG
GAAAGCCTGCCGGTGACTAACCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTGTGG
CGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGCTTT
TCCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCCTCTTGTGTCCCC

TCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCATG
GGTAGTTGGAAAAGGACATTTCCACCGCAAAATGGCCCCTCTGGTGGTGGCCCCTTCCT
GCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCCGA
CCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTCACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGGGG
AACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAAACCAGATCTCCCACCGCACCTGGTC
TGAGGTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTCTC
CCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAAAA
GAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAAT
ACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCCAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTAGA
GAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGTTT
GATGATGCTGAGTGTACAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGCAG
CAAGCATTCCCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCCCA
GACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGACTG
GGGGTGTGTTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAGCC
TGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAAGG
AGATGCTGCATTCGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTGGA
GGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTCGAA
TAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGTTTGT
ATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTTCCCTTTAT
TATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTAACAACTAGAAATATTGTATATACAAAAA
TCATAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTCAATCGAAAAAGCAACGTATC
TTATTTAAAGTGCGTTGCTTTTTTCTCATTTATAAGGTAAATAATTCTCATATATCAAGCA
AAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAACTCCCCCATAAA
AAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCAGAA
CCGCCAGGGGGCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGTTTGT
AGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCAGTTC
CCTACTCTCGCTTCCGCTTCCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGCTTCGGCTGC
GGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGAT
AACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGG
CCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGA
CGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCC
TGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCG
CCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTT
CGGTGTAGGTCGTTGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTACAGCCGA
CCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGTAAGACACGACTTAT
CGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGC
TACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTAT
CTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA

AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGA
AAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAC
GACGCGCGCGTAACCTCACGTAAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCCGTCAAG
TCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTGATATCAAAGTGCATCACTTCT
TCCCGTATGCCCAACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATCTGCTTG
CACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGATGAGCG
CGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGATATAGAT
CTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTTGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCAACAACC
GCTTCTTGGTCGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTTCCCGAG
GTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTACCGAACTCACGACCG
AAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTACATGTGCG
AATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCTGCGTAAC
ATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGCTGCTTGG
ATGCCCAGAGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAACCGCCACT
GCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGCATTTT
TTTTCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTTGTAATTCA
TTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAATCGCCAG
CGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATATTTGCCCATAGTGAAAACGGGGGCGA
AGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAAACTCACCCAGGGATTGG
CGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTTTTACCGT
AACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAATCGTCGTGTGCACTCA
TGGAACCGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCGTCTTTCATT
GCCATACGGAACCTCCGGATGAGCATTATCAGGCGGGCAAGAATGTGAATAAAGGCCG
GATAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCCAGCTGAAC
GGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCTTTACGATG
CCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTCTCATTTTTTTTCTCCT
TTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAATA
CCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCAT
AGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACC
TATTAATTTCCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACT
GAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAG
CCATTACGCTCGTCATCAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCATTCGTGATTGC
GCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGA
GTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGAT
ATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCAT
CATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATTCCGTCAGCCAG
TTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAA
ACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATACAAGCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCCG

ACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCG
GCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTCTCCTTTACCAATGCTTAATC
AGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCC
GTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGCGCTGCGATGAT
ACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGA
AGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTG
TTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTTCGCAACGTTGTTGCCAT
CGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTTCAGCTCCGGTT
CCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGTCAGAAGTAAGT
TGGCCGAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGC
CATCCGTAAGATGCTTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGT
GTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACA
TAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAG
GATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGACCCCACTGATCTTC
AGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCG
CAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTCTTTTTCAATA
TTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAG
AAAAATAAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAACATTATCGCG
AGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTTGCCTGGCGGCAGTAGCG
CGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACCTCAGAAGTGAAACGCCGTAGCGCCGATGG
TAGTGTTGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAG
GCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTCGCCCTTATTCTG
ACTCGGGGCTCGAG

pXL026

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCTTTAATTAAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTCATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCGCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG
TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGCCACC
CCCCCGGACCGGGAGAGGCCTCTTGTTGGTTGGGCCTGGTGCTGAGCAGCGTGTGCGT
GGCCCTGGGCAGTGAGACCCAGGCTAACTCTACAACAGATGCCTTGAATGTGCTGCTGA

TCATTGTGGATGACCTGAGGCCAAGTCTGGGCTGCTATGGGGACAAATTGGTGAGGTCC
CCCAACATCGACCAGTTGGCCTCCCCTCTCTCCTATTCCAAAATGCTTTCGCCCAGCAG
GCAGTTTGTGCCCCCTCTAGGGTGAGCTTCCTCACTGGCAGGCGCCCTGACACCACTA
GACTGTATGACTTTAACAGCTATTGGAGGGTGCACGCAGGAACTTCTCCACAATCCCTC
AATACTTCAAGGAGAATGGTTATGTGACAATGTCTGTGGGCAAGGTGTTCCACCCTGGC
ATCAGCAGCAACCACACCGATGACTCACCTATAGTTGGTCTTTTCCCCCTACCATCCT
TCATCTGAGAAATATGAAAACACAAAAACCTGCCGAGGCCAGACGGGGAACTGCATGC
CAACCTACTCTGTCCTGTTGATGTACTGGACGTGCCCGAGGGCACCTCCCTGATAAGC
AGTCCACAGAACAGGCCATTGAGCTGCTTGAAAAGATGAAGACCTCCGCATCCCCCTTC
TTCTTGGCTGTGCGCTACCACAAGCCCCATATCCCCTTTAGATACCCCAAGGAATTCCAG
AACTGTACCCACTGGAGAACATCACACTTGCTCCTGACCCTGAAGTGCCTGACGGACT
GCCTCCAGTGGCCTATAACCCTTGGATGGACATCCGGCAGCGCGAGGATGTGCAGGCT
CTGAACATTAGTGTGCCTTATGGGCCCATCCCTGTGGACTTTCAGAGGAAGATTGCGCA
GTCCTACTTTGCCTCTGTATCCTACCTGGACACACAGGTGGGACGCCTGCTGTCTGCCC
TTGATGATCTGCAACTGGCCAACAGCACCATTATAGCTTTCACATCAGACCATGGGTGG
GCTCTTGGGGAGCATGGTGAATGGGCTAAGTACTCCAACCTTCGATGTGGCAACCCATGT
CCCTCTGATCTTCTATGTGCCAGGAAGGACCGCCTCTCTGCCAGAGGCAGGTGAGAAG
CTGTTCCCCTATCTGGACCCTTTTGAAGTCCGCCAGCCAGCTGATGGAGCCTGGCCGACA
GTCTATGGACCTGGTTGAGCTGGTCAGCCTGTTTCCCACACTCGCTGGACTGGCTGGCC
TGCAAGTACCCCCACGCTGCCAGTGCCCTCCTTCCATGTGGAGCTTTGCAGGGAGGG
GAAGAACCTCCTCAAGCACTTCAGGTTGAGGGACCTAGAGGAGGATCCTTATCTGCCTG
GAAACCCAGAGAGCTTATTGCTTACTCCCAGTATCCAAGGCCTAGTGACATTCCCCAAT
GGAAGTACAGACAAACCAAGCCTGAAAGACATCAAGATCATGGGATACTCTATCAGGACC
ATTGACTACAGGTACACTGTGTGGGTTGGCTTCAACCCGGATGAGTTCCTGGCTAATTC
TCTGACATACATGCTGGCGAGCTGTACTTCGTGGACAGTGACCCCCTGCAGGATCACAA
CATGTACAATGATTCCCAGGGGGGTGACCTCTTCCAGCTTCTGATGCCCTAAGGTACCA
ATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACCTTTGTTGCTCC
TTTTACGCTTTGTGGATACGCTGCTTTATTGCCTTTGTATCTTGCTATTGCTTCCCGTTTG
GCTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTTGGAGGAGTTGTGGC
CCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGG
TTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCGGGACTTTCGCTTTCCTCCCTAT
TGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCT
GTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGC
TCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCC
CTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGC
GTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCG
GTACCGTCGACCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCA
TCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGT

CCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTG
GGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCAT
GCTGGGGAATCTAGA Xn(60-100)
GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCT
CGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGG
GCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCGGGT
GGCTGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCGGGC
TCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCTCAA
GGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCAGCT
CCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAGGAG
GTCCCTACTCCCGCCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCCTTC
CTTTCGCGCTCTGCGGGGTACAGTGTGCGCAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCCGGC
ACCGCAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTGCGC
CTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGTTAG
GAAAGCCTGCCGGTGAATAACCCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTGTGG
CGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGCTTT
TCCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCCTCTTGTGTCCCC
TCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCATG
GGTAGTTGGAAAAGGACATTTCCACCGCAAAATGGCCCCTCTGGTGGTGGCCCCTTCCT
GCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCCGA
CCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTCACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGGGG
AACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAAACCAGATCTCCCACCGCACCCCTGGTC
TGAGGTTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTCTC
CCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAAAA
GAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAAT
ACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCCAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTAGA
GAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGTTT
GATGATGCTGAGTGTACAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGCAG
CAAGCATTCCCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCCCA
GACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGACTG
GGGGTGTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAGCC
TGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAAGG
AGATGCTGCATTCGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTGGA
GGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTCGAA
TAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGTTTGT
ATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTTCCCTTTAT
TATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTTTTAACTAGAAATATTGTATATACAAAAA
TCATAAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACGTATC

TTATTTAAAGTGC GTT GCTTTTTTCTCATTTATAAGGTAAATAATTCTCATATATCAAGCA
AAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAAACTCCCCCATAAA
AAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCAGAA
CCGCCAGGGGGCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGTTTGT
AGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCAGTTC
CCTACTCTCGCCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTTCGTTCCGGCTGC
GGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGAT
AACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGG
CCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGA
CGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCC
TGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCG
CCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTT
CGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAGCCCGA
CCGCTGCGCCTTATCCGGTAAGTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTAT
CGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGC
TACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTAT
CTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA
AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGA
AAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAC
GACGCGCGCGTAAGTACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCCGTCAAG
TCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTCGATATCAAAGTGCATCACTTCT
TCCCGTATGCCCACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATCTGCTTG
CACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGATGAGCG
CGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGATATAGAT
CTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCAACAACC
GCTTCTTGGTCGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTTCCCGAG
GTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCACGACCG
AAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTACATGTGCG
AATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCTGCGTAAC
ATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGCTGCTTGG
ATGCCCGAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAACCGCCACT
GCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGCATTTT
TTTTTCCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTTGTAATTCA
TTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAATCGCCAG
CGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATATTTGCCCATAGTGAAAACGGGGGCGA
AGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAAACTCACCCAGGGATTGG
CGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTTTTTACCGT
AACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAATCGTCGTGTGCACTCA

TGAAAAACGGTGTAAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCGTCTTTCATT
GCCATACGGAACCTCCGGATGAGCATTTCATCAGGCGGGCAAGAATGTGAATAAAGGCCG
GATAAACTTGTGCTTATTTTTCTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCCAGCTGAAC
GGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCTTTACGATG
CCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTTTTTCTCCT
TTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAATA
CCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCAT
AGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACC
TATTAATTTCCCCTCGTCAAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACT
GAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAG
CCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCATTCTGTGATTGC
GCCTGAGCGAGGCCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGA
GTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGAT
ATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCAT
CATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATTCGTCAGCCAG
TTAGTCTGACCATCTCATCTGTAAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAA
ACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATAACAAGCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCG
ACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCG
GCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTTCTCCTTTACCAATGCTTAATC
AGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTCCATAGTTGCCTGACTCCCC
GTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGCGCTGCGATGAT
ACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGA
AGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTG
TTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCAT
CGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTT
CCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGTCAGAAGTAAGT
TGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGC
CATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGT
GTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACA
TAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAG
GATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGACCCCACTGATCTTC
AGCATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCG
CAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTCTTTTTCAATA
TTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAG
AAAAATAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAACATTATCGCG
AGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTTGCCTGGCGGCAGTAGCG
CGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACCTCAGAAGTGAAACGCCGTAGCGCCGATGG
TAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAAGTCCAGGCATCAAATAAACGAAAG

GCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTCGCCCTTATTCTG
ACTCGGGGCTCGAG

(SEQ ID n.º: 18)

pXL027

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCCTTTAATTAAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTCATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCGCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG
TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGCCGC
CACCCCGGACCGGCCGAGGCCTTCTCTGGCTGGGTCTGGTTCTGAGCTCCGTCTGCGT
CGCCCTCGGATCCGAAACGCAGGCCAACTCGACCACAGATGCTCTGAACGTTCTTCTCA
TCATCGTGGATGACCTGCGCCCCCTCCCTGGGCTGTTATGGGGATAAGCTGGTGAGGTC
CCCAAATATTGACCAACTGGCATCCACAGCCTCCTCTTCCAGAATGCCTTTGCGCAGC
AAGCAGTGTGCGCCCCGAGCCGCGTTTTCTTCTCACTGGCAGGAGACCTGACACCAC
CCGCTGTACGACTTCAACTCCTACTGGAGGGTGCACGCTGGAACTTCTCCACCATCC
CCCAGTACTTCAAGGAGAATGGCTATGTGACCATGTCGGTGGGAAAAGTCTTTCACCCT
GGGATATCTTCTAACCATAACCGATGATTCTCCGTATAGCTGGTCTTTTCCACCTTATCATC
CTTCCTCTGAGAAGTATGAAAACACTAAGACATGTCGAGGGCCAGATGGAGAACTCCAT
GCCAACCTGCTTTGCCCTGTGGATGTGCTGGATGTTCCCGAGGGCACCTTGCCTGACAA
ACAGAGCACTGAGCAAGCCATACAGTTGTTGGAAAAGATGAAAACGTCAGCCAGTCCTT
TCTTCCTGGCCGTTGGGTATCATAAGCCACACATCCCCTTCAGATACCCCAAGGAATTC
AGAAGTTGTATCCCTTGGAGAACATCACCCCTGGCCCCCGATCCCGAGGTCCCTGATGGC
CTACCCCTGTGGCCTACAACCCCTGGATGGACATCAGGCAACGGGAAGACGTCCAAG
CCTTAACATCAGTGTGCCGTATGGTCCAATTCCTGTGGACTTTCAGCGGAAAATCCGCC
AGAGCTACTTTGCCTCTGTGTCATATTTGGATACACAGGTCGGCCGCCTCTTGAGTGCTT
TGGACGATCTTCAGCTGGCCAACAGCACCATCATTGCATTTACCTCGGATCATGGGTGG
GCTCTAGGTGAACATGGAGAATGGGCCAAATACAGCAATTTTGATGTTGCTACCCATGTT
CCCCTGATATTCTATGTTCCCTGGAAGGACGGCTTCACTTCCGGAGGCAGGCGAGAAGCT
TTTCCCTTACCTCGACCCTTTTGATTCCGCCTCACAGTTGATGGAGCCAGGCAGGCAATC
CATGGACCTTGTGGAACCTGTGTCTCTTTTTCCACGCTGGCTGGACTTGCAGGACTGC
AGGTTCCACCTCGCTGCCCCGTTCTTCATTTACGTTGAGCTGTGCAGAGAAGGCAAG

AACCTTCTGAAGCATTTCGATTCCGTGACTTGGAAGAGGATCCGTACCTCCCTGGTAAT
CCCCGTGAAGTATTGCCTATAGCCAGTATCCCCGGCCTTCAGACATCCCTCAGTGGA
TTCTGACAAGCCGAGTTTAAAAGATATAAAGATCATGGGCTATTCCATACGCACCATAGA
CTATAGGTATACTGTGTGGGTTGGCTTCAATCCTGATGAATTTCTAGCTAACTTTTCTGAC
ATCCATGCAGGGGAAGTGTATTTTGTGGATTCTGACCCATTGCAGGATCACAATATGTAT
AATGATTCCCAAGGTGGAGATCTTTTCCAGTTGTTGATGCCTTGACAATTGGCCCCCTCTC
CCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTT
GTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGGAAACCT
GGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCA
AGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAA
CGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTG
CGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCCGCACAACCCCAGTGCCAC
GTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCACCTCAAGCGTATTCAACAAG
GGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAACCACG
GGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATCATATGGCCACCATGGCTGCGCC
CGCACTAGGGCTGGTGTGTGGACGTTGCCCTGAGCTGGGTCTCGTCCTCTTGCTGCTG
CTGCTCTCGCTGCTGTGTGGAGCGGCAGGGAGCCAGGAGGCCGGGACCGGTGCGGGC
GCGGGGTCCCTTGCGGGTTCTTGCGGCTGCGGCACGCCCCAGCGGCCTGGCGCCCAT
GGCAGTTCGGCAGCCGCTCACCGATACTCGCGGGAGGCTAACGCTCCGGGCCCCGTA
CCCGGAGAGCGGCAACTCGCGCACTCAAAGATGGTCCCCATCCCTGCTGGAGTATTAC
AATGGGCACAGATGATCCTCAGATAAAGCAGGATGGGGAAGCACCTGCGAGGAGAGTT
ACTATTGATGCCTTTTACATGGATGCCTATGAAGTCAGTAATACTGAATTTGAGAAGTTTG
TGAAGTCAACTGGCTATTTGACAGAGGCTGAGAAGTTTGGCGACTCCTTTGTCTTTGAAG
GCATGTTGAGTGAGCAAGTGAAGACCAATATTCAACAGGCAGTTGCAGCTGCTCCCTGG
TGGTTACCTGTGAAAGGCGCTAACTGGAGACACCCAGAAGGGCCTGACTCTACTATTCT
GCACAGGCCGGATCATCCAGTTCTCCATGTGTCCTGGAATGATGCGGTTGCCTACTGCA
CTTGGGCAGGGAAGCGGCTGCCCACGGAAGCTGAGTGGGAATACAGCTGTCGAGGAG
GCCTGCATAATAGACTTTTCCCCTGGGGCAACAACTGCAGCCCCAAAGGCCAGCATTAT
GCCAACATTTGGCAGGGCGAGTTTCCGGTGACCAACACTGGTGAGGATGGCTTCCAAG
GAACTGCGCCTGTTGATGCCTTCCCTCCCAATGGTTATGGCTTATACAACATAGTGGGG
AACGCATGGGAATGGACTTCAGACTGGTGGACTGTTTCATCATTCTGTTGAAGAAACGCTT
AACCCAAAAGGTCCCCCTTCTGGGAAAGACCGAGTGAAGAAAGGTGGATCCTACATGTG
CCATAGGTCTTATTGTTACAGGTATCGCTGTGCTGCTCGGAGCCAGAACACACCTGATA
GCTCTGCTTCGAATCTGGGATTCCGCTGTGCAGCCGACCGCCTGCCCCACTATGGACTGA
GTCGACCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT
TGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCTTT
CCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGG

GTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTG
GGGAATCTAGA Xn(60-100)
GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCT
CGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGG
GCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCGGGT
GGCTGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCGGGC
TCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCTCAA
GGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCAGCT
CCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAGGAG
GTCCCTACTCCCGCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCTTTC
CTTTCGCGCTCTGCGGGGTCACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCCGGC
ACCGCAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTGCGC
CTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGTTAG
GAAAGCCTGCCGGTGACTAACCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTGTGG
CGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGCTTT
TCCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCCTCTTGTGTCCCC
TCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCATG
GGTAGTTGGAAAAGGACATTTCCACCGCAAAATGGCCCCCTCTGGTGGTGGCCCCCTCCT
GCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCCGA
CCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTCACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGGGG
AACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAACACAGATCTCCACCGCACCTGGTC
TGAGGTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTCTC
CCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAAAA
GAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAAT
ACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCGAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTAGA
GAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGTTT
GATGATGCTGAGTGACAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGCAG
CAAGCATTCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCCCA
GACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGACTG
GGGGTGTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAGCC
TGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAAAG
AGATGCTGCATTCGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTGGA
GGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTCGAA
TAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGTTTGT
ATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTTCCCTTTAT
TATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTAACAACTAGAAATATTGTATATACAAAAA
TCATAAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACGTATC
TTATTTAAAGTGCGTTGCTTTTTTCTCATTTATAAGGTAAATAATTCTCATATATCAAGCA

AAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAAACTCCCCCATAAA
AAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCAGAA
CCGCCCAGGGGGCCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGTTTGT
AGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCAGTTC
CCTACTCTCGCCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGCTGC
GGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGAT
AACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAAGGCCAGCAAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGG
CCGCGTTGCTGGCGTTTTTTCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGA
CGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCC
TGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCG
CCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTT
CGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAGCCCCGA
CCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTAT
CGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGC
TACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTAT
CTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA
AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGA
AAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAC
GACGCGCGCGTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCCGTCAAG
TCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTGCATATCAAAGTGCATCACTTCT
TCCCGTATGCCCAACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATCTGCTTG
CACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGATGAGCG
CGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGATATAGAT
CTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTGGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCAACAACC
GCTTCTTGGTGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTTCCCGAG
GTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCACGACCG
AAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTACATGTGCG
AATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCTGCGTAAC
ATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGCTGCTTGG
ATGCCCCGAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAACCGCCACT
GCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGCATTTT
TTTTTCCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTTGTAATTCA
TTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAATCGCCAG
CGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATTTGCCCATAGTGAAAACGGGGGCGA
AGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAAACTACCCAGGGATTGG
CGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTTTTACCGT
AACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAATCGTCGTGTGCACTCA
TGGAACCGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCGTCTTTCATT

GCCATACGGA ACTCCGGATGAGCATT CATCAGGCGGGCAAGAATGTGAATAAAGGCCG
GATAAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCCAGCTGAAC
GGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCTTTACGATG
CCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTTTCTCTCT
TTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAATA
CCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCAT
AGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACC
TATTAATTTCCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACT
GAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAG
CCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCATTCTGTGATTGC
GCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGA
GTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGAT
ATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCAT
CATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATTCGGTCAGCCAG
TTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAA
ACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATAACAAGCGATAGATTGTGCGACCTGATTGCCCG
ACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCG
GCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTTCTCTCTTACCAATGCTTAATC
AGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTCCATAGTTGCCTGACTCCCC
GTCTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGCGCTGCGATGAT
ACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGA
AGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTG
TTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCAT
CGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTT
CCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGTGAGAAGTAAGT
TGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGC
CATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGT
GTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACA
TAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAG
GATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTC
AGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCCAAATGCCG
CAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTCTTTTTCAATA
TTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAG
AAAAATAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAACATTATCGCG
AGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTTGCCTGGCGGCAGTAGCG
CGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACCTCAGAAGTGAAACGCCGTAGCGCCGATGG
TAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACCTGCCAGGCATCAAATAAACGAAAG

GCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTCGCCCTTATTCG
ACTCGGGGCTCGAG

(SEQ ID n.º: 19)

pXL028

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCCTTTAATTAAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCCGCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG
TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGCCACC
ACCTAGGACAGGCAGGGGCCTGCTTTGGCTTGGACTGGTGCTGAGCTCTGTCTGTGTT
GCCCTGGGCTCCGAGACCCAAGCCAACCTCTACAACCGATGCTCTCAATGTTCTGCTCAT
CATAGTGGATGACCTGCGGCCCTCTCTAGGCTGCTATGGAGACAAGTTGGTGCGGAGC
CCCAACATAGACCAGCTAGCCTCTCACTCCCTGCTGTTCCAGAATGCCTTCGCCCAGCA
AGCTGTGTGCGCCCCCTCTAGAGTGTCTTTCCTGACCGGGAGAAGGCCTGATACAACAA
GGCTGTATGACTTTAACAGCTACTGGAGGGTGCACGCAGGCAACTTCTCCACTATCCCC
CAATACTTCAAGGAGAATGGCTATGTGACCATGAGCGTGGGCAAGGTCTTCCACCCTGG
AATCTCCTCCAACCACACTGATGATAGTCCCTACTCTTGGTCTTTTCTCCCTATCACCT
AGCAGTGAGAAGTATGAGAACACCAAAACCTGCAGAGGCCCTGATGGGGAGCTGCATG
CTAACCTCCTGTGTCTGTAGATGTGCTGGACGTCCCAGAGGGCACCTTGCCAGATAAG
CAGTCTACTGAGCAGGCTATCCAGCTGCTTGAGAAAATGAAGACTTCTGCATCTCCCTTC
TTTCTGGCTGTTGGCTACCACAAGCCTCACATCCCCTCAGGTACCCTAAGGAGTTCCAA
AAGCTCTATCCTCTGGAAAACATCACACTTGCCCCCGATCCTGAGGTCCCTGACGGCCT
CCCACCAGTAGCCTACAATCCTTGGATGGACATTAGGCAGAGAGAGGATGTCCAGGCTC
TGAATATTTCTGTGCCCTATGGGCCCATCCCGGTGGACTTCCAGCGCAAAATCAGACAG
TCCTACTTTGCCTCTGTGAGCTATCTGGACACCCAGGTTGGGAGGCTCCTCTCCGCCCT
TGACGACCTCCAGTTGGCCAACAGCACCATTATAGCCTTCACCTCTGACCACGGCTGGG
CACTGGGGGAACACGGGGAGTGGGCTAAGTACTCTAACTTTGATGTGGCCACCCACGT
GCCCCCTCATCTTTTATGTGCCTGGCAGGACTGCCAGCCTGCCCGAAGCTGGGGAAAAAC
TGTTTCCATACCTGGACCCTTTTGACAGTGCTTCTCAGCTCATGGAACCTGGCCGTCAGA
GCATGGATCTGGTGGAGCTAGTGTCCCTCTTCCCAACCTTGGCTGGCCTTGCTGGTCTC
CAGGTGCCTCCTAGATGCCCAGTCCCCTCCTTCCATGTTGAACTCTGCCGTGAGGGGAA

GAATCTGCTGAAGCACTTCAGATTCAGAGACTTGGAGGAGGACCCCTACCTTCCTGGGA
ACCCCAGGGAGTTGATTGCATACTCCCAGTATCCCAGGCCAAGTGACATTCCCCAGTGG
AACTCCGACAAACCAAGTCTGAAGGACATCAAGATCATGGGGTACAGCATCAGGACCAT
TGACTACAGATACACAGTGTGGGTTGATTTAACCCAGATGAGTTCTTGGCAAACCTTTTC
TGACATCCATGCAAGTCAGTTGTATTTTGTGGACAGCGACCCTCTGCAGGATCACAACAT
GTACAATGACAGCCAGGGTGGGGACCTCTTTCAACTCCTCATGCCATAGCAATTGGCCC
CTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGT
GCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCG
AAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGG
AATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGAC
AAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCCACCTGGCGACAGGTG
CCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCCGCACAACCCCAGT
GCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCACCTCAAGCGTATTC
ACAAGGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGC
CTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAA
CCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATCATATGGCCACCATGGCT
GCTCCTGCCCTGGGGCTGGTGTGTGGAAGATGTCCTGAACTGGGCCTGGTTCTGTTACT
GCTTCTGCTCAGCCTGCTCTGTGGTGCTGCCGGCAGCCAAGAGGCAGGCACTGGCGCT
GGAGCTGGAAGCCTGGCTGGGTCTTGTGGATGTGGCACACCACAGAGGCCAGGGGCT
CATGGCTCCTCTGCTGCAGCTCATAGGTACAGCAGAGAAGCCAATGCTCCAGGCCCAGT
GCCTGGAGAGAGACAGCTGGCTCACAGCAAGATGGTGCCCATCCCTGCTGGGGTGTTT
ACAATGGGAACAGATGATCCCAGATCAAGCAGGATGGGGAGGCGCCTGCCAGGAGGG
TGACCATTGATGCATTCTATATGGATGCCTATGAGGTGAGCAATACAGAATTTGAGAAGT
TTGTGAACTCTACTGGCTACCTGACTGAGGCTGAAAAATTTGGAGACTCTTTTGTGTTTG
AAGGAATGCTTAGTGAACAGGTAAAGACCAACATCCAGCAGGCTGTTGCAGCAGCCCCC
TGGTGGTTGCCTGTCAAGGGAGCTAACTGGAGGCACCCTGAGGGACCAGATTCTACAAT
CCTGCATAGACCTGATCATCCTGTTCTGCATGTGTCTTGGAATGATGCTGTGGCTTACTG
TACCTGGGCAGGAAAAAGGCTGCCAACAGAAGCTGAGTGGGAATACTCTTGCAGAGGA
GGCCTGCACAATAGACTGTTCCCATGGGGCAACAAGCTGCAACCCAAGGGCCAGCACT
ATGCTAACATCTGGCAGGGAGAATTCCCTGTGACAAACACAGGAGAGGACGGCTTCCAG
GGAAGTGGCCCTGTAGATGCTTTCCCTCCTAATGGCTATGGCCTGTATAACATTGTTGGC
AACGCCTGGGAGTGGACTTCTGATTGGTGGACAGTGCACCACTCTGTTGAGGAGACACT
GAATCCTAAGGGGCCACCTTCTGGAAAGGATAGAGTGAAGAAGGGGGGAAGCTACATG
TGCCACAGGTCTTATTGTTACAGATACAGGTGCGCTGCTAGGTCTCAGAACACCCCTGA
TAGCAGTGCTAGCAATCTGGGCTTCAGGTGTGCCGCTGACAGACTGCCTACCATGGATT
AAGTCGACCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCT
GTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCT
TTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGG

GGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGC
TGGGGAATCTAGA Xn(60-
100)GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGC
GCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCC
CGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCG
GGTGGCTGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCG
GGCTCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCT
CAAGGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCA
GCTCCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAG
GAGGTCCCTACTCCCGCCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCT
TTCCTTTGCGCTCTGCGGGGTACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCC
GGCACCGCAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTG
CGCCTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGT
TAGGAAAGCCTGCCGGTGACTAACCCCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTG
TGGCGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGC
TTTTCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCTCTTGTGTCC
CCTCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCA
TGGGTAGTTGAAAAGGACATTTCCACCGCAAATGGCCCCTCTGGTGGTGGCCCCCTTC
CTGCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCC
GACCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTCACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGG
GGAACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAAACCAGATCTCCCACCGCACCCCTGG
TCTGAGGTTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTC
TCCCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAA
AAGAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAA
ATACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCCAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTA
GAGAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGT
TTGATGATGCTGAGTGACAAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGC
AGCAAGCATTCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCC
CAGACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGAC
TGGGGGTGTTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAG
CCTGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAA
GGAGATGCTGCATTGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTG
GAGGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTC
GAATAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGT
TTGTATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGCTGATTTCCCT
TTATTATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTTAACAACTAGAAATATTGTATATACAA
AAAATCATAAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACG
TATCTTATTTAAAGTGCGTTGCTTTTTTCTCATTTATAAGGTTAAATAATTCTCATATATCAA

GCAAAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAAACTCCCCCAT
AAAAAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCA
GAACCGCCCAGGGGGCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGT
TTGTAGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCA
GTTCCCTACTCTCGCCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCG
CTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGG
GGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAA
AAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAA
TCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTC
CCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTG
TCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCT
CAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAG
CCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGA
CTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGC
GGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATT
TGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATC
CGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGC
GCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGT
GGAACGACGCGCGCGTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCC
GTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTCGATATCAAAGTGCAT
CACTTCTTCCCGTATGCCCAACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATC
TGCTTGACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGA
TGAGCGCGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGAT
ATAGATCTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTTGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCA
ACAACCGCTTCTTGGTCGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTT
CCCGAGGTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCA
CGACCGAAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTAC
ATGTGCGAATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCT
GCGTAACATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGC
TGCTTGATGCCCCGAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAAC
CGCCACTGCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAG
CGCATTTTTTTTTCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTT
GTAATTCATTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAA
TCGCCAGCGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATATTTGCCCATAGTGAAAACG
GGGGCGAAGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAACTCACCCA
GGGATTGGCGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTT
TTCACCGTAACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAAACTGCCGGAAATCGTCGTG
TGCACTCATGGAAAACGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCG

TCTTTCATTGCCATACGGAAC TCCGGATGAGCATT CATCAGGCGGGCAAGAATGTGAAT
AAAGGCCGGATAAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCC
AGCTGAACGGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCT
TTACGATGCCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTT
TTTCCTCCTTTAGAAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTCATATCAGGA
TTATCAATACCATATTTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGG
CAGTTCCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATC
AATACAACCTATTAATTTCCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGA
GTGACGACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCA
ACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTATT
CGTGATTGCGCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAAC
AGGAATCGAGTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTG
AATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTA
ACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATTCC
GTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCA
TGTTTCAGAAACAACCTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATACAAGCGATAGATTGTCGCACC
TGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGA
ATTTAATCGCGGCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTTCTCCTTTACC
AATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCATCCATAGTTG
CCTGACTCCCCGTCTGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGC
GCTGCGATGATACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCA
GCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAG
TCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAAC
GTTGTTGCCATCGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATT
CAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGT
CAGAAGTAAGTTGGCCGCAAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCT
TACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATT
CTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATA
CCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGA
AACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCC
AACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGG
CAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTC
CTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTG
AATGTATTTAGAAAAATAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAA
CATTATCGCGAGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTTGCCTGGCG
GCAGTAGCGCGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACTCAGAAGTGAAACGCCGTAG
CGCCGATGGTAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACGCCAGGCATCAAAT

AAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTC
GCCCTTATTCGACTCGGGGCTCGAG

(SEQ ID n.º: 20)

pXL029

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCCTTTAATTAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCGCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG
TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGCCACC
CCCCCGGACCGGGAGAGGCCTCTTGTGGTTGGGCCTGGTGCTGAGCAGCGTGTGCGT
GGCCCTGGGCAAGTGAGACCCAGGCTAACTCTACAACAGATGCCTTGAATGTGCTGCTGA
TCATTGTGGATGACCTGAGGCCAAGTCTGGGCTGCTATGGGGACAAATTGGTGAGGTCC
CCCAACATCGACCAAGTTGGCCTCCCACTCTCTCCTATTCCAAAATGCTTTCGCCAGCAG
GCAGTTTGTGCCCCCTCTAGGGTGAGCTTCCTCACTGGCAGGCGCCCTGACACCACTA
GACTGTATGACTTTAACAGCTATTGGAGGGTGCACGCAGGAACTTCTCCACAATCCCTC
AATACTTCAAGGAGAATGGTTATGTGACAATGTCTGTGGGCAAGGTGTTCCACCCTGGC
ATCAGCAGCAACCACACCGATGACTCACCTATAGTTGGTCTTTTCCCCCTACCATCCT
TCATCTGAGAAATATGAAAACACAAAAACCTGCCGAGGCCAGACGGGGAACTGCATGC
CAACCTACTCTGTCCTGTTGATGTACTGGACGTGCCCCAGGGGCACCCTCCCTGATAAGC
AGTCCACAGAACAGGCCATTGAGCTGCTTGAAAAGATGAAGACCTCCGCATCCCCCTTC
TTCTTGGCTGTGCGCTACCACAAGCCCCATATCCCCTTTAGATACCCCAAGGAATTCCAG
AACTGTACCCACTGGAGAACATCACACTTGCTCCTGACCCTGAAGTGCCTGACGGACT
GCCTCCAGTGGCCTATAACCCTTGGATGGACATCCGGCAGCGCGAGGATGTGCAGGCT
CTGAACATTAGTGTGCCTTATGGGCCCATCCCTGTGGACTTTCAGAGGAAGATTGCCCA
GTCCTACTTTGCCTCTGTATCCTACCTGGACACACAGGTGGGACGCCTGCTGTCTGCCC
TTGATGATCTGCAACTGGCCAACAGCACCATTATAGCTTTCACATCAGACCATGGGTGG
GCTCTTGGGGAGCATGGTGAATGGGCTAAGTACTCCAACCTTCGATGTGGCAACCCATGT
CCCTCTGATCTTCTATGTGCCAGGAAGGACCGCCTCTCTGCCAGAGGCAGGTGAGAAG
CTGTTCCCCTATCTGGACCCTTTTGAAGTCCGCCAGCCAGCTGATGGAGCCTGGCCGACA
GTCTATGGACCTGGTTGAGCTGGTCAGCCTGTTTCCCACTCGCTGGACTGGCTGGCC
TGCAAGTACCCCCACGCTGCCCAAGTGCCTCCTTCCATGTGGAGCTTTGCAGGGAGGG

GAAGAACCTCCTCAAGCACTTCAGGTTCAAGGACCTAGAGGAGGATCCTTATCTGCCTG
GAAACCCCAGAGAGCTTATTGCTTACTCCCAGTATCCAAGGCCTAGTGACATTCCCCAAT
GGAACTCAGACAAACCAAGCCTGAAAGACATCAAGATCATGGGATACTCTATCAGGACC
ATTGACTACAGGTACACTGTGTGGGTTGGCTTCAACCCGGATGAGTTCCTGGCTAATTTCT
TCTGACATACATGCTGGCGAGCTGTACTTCGTGGACAGTGACCCCCTGCAGGATCACAA
CATGTACAATGATTCCCAGGGGGGTGACCTCTTCCAGCTTCTGATGCCCTAACAATTGG
CCCCTCTCCCTCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGG
TGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCC
CGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAA
AGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAA
GACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCC
CAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCACCTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGG
GGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCC
CGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATACCGGTGCCACCAT
GGCTGCCCCTGCTCTGGGATTGGTTTGTGGCAGATGTCCTGAGCTTGGTCTGGTGCTGT
TGCTCCTTCTGTTGTCTCTGCTGTGTGGAGCAGCTGGGTCTCAGGAAGCTGGCACAGGC
GCTGGGGCTGGCTCTCTGGCCGGGTCATGTGGCTGTGGAACCTCCCAGCGGCCTGGA
GCCCATGGCAGCTCTGCCGCAGCACACAGGTATTCTAGGGAAGCCAATGCCCCAGGCC
CTGTGCCTGGGGAGAGACAGCTAGCTCATTCTAAGATGGTGCCTATCCCAGCCGGGGTT
TTTACAATGGGCACTGATGATCCTCAGATTAAGCAGGATGGAGAGGGCCCCCGCCAGAAG
AGTGACCATTGATGCTTTCTACATGGATGCATATGAAGTGTCCAACACAGAGTTTGAGAA
ATTTGTGAACTCTACTGGATACTTGACCGAGGCTGAGAAGTTTGGAGATTCTTTGTCTT
TGAAGGCATGCTGTCTGAGCAGGTCAAGACCAACATTAGCAAGCAGTGGCCGCTGCA
CCTTGGTGGCTTCCTGTGAAGGGCGCCAACTGGAGACATCCAGAGGGGGCCAGATAGTA
CCATCCTCCACAGACCTGATCACCCAGTCCTTCATGTTTCCTGGAATGATGCAGTTGCTT
ACTGCACTTGGGCGGCAAGAGGCTCCCTACTGAGGCAGAGTGGGAATACTCCTGCAG
AGGAGGCCTGCACAACAGACTGTTCCCTTGGGGGAACAAGCTTCAGCCCAAAGGCCAG
CACTATGCTAACATCTGGCAGGGTGAGTTTCCAGTCACCAATACAGGGGAGGACGGATT
CCAGGGAACCGCACCAAGTAGATGCCTTCCCTCCTAATGGCTATGGCCTGTATAATATTGT
GGGCAATGCATGGGAGTGGACCTCTGACTGGTGGACTGTGCACCACTCAGTGGAGGAA
ACCCTGAACCCTAAGGGACCCCCTTCAGGCAAAGATAGAGTCAAAAAGGGAGGGAGCT
ATATGTGTCACAGATCCTATTGCTACAGATATAGATGTGCAGCCAGGTCCCAGAACACCC
CTGACTCTTCTGCTAGCAACCTGGGCTTTCCGGTGTGCTGCTGATAGACTGCCACCATG
GACTAAGTCGACCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCC
ATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTG
TCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCT

GGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGAATCTAGA Xn(60-
100)GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGC
GCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCC
CGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCG
GGTGGCTGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCG
GGCTCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCT
CAAGGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCA
GCTCCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAG
GAGGTCCCTACTCCCGCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCT
TTCCTTTGCGCTCTGCGGGGTACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCC
GGCACCGCAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTG
CGCCTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGT
TAGGAAAGCCTGCCGGTGACTAACCCCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTG
TGGCGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGC
TTTTCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCTCTTGTGTCC
CCTCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCA
TGGGTAGTTGAAAAGGACATTTCCACCGCAAATGGCCCCTCTGGTGGTGGCCCCCTTC
CTGCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCC
GACCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGG
GGAACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAAACCAGATCTCCCACCGCACCCCTGG
TCTGAGGTTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTC
TCCCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAA
AAGAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAA
ATACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCGAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTA
GAGAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGT
TTGATGATGCTGAGTGACAAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGC
AGCAAGCATTCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCC
CAGACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGAC
TGGGGGTGTTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAG
CCTGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAA
GGAGATGCTGCATTGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTG
GAGGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTC
GAATAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGT
TTGTATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTCCCT
TTATTATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTTAACAACTAGAAATATTGTATATACAA
AAAATCATAAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACG
TATCTTATTTAAAGTGC GTT GCTTTTTTCTCATTTATAAGGTTAAATAATTCTCATATATCAA

GCAAAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAAACTCCCCCAT
AAAAAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCA
GAACCGCCCAGGGGGCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGT
TTGTAGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCA
GTTCCCTACTCTCGCCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCG
CTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGG
GGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAA
AAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAA
TCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTC
CCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTG
TCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCT
CAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAG
CCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGA
CTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGC
GGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATT
TGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATC
CGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGC
GCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGT
GGAACGACGCGCGCTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCC
GTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTCGATATCAAAGTGCAT
CACTTCTTCCCGTATGCCCAACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATC
TGCTTGACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGA
TGAGCGCGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGAT
ATAGATCTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTTGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCA
ACAACCGCTTCTTGGTCGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTT
CCCGAGGTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCA
CGACCGAAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTAC
ATGTGCGAATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCT
GCGTAACATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTG
TGCTTGATGCCCCGAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAAC
CGCCACTGCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAG
CGCATTTTTTTTTCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTT
GTAATTCATTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAA
TCGCCAGCGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATATTTGCCCATAGTGAAAACG
GGGGCGAAGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAACTCACCCA
GGGATTGGCGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTT
TTCACCGTAACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAAATCGTCGTG
TGCACTCATGGAAAACGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCG

TCTTTCATTGCCATACGGAACCTCCGGATGAGCATTTCATCAGGCGGGCAAGAATGTGAAT
AAAGGCCCGGATAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCC
AGCTGAACGGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCT
TTACGATGCCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTT
TTTCCTCCTTTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGA
TTATCAATACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGG
CAGTTCCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATC
AATACAACCTATTAATTTCCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGA
GTGACGACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCA
ACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTTCATT
CGTGATTGCGCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAAC
AGGAATCGAGTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTG
AATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTA
ACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATTCC
GTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCA
TGTTTCAGAAACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATACAAGCGATAGATTGTCGCACC
TGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGA
ATTTAATCGCGGCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTTCTCCTTTACC
AATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCATCCATAGTTG
CCTGACTCCCCGTCTGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGC
GCTGCGATGATACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCA
GCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAG
TCTATTAATTGTTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAAC
GTTGTTGCCATCGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATT
CAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGT
CAGAAGTAAGTTGGCCGCAAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCT
TACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATT
CTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATA
CCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGA
AACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCC
AACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGG
CAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTC
CTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTG
AATGTATTTAGAAAAATAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAA
CATTATCGCGAGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTCCTGGCG
GCAGTAGCGCGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACTCAGAAGTGAAACGCCGTAG
CGCCGATGGTAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACGCCAGGCATCAAAT

AAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTC
GCCCTTATTCGACTCGGGGCTCGAG

(SEQ ID n.º: 21)

pXL030

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCC
ATCACTAGGGGTTCCTTTAATTAACGCGTGGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAA
GGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACCGGGGGAGGCTGCTG
GTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACAGGGGGCTAAGTCCACC
GGGGGAGGCTGCTGGTGAATATTAACCAAGGTCACCCCAAGTTATCGGAGGAGCAAACA
GGGGCTAAGTCCACACTAGTAAATGACCTATTAAGAATATTTATAGAACGAATGTTCCG
ATGCTCTAATCTCTCTAGACAAGGTTTATATTTGTATGGGTTACTTATTCTCTCTTTGTTGA
CTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTA
GCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCAC
TCATTCTTGGCAGGCCGCGGCTAAGGTAAGTTGGCGCCGTTTAAGGGATGGTTGGTTGG
TGGGGTATTAATGTTTAATTACCTTTTTTACAGGCCTGGGCGCGCCGCCACCATGGCTG
CGCCCGCACTAGGGCTGGTGTGTGGACGTTGCCCTGAGCTGGGTCTCGTCCTCTTGCT
GCTGCTGCTCTCGCTGCTGTGTGGAGCGGCAGGGAGCCAGGAGGCCGGGACCGGTGC
GGGCGCGGGGTCCCTTGCGGGTTCTTGCGGCTGCGGCACGCCCCAGCGGCCTGGCGC
CCATGGCAGTTCGGCAGCCGCTCACCGATACTCGCGGGAGGCTAACGCTCCGGGGCCCC
GTACCCGGAGAGCGGCAACTCGCGCACTCAAAGATGGTCCCCATCCCTGCTGGAGTAT
TTACAATGGGCACAGATGATCCTCAGATAAAGCAGGATGGGGAAGCACCTGCGAGGAG
AGTTACTATTGATGCCTTTTACATGGATGCCTATGAAGTCAGTAATACTGAATTTGAGAAG
TTTGTGAACTCAACTGGCTATTTGACAGAGGCTGAGAAGTTTGGCGACTCCTTTGTCTTT
GAAGGCATGTTGAGTGAGCAAGTGAAGACCAATATTCAACAGGCAGTTGCAGCTGCTCC
CTGGTGGTTACCTGTGAAAGGCGCTAACTGGAGACACCCAGAAGGGCCTGACTCTACTA
TTCTGCACAGGCCGGATCATCCAGTTCTCCATGTGTCTGGAATGATGCGGTTGCCTAC
TGCACTTGGGCAGGGAAGCGGCTGCCACGGAAGCTGAGTGGGAATACAGCTGTGAG
GAGGCCTGCATAATAGACTTTTCCCCTGGGGCAACAACTGCAGCCCAAAGGCCAGCAT
TATGCCAACATTTGGCAGGGCGAGTTTCCGGTGACCAACACTGGTGAGGATGGCTTCCA
AGGAACTGCGCCTGTTGATGCCTTCCCTCCCAATGGTTATGGCTTATACAACATAGTGG
GGAACGCATGGGAATGGACTTCAGACTGGTGGACTGTTTCATCATTCTGTTGAAGAAACG
CTTAACCCAAAAGGTCCCCCTTCTGGGAAAGACCGAGTGAAGAAAGGTGGATCCTACAT
GTGCCATAGGTCTTATTGTTACAGGTATCGCTGTGCTGCTCGGAGCCAGAACACACCTG
ATAGCTCTGCTTCGAATCTGGGATTCCGCTGTGCAGCCGACCGCCTGCCACTATGGAC
TGAGTCGACCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATC
TGTTGTTTGCCCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCC
TTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGG

GGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGC
TGGGAATCTAGA Xn(60-
100)GTTTAAACATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGC
GCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCACGCCCCGGGCTTTGCC
CGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCG
GGTGGCTGGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCG
GGCTCCGGGTCTTTGCAGTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCT
CAAGGTCAGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCA
GCTCCGCCCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAG
GAGGTCCCTACTCCCGCCCAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCT
TTCCTTTGCGCTCTGCGGGGTACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCC
GGCACCGCAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTG
CGCCTGCGGTAGAGCGGCCGCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGT
TAGGAAAGCCTGCCGGTGACTAACCCCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTG
TGGCGGGGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGC
TTTTCTAGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCTCTTGTGTCC
CCTCCCCGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCA
TGGGTAGTTGAAAAGGACATTTCCACCGCAAATGGCCCCTCTGGTGGTGGCCCCCTTC
CTGCAGCGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCC
GACCCCAAAGGCCAGGCTGTAAATGTACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGG
GGAACCTGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAAACCAGATCTCCCACCGCACCCCTGG
TCTGAGGTTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTC
TCCCATCCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAA
AAGAGCTAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAA
ATACAGCTTCCCCTCTTCCCACCCGCCCCAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTA
GAGAAGGGGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGT
TTGATGATGCTGAGTGACAAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGC
AGCAAGCATTCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCC
CAGACTGTGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGAC
TGGGGGTGTTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAG
CCTGGCAGGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAA
GGAGATGCTGCATTGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTG
GAGGAGCCTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTC
GAATAAGGGCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGT
TTGTATTATATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTCCCT
TTATTATTTTCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTTAACAACTAGAAATATTGTATATACAA
AAAATCATAAATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACG
TATCTTATTTAAAGTGCGTTGCTTTTTTCTCATTTATAAGGTTAAATAATTCTCATATATCAA

GCAAAGTGACAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAAACTCCCCCAT
AAAAAAACCCGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCA
GAACCGCCCAGGGGGCCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGT
TTGTAGAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCA
GTTCCCTACTCTCGCCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCG
CTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGG
GGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAA
AAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAA
TCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTC
CCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTG
TCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCT
CAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAG
CCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGA
CTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGC
GGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATT
TGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATC
CGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGC
GCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGT
GGAACGACGCGCGCGTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCC
GTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTCGATATCAAAGTGCAT
CACTTCTTCCCGTATGCCCACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATC
TGCTTGACGTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGA
TGAGCGCGGTGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGAT
ATAGATCTCACTACGCGGCTGCTCAAACCTTGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCA
ACAACCGCTTCTTGGTCGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTT
CCCGAGGTAATCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCA
CGACCGAAAAGATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTAC
ATGTGCGAATGATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCT
GCGTAACATCGTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGC
TGCTTGATGCCCCGAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAAC
CGCCACTGCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAG
CGCATTTTTTTTTCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTT
GTAATTCATTAAGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAA
TCGCCAGCGGCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATATTTGCCCATAGTGAAAACG
GGGGCGAAGAAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAACTCACCCA
GGGATTGGCGCTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTT
TTCACCGTAACACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAAATCGTCGTG
TGCACTCATGGAAAACGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCG

TCTTTCATTGCCATACGGAAC TCCGGATGAGCATT CATCAGGCGGGCAAGAATGTGAAT
AAAGGCCGGATAAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCC
AGCTGAACGGTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAAATGTTCT
TTACGATGCCATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTT
TTTCCTCCTTTAGAAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTCATATCAGGA
TTATCAATACCATATTTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGG
CAGTTCCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATC
AATACAACCTATTAATTTCCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGA
GTGACGACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCA
ACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTATT
CGTGATTGCGCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAAC
AGGAATCGAGTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTG
AATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTA
ACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATTCC
GTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCA
TGTTTCAGAAACAACCTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATACAAGCGATAGATTGTCGCACC
TGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGA
ATTTAATCGCGGCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTTCTCCTTTACC
AATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCATCCATAGTTG
CCTGACTCCCCGTCTGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGC
GCTGCGATGATACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCA
GCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAG
TCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAAC
GTTGTTGCCATCGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATT
CAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCACGTTGT
CAGAAGTAAGTTGGCCGCAAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCT
TACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATT
CTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATA
CCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGA
AACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCC
AACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGG
CAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTC
CTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTG
AATGTATTTAGAAAAATAACAAATAGGGGTCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTGAA
CATTATCGCGAGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTCCTGGCG
GCAGTAGCGCGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACTCAGAAGTGAAACGCCGTAG
CGCCGATGGTAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACGCCAGGCATCAAAT

AAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTC
GCCCTTATTCGACTCGGGGCTCGAG

(SEQ ID n.º: 22)

pXL032

CGCGTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTACGTAGCCATGCTCTAGGAA
GATCGGAATTCGCCCTTAAGCTAGCAGGTTAATTTTTAAAAAGCAGTCAAAAGTCCAAGT
GGCCCTTGGCAGCATTACTCTCTCTGTTTGCTCTGGTTAATAATCTCAGGAGCACAAAC
ATTCCAGATCCAGGTTAATTTTTAAAAAGCAGTCAAAAGTCCAAGTGGCCCTTGGCAGCA
TTTACTCTCTCTGTTTGCTCTGGTTAATAATCTCAGGAGCACAAACATTCCAGATCCGGC
GCGCCAGGGGCTGGAAGCTACCTTTGACATCATTTCTCTGCGAATGCATGTATAATTTCT
ACAGAACCTATTAGAAAGGATCACCCAGCCTCTGCTTTTGTACAACCTTCCCTTAAAAAAC
TGCCAATTCCTACTGCTGTTTGGCCCAATAGTGAGAACTTTTCTCTGCTGCCTCTTGGTGC
TTTTGCCTATGGCCCCTATTCTGCCTGCTGAAGACACTCTTGCCAGCATGGACTTAAACC
CCTCCAGCTCTGACAATCCTCTTTCTCTTTTGTGTTTACATGAAGGGTCTGGCAGCCAAAG
CAATCACTCAAAGTTCAAACCTTATCATTTTTTGTCTTGTTCCTCTTGGCCTTGGTTTTGTA
CATCAGCTTTGAAAATACCATCCCAGGGTTAATGCTGGGGTTAATTTATAACTAAGAGTG
CTCTAGTTTTGCAATACAGGACATGCTATAAAAATGGAAAGATGTTGCTTTCTGAGAGAC
TGCAGAAAGTTGGTCGTGAGGCACTGGGCAGGTAAGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTTA
AGGAGACCAATAGAACTGGGCTTGTGAGACAGAGAAGACTCTTGCGTTTCTGATAGG
CACCTATTGGTCTTACTGACATCCACTTTGCCTTTCTCTCCACAGGTGTCCAGGCGGCCG
CATGCCCCCGCCCCGCACCGGCCGCGGCCTGCTGTGGCTGGGCCTGGTGCTGAGCAG
CGTGTGCGTGGCCCTGGGCAGCGAGACCCAGGCCAACAGCACCACCGACGCCCTGAA
CGTGCTGCTGATCATCGTGGACGACCTGCGCCCCAGCCTGGGCTGCTACGGCGACAAG
CTGGTGCGCAGCCCCAACATCGACCAGCTGGCCAGCCACAGCCTGCTGTTCCAGAACG
CCTTCGCCCAGCAGGCCGTGTGCGCCCCAGCCGCGTGAGCTTCCTGACCGGCCGCC
GCCCCGACACCACCCGCTGTACGACTTCAACAGCTACTGGCGCGTGACGCCGGCAA
CTTCAGCACCATCCCCAGTACTTCAAGGAGAACGGCTACGTGACCATGAGCGTGGGCA
AGGTGTTCCACCCCGGCATCAGCAGCAACCACACCGACGACAGCCCCTACAGCTGGAG
CTTCCCCCCTACCACCCCAGCAGCGAGAAGTACGAGAACACCAAGACCTGCCGCGGC
CCCGACGGCGAGCTGCACGCCAACCTGCTGTGCCCCGTGGACGTGCTGGACGTGCCC
GAGGGCACCTGCCCCGACAAGCAGAGCACCGAGCAGGCCATCCAGCTGCTGGAGAAG
ATGAAGACCAGCGCCAGCCCCTTCTTCCTGGCCGTGGGCTACCACAAGCCCCACATCC
CCTTCCGCTACCCCAAGGAGTTCCAGAAGCTGTACCCCTGGAGAACATCACCTGGCC
CCCGACCCCGAGGTGCCCCGACGGCCTGCCCCCGTGGCCTACAACCCCTGGATGGAC
ATCCGCCAGCGCGAGGACGTGCAGGCCCTGAACATCAGCGTGCCCTACGGCCCCATCC
CCGTGGACTTCCAGCGCAAGATCCGCCAGAGCTACTTCGCCAGCGTGAGCTACCTGGA
CACCCAGGTGGGCCGCTGCTGAGCGCCCTGGACGACCTGCAGCTGGCCAACAGCAC
CATCATCGCCTTACCAGCGACCACGGCTGGGCCCTGGGCGAGCACGGCGAGTGGGC

CAAGTACAGCAACTTCGACGTGGCCACCCACGTGCCCCTGATCTTCTACGTGCCCCGGCC
GCACCGCCAGCCTGCCCCGAGGCCGGCGAGAAGCTGTTCCCCTACCTGGACCCCTTCGA
CAGCGCCAGCCAGCTGATGGAGCCCCGGCCGCCAGAGCATGGACCTGGTGGAGCTGGT
GAGCCTGTTCCCCACCCTGGCCGGCCTGGCCGGCCTGCAGGTGCCCCCCCCGCTGCCC
CGTGGCCAGCTTCCACGTGGAGCTGTGCCGCGAGGGCAAGAACCTGCTGAAGCACTTC
CGCTTCCGCGACCTGGAGGAGGACCCCTACCTGCCCCGGCAACCCCCGCGAGCTGATC
GCCTACAGCCAGTACCCCCGCCCCAGCGACATCCCCCAGTGGAACAGCGACAAGCCCA
GCCTGAAGGACATCAAGATCATGGGCTACAGCATCCGCACCATCGACTACCGCTACACC
GTGTGGGTGGGCTTCAACCCCGACGAGTTCCTGGCCAACTTCAGCGACATCCACGCCG
GCGAGCTGTACTTCGTGGACAGCGACCCCCTGCAGGACCACAACATGTACAACGACAG
CCAGGGCGGGCAGCTGTTCCAGCTGCTGATGCCCTAGAAGCCTGGATCCAATCAACCT
CTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAATATGTTGCTCCTTTTACGC
TATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTAT
TTTCTCCTCCTTGATATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCCGTTGT
CAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGC
ATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACG
GCGGAACCTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCA
CTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAGCTGACGTCCCTTCCATGGCTGCTCGCCTGT
GTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCC
AGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGA
GATCTGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCCCGTG
CCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATT
GCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACA
GCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACTCGAGTTAAGGGC
GAATTCCCGATTAGGATCTTCCTAGAGCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTT
AATCATTAACCTACAGTTTAAAC

Xn(60-

100)ATTTAAATAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCT
CGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGG
CCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGTATACATCGATGTGAGTTCGCGGGTGGCT
GGGGGGCCCTGGGCTGCGACCGCCCCCGAACCGCGTCTACGAGCCTTGCGGGCTCCG
GGTCTTTGCACTCGTATGGGGGCAGGGTAGCTGTTCCCCGCAAGGAGAGCTCAAGGTC
AGCGCTCGGACCTGGCGGAGCCCCGCACCCAGGCTGTGGCGCCCTGTGCAGCTCCGC
CCTTGCGGCGCCATCTGCCCGGAGCCTCCTTCCCCTAGTCCCCAGAAACAGGAGGTCC
CTACTCCCGCCCCGAGATCCCGACCCGGACCCCTAGGTGGGGGACGCTTTCTTTCTTTT
GCGCTCTGCGGGGTACGTGTGCGAGAGGAGCCCCTCCCCACGGCCTCCGGCACCG
CAGGCCCCGGGATGCTAGTGCGCAGCGGGTGCATCCCTGTCCGGATGCTGCGCCTGC
GGTAGAGCGGGCCCATGTTGCAACCGGGAAGGAAATGAATGGGCAGCCGTTAGGAAA
GCCTGCCGGTGAATAACCCTGCGCTCCTGCCTCGATGGGTGGAGTCGCGTGTGGCGG

GGAAGTCAGGTGGAGCGAGGCTAGCTGGCCCGATTTCTCCTCCGGGTGATGCTTTTCCT
AGATTATTCTCTGGTAAATCAAAGAAGTGGGTTTATGGAGGTCCTCTTGTGTCCCTCCC
CGCAGAGGTGTGGTGGCTGTGGCATGGTGCCAAGCCGGGAGAAGCTGAGTCATGGGTA
GTTGGAAAAGGACATTTCCACCGCAAAATGGCCCTCTGGTGGTGGCCCTTCCTGCAG
CGCCGGCTCACCTCACGGCCCCGCCCTTCCCCTGCCAGCCTAGCGTTGACCCGACCCC
AAAGGCCAGGCTGTAAATGTCACCGGGAGGATTGGGTGTCTGGGCGCCTCGGGGAACC
TGCCCTTCTCCCCATTCCGTCTTCCGGAAACCAGATCTCCCACCGCACCCCTGGTCTGAG
GTTAAATATAGCTGCTGACCTTTCTGTAGCTGGGGGCCTGGGCTGGGGCTCTCTCCCAT
CCCTTCTCCCCACACACATGCACTTACCTGTGCTCCCACTCCTGATTTCTGGAAAAGAGC
TAGGAAGGACAGGCAACTTGGCAAAATCAAAGCCCTGGGACTAGGGGGTTAAATAACAGC
TTCCCCTCTTCCCACCCGCCCCAGTCTCTGTCCCTTTTGTAGGAGGGACTTAGAGAAGG
GGTGGGCTTGCCCTGTCCAGTTAATTTCTGACCTTTACTCCTGCCCTTTGAGTTTGATGA
TGCTGAGTGTACAAGCGTTTTCTCCCTAAAGGGTGCAGCTGAGCTAGGCAGCAGCAAGC
ATTCCTGGGGTGGCATAGTGGGGTGGTGAATACCATGTACAAAGCTTGTGCCCAGACTG
TGGGTGGCAGTGCCCCACATGGCCGCTTCTCCTGGAAGGGCTTCGTATGACTGGGGGT
GTTGGGCAGCCCTGGAGCCTTCAGTTGCAGCCATGCCTTAAGCCAGGCCAGCCTGGCA
GGGAAGCTCAAGGGAGATAAAATTCAACCTCTTGGGCCCTCCTGGGGGTAAAGGAGATG
CTGCATTCGCCCTCTTAATGGGGAGGTGGCCTAGGGCTGCTCACATATTCTGGAGGAGC
CTCCCCTCCTCATGCCTTCTTGCCTCTTGTCTCTTAGGCATGCAAAAGAGTCGAATAAGG
GCGACACAAAATTTATTCTAAATGCATAATAAATACTGATAACATCTTATAGTTTGTATTAT
ATTTTGTATTATCGTTGACATGTATAATTTTGATATCAAAAAGTATTTTCCCTTTATTATTT
TCGAGATTTATTTTCTTAATTCTCTTTAACAAGTATAGAAATATTGTATATACAAAAAATCATA
AATAATAGATGAATAGTTTAATTATAGGTGTTTCATCAATCGAAAAAGCAACGTATCTTATTT
AAAGTGCGTTGCTTTTTTCTCATTTATAAGGTAAATAATTCTCATATATCAAGCAAAGTGA
CAGGCGCCCTTAAATATTCTGACAAATGCTCTTTCCCTAAACTCCCCCATAAAAAAACC
CGCCGAAGCGGGTTTTTACGTTATTTGCGGATTAACGATTACTCGTTATCAGAACCGCCC
AGGGGGGCCGAGCTTAAGACTGGCCGTCGTTTTACAACACAGAAAGAGTTTGTAGAAAC
GCAAAAAGGCCATCCGTCAGGGGCCTTCTGCTTAGTTTGATGCCTGGCAGTTCCCTACT
CTCGCCTTCCGCTTCCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTTCGGTTCGGCTGCGGCGA
GCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGC
AGGAAAGAACATGTGAGCAAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCG
TTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTC
AAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCTGGAA
GCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTT
CTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGT
GTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTACGCCGACCGC
TGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCC
ACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACA

GAGTTCTTGAAGTGGTGGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGC
GCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACA
AACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAA
AAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAC
GCGCGCGTAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCCGTCAAGTCA
GCGTAATGCTCTGCTTAGGTGGCGGTACTTGGGTGCGATATCAAAGTGCATCACTTCTTCC
CGTATGCCCAACTTTGTATAGAGAGCCACTGCGGGATCGTCACCGTAATCTGCTTGCAC
GTAGATCACATAAGCACCAAGCGCGTTGGCCTCATGCTTGAGGAGATTGATGAGCGCGG
TGGCAATGCCCTGCCTCCGGTGCTCGCCGGAGACTGCGAGATCATAGATATAGATCTCA
CTACGCGGGCTGCTCAAACCTTGGGCAGAACGTAAGCCGCGAGAGCGCCAACAACCGCTT
CTTGGTCGAAGGCAGCAAGCGCGATGAATGTCTTACTACGGAGCAAGTTCCCGAGGTAA
TCGGAGTCCGGCTGATGTTGGGAGTAGGTGGCTACGTCACCGAACTCACGACCGAAAA
GATCAAGAGCAGCCCGCATGGATTTGACTTGGTCAGGGCCGAGCCTACATGTGCGAAT
GATGCCCATACTTGAGCCACCTAACTTTGTTTTAGGGCGACTGCCCTGCTGCGTAACATC
GTTGCTGCTCCATAACATCAAACATCGACCCACGGCGTAACGCGCTTGCTGCTTGGATG
CCCGAGGCATAGACTGTACAAAAAACAGTCATAACAAGCCATGAAAACCGCCACTGCG
CCGTTACCACCGCTGCGTTCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGCATTTTTTT
TTCCTCCTCGGCGTTTACGCCCCGCCCTGCCACTCATCGCAGTACTGTTGTAATTCATTA
AGCATTCTGCCGACATGGAAGCCATCACAGACGGCATGATGAACCTGAATCGCCAGCG
GCATCAGCACCTTGTCGCCTTGCGTATAATATTTGCCCATAGTGAAAACGGGGGCGAAG
AAGTTGTCCATATTGGCCACGTTTAAATCAAACCTGGTGAACTCACCCAGGGATTGGCG
CTGACGAAAAACATATTCTCAATAAACCCCTTTAGGGAAATAGGCCAGGTTTTACCGTAA
CACGCCACATCTTGCGAATATATGTGTAGAACTGCCGGAAATCGTCGTGTGCACTCAT
GGAAAACGGTGTAACAAGGGTGAACACTATCCCATATCACCAGCTCACCGTCTTTCATTG
CCATACGGAACCTCCGGATGAGCATTATCAGGCGGGCAAGAATGTGAATAAAGGCCGG
ATAAACTTGTGCTTATTTTTCTTTACGGTCTTTAAAAAGGCCGTAATATCCAGCTGAACG
GTCTGGTTATAGGTACATTGAGCAACTGACTGAAATGCCTCAAATGTTCTTTACGATGC
CATTGGGATATATCAACGGTGGTATATCCAGTGATTTTTTTCTCCATTTTTTTTTCTCCTT
TAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAATAC
CATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCATA
GGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACCT
ATTAATTTCCCCTCGTCAAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACT
GAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAG
CCATTACGCTCGTCATCAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCATTCGTGATTGC
GCCTGAGCGAGGCGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGA
GTGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTACCTGAATCAGGAT
ATTCTTCTAATACCTGGAACGCTGTTTTCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCAT
CATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGTGGCATAAATCCGTCAGCCAG

```

TTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAA
ACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATAACAAGCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCG
ACATTATCGCGAGCCCATTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCG
GCCTCGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATTTTTTTTCTCCTTTACCAATGCTTAATC
AGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCC
GTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGCGCTGCGATGAT
ACCGCGAGAACCACGCTCACCGGCTCCGGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGA
AGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTG
TTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTTCGCAACGTTGTTGCCAT
CGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTTCAGCTCCGGTT
CCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCACGTTGTCAGAAGTAAGT
TGGCCGCGAGTGTTCATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGC
CATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGT
GTATGCGGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACA
TAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAG
GATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTTCGATGTAACCCACTCGTGACCCCACTGATCTTC
AGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCG
CAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATATTCTTCTTTTCAATA
TTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAG
AAAAATAACAAATAGGGGTGAGTGTACAAACCAATTAACCAATTCTGAACATTATCGCG
AGCCCATTTATACCTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTTTGCCTGGCGGCAGTAGCG
CGGTGGTCCCACCTGACCCCATGCCGAACCTCAGAAGTGAAACGCCGTAGCGCCGATGG
TAGTGTGGGGACTCCCCATGCGAGAGTAGGGAACCTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAG
GCTCAGTCGAAAGACTGGGCCTTTCGCCCCGGGCTAATTGAGGGGTGTCGCCCTTATTTCG
ACTCGGGGCTCGAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAGCCCG
GGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGG
GAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTTAATTAAA

```

(SEQ ID n.º: 23)

Uso de vectores de rAAV que codifican I2S para el tratamiento de la enfermedad

[0123] En el presente documento se describen los métodos para tratar una enfermedad asociada con la deficiencia de la enzima I2S. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los vectores de rAAV descritas en el presente documento son adecuados para tratar un sujeto que

5 tiene una deficiencia de I2S, tal como síndrome de Hunter (MPSII). El método para el tratamiento incluye la administración al sujeto que lo necesita de un vector del virus adenoasociado recombinante (rAAV) según se describe en el presente documento.

[0124] El vector del rAAV descrito en el presente documento se puede usar para tratar cualquier enfermedad asociada con la deficiencia o el trastorno de I2S.

5 **[0125]** En algunas realizaciones, el vector del rAAV permanece episomal después de la administración a un sujeto que lo necesita. En algunas realizaciones, el vector del rAAV no permanece episomal después de la administración a un sujeto que lo necesita. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el vector del rAAV se integra en el genoma del sujeto. Se puede lograr dicha integración, por ejemplo, al usar varias tecnologías de edición génica, tal como nucleasas con dedos de zinc (ZFN), nucleasa efectora tipo activadora de la transcripción (TALENs), edición genómica de ARCUS y/o sistemas CRISPR-Cas.

10 **[0126]** En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende un vector del rAAV descrito en el presente documento se usa para tratar a sujetos que lo necesitan. La composición farmacéutica que contiene un vector del rAAV o partícula de la invención contiene un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados son bien conocidos en la técnica e incluyen soluciones salinas amortiguadas de fosfato, agua, emulsiones, tal como aceite/emulsiones de agua, varios tipos de humectantes, soluciones estériles y similares. Dichos portadores se pueden formular mediante los métodos convencionales y se administran al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz.

15 **[0127]** El vector del rAAV se administra a un sujeto que lo necesita a través de una vía adecuada. En realizaciones, el vector del rAAV se administra por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intradérmica. En realizaciones, el vector del rAAV se administra por vía intravenosa. En realizaciones, la administración intradérmica comprende la administración mediante el uso de “biolística” o sistema de suministro de partícula de biolística. En algunas realizaciones, el vector del rAAV se administra mediante una nanopartícula lipídica no vírica. Por ejemplo, una composición que comprende el vector del rAAV puede comprender una o más de un diluyente, amortiguador, liposoma, un lípido, un complejo lipídico. En algunas realizaciones, el vector del rAAV está comprendido dentro de una microesfera o una nanopartícula, tal como una nanopartícula lipídica. En algunas realizaciones, los vectores de rAAV y/o el casete de expresión transgénica y/o las secuencias transgénicas optimizadas de *IDS* y/o cualquier composición del casete de expresión génica se administran a través de las partículas químicas no víricas tales como nanopartículas lipídicas, moléculas biológicas no víricas tales como exosomas y/o vesícula extracelular.

30 **[0128]** En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto aproximadamente a las 2 a 6 semanas después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto aproximadamente a las 2 semanas. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto aproximadamente a las 3 semanas. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto aproximadamente a las 4 semanas. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto aproximadamente a las 5 semanas. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto aproximadamente a las 6

semanas. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en los hepatocitos del sujeto aproximadamente de 2 a 6 semanas después de la administración del vector del rAAV.

[0129] En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma del sujeto al menos 3 meses, 6 meses, 12 meses, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años, 6 años, 7 años, 8 años, 9 años o 10 años después de la administración del vector del rAAV. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 3 meses después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 6 meses después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 12 meses después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 2 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 3 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 4 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 5 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 6 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 7 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 8 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 9 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto al menos 10 años después de la administración del vector del rAAV. En algunas realizaciones, el I2S es detectable en el plasma o suero del sujeto para el resto de la vida del sujeto después de la administración del vector del rAAV.

[0130] En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S provoca la producción de I2S activo en la misma medida que se encuentra después de la administración de la proteína purificada de I2S suministrada por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S provoca la producción de una cantidad mayor de I2S activo en comparación con la administración de la proteína purificada de I2S suministrada por vía intravenosa.

[0131] En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S provoca la reducción de glucosaminoglicano (GAG) en el sujeto. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto aproximadamente en un 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, o aproximadamente 10% en comparación con la concentración inicial de GAG del sujeto antes de la administración del rAAV que comprende I2S. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el rAAV administrado que

comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 95%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 90%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 85%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 80%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 75%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 70%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 65%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 60%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 55%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 50%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 45%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 40%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 35%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 30%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 25%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 20%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 15%. En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto en aproximadamente un 10%.

[0132] En algunas realizaciones, el rAAV administrado que comprende I2S reduce el GAG en el sujeto durante al menos aproximadamente 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 12 meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años, o más de 5 años.

[0133] En algunas realizaciones, después de la administración del vector de AAV al sujeto, las concentraciones de I2S funcional detectable en la circulación son entre aproximadamente 2 y 10 veces mayor que la cantidad de I2S funcional detectable en el sujeto antes de la administración del rAAV que comprende I2S.

[0134] En algunas realizaciones, después de la administración del vector de AAV al sujeto, las concentraciones de I2S activo detectable satisface la concentración terapéutica humana o la excede. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración del vector del rAAV es aproximadamente entre 2 y 35 veces la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 2 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de

aproximadamente 3 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 4 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 5 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 6 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 6 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 7 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 8 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 9 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 10 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 15 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 20 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 25 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 30 veces de la concentración terapéutica humana. En algunas realizaciones, la concentración del I2S activo después de la administración es de aproximadamente 35 veces de la concentración terapéutica humana.

25 **[0135]** Por lo tanto, la administración del vector del rAAV que comprende el I2S provoca una expresión sólida sostenida en comparación con la administración única del I2S purificado a un sujeto que lo necesita.

[0136] En algunas realizaciones, el vector del I2S del rAAV se suministra como una dosis única por sujeto. En algunas realizaciones, se suministra al sujeto la dosis eficaz mínima (MED). Como se usa en el presente documento, MED se refiere a la dosis del vector del I2S del rAAV requerida para lograr la actividad de I2S que provoca la concentración reducida de GAG en un sujeto.

30 **[0137]** El título del vector se determina basándose en el contenido del DNA de la preparación del vector. En algunas realizaciones, la PCR cuantitativa o PCR cuantitativa optimizada se usa para determinar el contenido del DNA de las preparaciones del vector del I2S del rAAV. En una realización, la dosificación es de aproximadamente 1×10^{11} genoma del vector (vg)/kg de peso corporal a aproximadamente 1×10^{13} vg/kg, incluidos los criterios de valoración.

35 **[0138]** En una realización, la dosificación se selecciona en el intervalo de 1×10^9 vg/kg to 3×10^{15} vg/kg (por ejemplo, 1×10^9 vg/kg, 3×10^9 vg/kg, 1×10^{10} vg/kg, 3×10^{10} vg/kg,

1 $\times 10^{11}$ vg/kg, 3 $\times 10^{11}$ vg/kg, 1 $\times 10^{12}$ vg/kg, 3 $\times 10^{12}$ vg/kg, 1 $\times 10^{13}$ vg/kg, 3 $\times 10^{13}$ vg/kg, 1 $\times 10^{14}$ vg/kg, 3 $\times 10^{14}$ vg/kg, 1 $\times 10^{15}$ vg/kg, 3 $\times 10^{15}$ vg/kg). En algunas realizaciones, la dosificación es de 5 $\times 10^{13}$ vg/kg. En otra realización, la dosificación es de 5 $\times 10^{12}$ vg/kg. En realizaciones específicas, la dosis del rAAV administrada al sujeto es de al menos 5 $\times 10^{11}$ vg/kg, 5 1 $\times 10^{12}$ vg/kg, 1,5 $\times 10^{12}$ vg/kg, 2,0 $\times 10^{12}$ vg/kg, 2,5 $\times 10^{12}$ vg/kg, 3,0 $\times 10^{12}$ vg/kg, 3,5 $\times 10^{12}$ vg/kg, 4,0 $\times 10^{12}$ vg/kg, 4,5 $\times 10^{12}$ vg/kg, 5,0 $\times 10^{12}$ vg/kg, 5,5 $\times 10^{12}$ vg/kg, 6,0 $\times 10^{12}$ vg/kg, 6,5 $\times 10^{12}$ vg/kg, 7,0 $\times 10^{12}$ vg/kg o 7,5 $\times 10^{12}$ vg/kg.

[0139] En algunas realizaciones, las composiciones del vector del I2S del rAAV se puede formular en unidades de dosis para contener una cantidad de virus de replicación defectuosa que se encuentra en el intervalo de aproximadamente 1,0 $\times 10^9$ vg a aproximadamente 1,0 $\times 10^{15}$ vg. Como se usa en el presente documento, el término “dosificación” se puede referir a la dosificación total suministrada al sujeto en el ciclo de tratamiento o la cantidad suministrada en una administración única (de varias administraciones).

[0140] En algunas realizaciones, la dosificación es suficiente para disminuir la concentración plasmática de GAG en el paciente en un 25% o más. En algunas realizaciones, el I2S del rAAV se administra en combinación con uno o más de uno de los tratamientos para el síndrome de Hunter.

Producción de los vectores víricos de rAAV

[0141] Los métodos para generar y aislar los vectores víricos de AAV adecuados para el suministro a un sujeto son conocidos en la técnica. Véase, p. ej., Patente de los EE. UU. 7790449; Patente de los EE. UU. 7282199; WO 2003/042397; WO 2005/033321, WO 2006/1 10689; y US 7588772 B2. En un sistema, una estirpe celular productora se transfecta de forma transitoria con un constructo que codifica el transgén flanqueado por las ITR y un constructo que codifica rep y cap. En un segundo sistema, una estirpe celular de empaquetado que suministra de forma estable rep y cap se transfecta de forma transitoria con un constructo que codifica el transgén flanqueado por las ITR. En cada uno de estos sistemas, los viriones de AAV se producen en respuesta a la infección con adenovirus o herpesvirus auxiliares, lo que requiere la separación de los rAAV para que no contamine el virus. Más recientemente, se han desarrollado los sistemas que no requieren la infección con el virus auxiliar para recuperar el AAV (es decir, adenovirus EI, E2a, VA, y E4 o herpesvirus UL5, UL8, UL52, y UL29 y polimerasa de herpesvirus) también se suministran, en trans, por el sistema. En estos sistemas más nuevos, las funciones auxiliares también se pueden suministrar mediante la transfección transitoria de las células con los constructos que codifican las funciones auxiliares requeridas, o las células se pueden diseñar para que contengan, de forma estable, los genes que codifican las funciones auxiliares, cuya expresión se puede controlar en el nivel transcripcional o postranscripcional.

[0142] En algunas realizaciones, el casete de expresión flanqueado por ITR y genes rep/cap se introducen en una célula deseada o estirpe celular mediante la infección con vectores basados en baculovirus.

[0143] En algunas realizaciones, el casete de expresión flanqueado por ITR y genes rep/cap se introducen en células de insectos mediante la infección con vectores basados en baculovirus. Para las revisiones de estos sistemas de producción, véase en general, p. ej., Zhang et al., 2009, "Adenovirus-Adeno-associated virus hybrid for large-scale recombinant Adeno-associated virus production", *Human Gene Therapy* 20:922-929, los contenidos que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. Los métodos para realizar y utilizar estos sistemas de producción y otros sistemas de producción de AAV también se describen en las siguientes patentes de los EE. UU., los contenidos de cada uno que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad: 5, 139,941 ; 5,741,683; 6,057, 152; 6,204,059; 6,268,213; 6,491,907; 6,660,514; 6,951,753; 7,094,604; 7, 172,893; 7,201,898; 7,229,823; y 7,439,065. Véase en general, p. ej., Grieger y Samulski, 2005, "Adeno-associated virus as a gene therapy vector: Vector development, production and clinical applications," *Adv. Biochem. Engin/Biotechnol.* 99: 119-145; Buning et al., 2008, "Recent developments in Adeno-associated virus vector technology," *J. Gene Med* 10:717-733; y las referencias que se mencionan a continuación, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

[0144] Los métodos usados para construir cualquier realización de esta invención son conocidos para los expertos en la manipulación de ácido nucleico e incluyen el diseño genético, el diseño recombinante y las técnicas sintéticas. Véase, p. ej., Green y Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2012). De manera similar, los métodos de generación de viriones de rAAV son bien conocidos y la selección de un método adecuado no es una limitación para la presente invención. Véase, p. ej., K. Fisher et al., (1993) *J. Virol*, 70:520-532 y Patente de los EE. UU. N.º 5,478,745.

[0145] Muchos plásmidos y otros vectores de expresión y clonación que se pueden usar de conformidad con la presente invención son bien conocidos y fácilmente disponibles para los expertos en la técnica. Además, los expertos pueden construir fácilmente cualquier número de otros plásmidos adecuados para usar en la invención. Las propiedades, la construcción y el uso de dichos plásmidos, así como otros vectores, en la presente invención serán fácilmente evidentes para los expertos a partir de la presente divulgación.

[0146] En una realización, el plásmido de producción es el descrito en el presente documento, o según se describe en WO2012/158757, que se incorpora en el presente documento como referencia. Varios plásmidos son conocidos en la técnica para usar en la producción de vectores de rAAV, y son útiles en el presente documento. Los plásmidos de producción se cultivan en las células hospedadoras que expresan las proteínas cap y/o rep del AAV. En las células hospedadoras, cada genoma de rAAV se rescata y empaqueta en la proteína de cápside o proteína de envoltura para formar una partícula vírica infecciosa.

[0147] En determinadas realizaciones, el casete de expresión de rAAV, el vector (tal como vector del rAAV), el virus (tal como rAAV), el plásmido de producción comprende AAV repetición

terminal invertida secuencias, una secuencia del ácido nucleico optimizada por codones que codifica *IDS* y/o *SUMF-1*, y las secuencias de control de la expresión que dirigen la expresión directa de las proteínas codificadas en una célula hospedadora. En otras realizaciones, el casete de expresión de rAAV, el virus, el vector (tal como vector del rAAV), el plásmido de producción comprende, además, uno o más de un intrón, una secuencia de Kozak, un poliA, elementos reguladores postranscripcionales y otros. En una realización, el elemento regulador postranscripcional es el elemento regulador postranscripcional (WPRE) del virus de la hepatitis Woodchuck (WHP).

[0148] Varios métodos son conocidos en la técnica en relación con la producción y purificación de los vectores del AAV. Véase, p. ej., Mizukami, Hiroaki, *et al.* A Protocol for AAV vector production and purification; Publicación de la Patente de EE. UU. N.º US20070015238 y US20120322861. Por ejemplo, un plásmido que comprende un gen de interés se puede combinar con uno o más plásmidos auxiliares, p. ej., que contienen un gen rep (p. ej., que codifica Rep78, Rep68, Rep52 y Rep40) y un gen cap (que codifica VP1, VP2, y VP3, incluida una región VP2 modificada como se describe en el presente documento), y transfeccionar en células recombinantes de forma tal que el rAAV se pueda empaquetar y purificar posteriormente.

[0149] En algunas realizaciones, el empaquetado se realiza en una célula cooperadora o célula productora, tal como una célula de mamíferos o una célula de insectos. Las células de mamíferos ejemplares incluyen, a mero título enunciativo, células HEK293, células COS, células HeLa, células BHK, o células CHO (véase, p. ej., ATCC® CRL-1573™, ATCC® CRL-1651™, ATCC® CRL-1650™, ATCC® CCL-2, ATCC® CCL-10™, o ATCC® CCL-61™). Las células de insectos ejemplares incluyen, a mero título enunciativo, las células Sf9 (véase, p. ej., ATCC® CRL-1711™). La célula cooperadora puede comprender genes rep y/o cap que codifican la proteína Rep y/o proteínas Cap para usar en un método descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el empaquetado se realiza *in vitro*.

[0150] En algunas realizaciones, un plásmido que comprende el gen de interés se combina con uno o más plásmidos auxiliares, p. ej., que contienen un gen rep de un primer serotipo y un gen cap del mismo serotipo o un serotipo diferente, y transfecciona en las células cooperadoras de forma tal que se empaqueta el rAAV.

[0151] En algunas realizaciones, uno o más plásmidos auxiliares incluyen un primer plásmido auxiliar que comprende un gen rep y un gen cap, y un segundo plásmido auxiliar que comprende uno o más de uno de los siguientes genes auxiliares: gen Ela, gen Elb, gen E4, gen E2a, y gen VA. Para aclarar, los genes auxiliares son genes que codifican las proteínas auxiliares Ela, Elb, E4, E2a y VA. En algunas realizaciones, el gen cap se modifica de forma tal que una o más de una de las proteínas VP1, VP2 y VP3 no se expresan. En algunas realizaciones, el gen cap se modifica de forma tal que VP2 no se expresa. Los métodos para realizar dichas modificaciones son conocidos en la técnica (Lux *et al.* (2005), *J Virology*, 79: 11776-87).

[0152] Los plásmido auxiliares y los métodos para crear dichos plásmidos, se conocen, generalmente, en la técnica y en general están disponibles comercialmente (véase, p. ej., pDF6, pRep, pDM, pDG, pDPIrs, pDP2rs, pDP3rs, pDP4rs, pDP5rs, pDP6rs, pDG(R484E/R585E), y pDP8.ape plásmidos de PlasmidFactory, Bielefeld, Germany; otros productos y servicios disponibles de Vector Biolabs, Philadelphia, PA; Cellbiolabs, San Diego, CA; Agilent Technologies, Santa Clara, Ca; y Addgene, Cambridge, MA; pxx6; Grimm *et al.* (1998), Novel Tools for Production and Purification of Recombinant Adeno associated Virus Vectors, *Human Gene Therapy*, Vol. 9, 2745-2760; Kem, A. *et al.* (2003), Identification of a Heparin-Binding Motif on Adeno- Associated Virus Type 2 Capsids, *Journal of Virology*, Vol. 77, 11072-11081.; Grimm *et al.* (2003), Helper Virus-Free, Optically Controllable, and Two-Plasmid-Based Production of Adeno-associated Virus Vectors of Serotypes 1 to 6, *Molecular Therapy*, Vol. 7, 839-850; Kronenberg *et al.* (2005).

EJEMPLOS

[0153] Otras características, objetos y ventajas de la presente invención son evidentes en los ejemplos a continuación. Sin embargo, se debe comprender que los ejemplos, aunque señalizan realizaciones de la presente invención, se proporcionan solamente a modo de ilustración, no limitación. Varios cambios y modificaciones dentro del alcance de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de los ejemplos.

Ejemplo 1. Diseño del vector

[0154] Los métodos y diseños ejemplares de generación de los constructos de la expresión del rAAV (vectores de rAAV) que comprende la codificación de secuencias de iduronato 2-sulfatase (IDS o I2S) humana y variaciones de estas se proporcionan en este Ejemplo. En este estudio, se usó el vector de AAV recombinante (rAAV8). El diseño básico de un vector del rAAV comprende un casete de expresión flanqueado por repeticiones terminales invertidas (ITR): un ITR 5' y un ITR 3'. Estas ITR median la replicación y el empaquetado del genoma del vector mediante la proteína Rep de replicación del AAV y los factores asociados en las células productoras del vector. En general, un casete de expresión contiene un promotor, una secuencia de codificación, una cola de poliA y/o una etiqueta, como se muestra en la Figura 1A. Se diseñó un constructo de expresión que codifica la IDS humana (hIDS) y se preparó usando técnicas estándares de biología molecular. La secuencia de codificación para la hIDS se insertó gen abajo de un promotor, hTTR (promotor de transtiretina humana). De manera adicional, el módulo regulador cisactuante específico del hígado (CRM) se insertó gen arriba del promotor, y una secuencia del intrón de virus diminuto de ratón (MVM) se insertó gen abajo del promotor. Se evaluó esta combinación reguladora y promotor para una concentración alta de transducción, como se muestra en los ejemplos a continuación. Además, la secuencia de WPRE se insertó gen abajo de la región de codificación. Sin querer estar ligados por teoría, este elemento crea una estructura terciaria que aumenta la estabilidad de mRNA. Se han descrito otros mecanismos de función para WPRE incluido, por ejemplo, la mejora de la terminación de transcripto y facilitación de la

exportación nuclear de mRNA. La Figura 1B muestra representaciones esquemáticas de los constructos de expresión descritos arriba. Luego, el constructo de expresión se clonó en una cadena principal del plásmido del AAV y se confirmó mediante la secuenciación. Se empaquetaron los vectores en partículas víricas y se almacenaron.

[0155] Se puede realizar cualquier número de variaciones del esquema anterior. Se pueden obtener constructos alternativos al reemplazar la secuencia de WPRE con una secuencia de codificación de SUMF1 (factor que modifica la sulfatasa 1) precedido por un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES), como se muestra en la Figura 2. Según los datos publicados (Fraldi A *et al.* 2007. Biochem J. 403:305-312), la presencia de SUMF1 aumenta las actividades de I2S cuando se evalúan en ensayos *in vitro* basados en células. Los datos *in vivo* adicionales publicados en el mismo estudio demostraron una mejora más significativa de la actividad de sulfamidasa (SGSH) en la presencia de SUMF1. Siempre que SUMF1 se requiera para activar el residuo catalítico de formil glicina de su sustrato, incluido IDS, en el retículo endoplásmico, coexpresión de IDS y SUMF1 del mismo vector puede garantizar que hay un aumento en la cantidad de SUMF1 para procesar la cantidad aumentada de IDS en un nivel celular, por lo tanto, aumenta la probabilidad de que el IDS se procese antes del tráfico al lisosoma, o al salir las células para que se trasladen a otras células para la actualización.

Optimización por codones

[0156] De forma adicional, las secuencias de codificación para IDS o SUMF1 se optimizaron por codones según varios parámetros, tal como índice de adaptación por codones (CAI), recuento del sitio de CpG, contenido de GC y secuencias base repetitivas. Se prefirió utilizar CAI elevado con mayor frecuencia codones usados y posiblemente aumentar la concentración de expresión del producto a partir del vector. Se redujeron los sitios de CpG, que pueden provocar una respuesta inmunitaria. También se eliminaron las bases repetitivas. Una plataforma de optimización multiobjetivo basada en la web para el diseño del gen sintético llamado COOL (optimización por codones en línea) y la tabla de frecuencia de uso de codones interno se usaron para este fin. Además, se eliminaron manualmente los sitios de posibles cortes. Las características de las secuencias de codificación optimizadas de hIDS y SUMF1 se resumen en la Tabla 4, y el esquema para los constructos representativos de hIDS-WPRE y hIDS-IRES-SUMF1 se muestran en la Figura 1B y la Figura 2, respectivamente. Se puede realizar cualquier número de variaciones del esquema anterior. Por ejemplo, se puede usar más de un promotor y/o una secuencia de IRES se puede introducir gen arriba de la región de codificación. De manera adicional, se pueden contemplar diferentes combinaciones de la región reguladora, promotor e intrón.

Tabla 4: Características ejemplares de las secuencias de codificación optimizadas de hIDS y SUMF1

Secuencia de codificación	CpG	CAI	CG%	Repeticiones
---------------------------	-----	-----	-----	--------------

peso de hIDS	56	0,7645	51,97	896
hIDS COOLopt	24	0,8403	54,14	0
hIDS AUSopt	30	0,8519	54,51	0
SUMF1 WT	49	0,75	55,91	455
SUMF1 COOLopt	7	0,9038	54,04	0
SUMF1 AUSopt	13	0,8572	54,58	0

Ejemplo 2. Expresión de la expresión de hIDS-WPRE impulsada por rAAV *in vivo*

[0157] Este ejemplo ilustra la potencia de los constructos optimizados para la expresión de IDS impulsada por rAAV *in vivo*. Se inyectaron a los ratones el vector de control (rAAV-XL032) (Grupo A); o constructo de muestras de prueba rAAV-XL024 (hIDS wt-WPRE) (Grupo B) o constructo rAAV-XL026 (hIDS-AUSopt-WPRE) (Grupo C), como se representa en la Figura 1A y la Figura 1B. Los ratones de seis semanas de edad recibieron 5×10^9 vg de vectores en un volumen de 200 μ L a través de la vena de la cola, y se recopilaron muestras de suero a los 2 días, 7 días, 21 días, 8 semanas y 12 semanas después de la inyección. Se sacrificaron los ratones a las 12 semanas, y se recolectaron muestras de tejidos. Se usó un grupo de ratones de tipo salvaje de la misma edad y un grupo de ratones IDS-KO de la misma edad sin tratamiento como controles positivo y negativo, respectivamente. El diseño experimental se resume en la Tabla 5, a continuación.

Tabla 5. Estudio *in vivo* ejemplar que usa vectores de rAAV que codifica hIDS

Grupo	Condición	Tratamiento	Volumen	Dosis	N/grupo
A	Vector de control	rAAV-XL032 (hIDS wt-WPRE)	200 μ L	5×10^9 vg	8
B	Prueba	rAAV-XL024 (hIDS wt-WPRE)	200 μ L	5×10^9 vg	8
C	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 μ L	5×10^9 vg	8
D	Control Positivo	WT; No inyectado	-	-	6
E	Control negativo	IDS-KO; No inyectado	-	-	6
F	Control Positivo	Enzima IDS (Intratecal a ratones KO)	10 μ L	250 μ g/dosis	5

15

[0158] Se determinó la cantidad de expresión mediada por el vector mediante ELISA usando el anticuerpo B85. Los resultados se muestran en la Figura 3. Se inyectaron a los ratones vectores de rAAV de los constructos optimizados, rAAV-XL024 (Grupo B) y rAAV-XL026 (Grupo C) mostraron una concentración de hIDS más elevada en suero en comparación con los ratones a los que se les inyectó el vector de control, rAAV-XL032 (Grupo A) que es un vector que codifica una hIDS optimizada por codones por un algoritmo diferente que no reduce los sitios de CpG y

20

una versión acortada de la secuencia de WPRE de tipo salvaje. Para todos los grupos a los que se inyectaron vectores (Grupos A-C), la concentración de hIDS aumentó hasta el día 21, y la concentración de hIDS se mantuvo hasta 12 semanas (84 días) después de una sola inyección. No se detectó hIDS para todos los grupos de WT y IDS-KO ya que no expresan IDS humana.

5 **[0159]** Se obtuvieron resultados similares cuando la concentración de la actividad de hIDS se evaluó como se muestra en la Figura 4A. Para todos los grupos a los que se inyectaron vectores (Grupos A-C), las concentraciones de actividad aumentan hasta el día 21. De manera similar a los resultados de expresión, la actividad de hIDS en los grupos a los que se inyectaron vectores de rAAV de constructos optimizados (Grupo B y Grupo C) fue superior que en el grupo de ratones con el vector de control rAAV-XL032 (Grupo A). La concentración de la actividad de hIDS del grupo de ratones WT fue relativamente estable durante el período del estudio. El vector del rAAV usado en este ejemplo fue rAAV8.

[0160] En tejidos, hI2S se midió usando ELISA como se muestra en la Figura 4B. Para rAAV-XL024 (Grupo B), hI2S fue detectable en el hígado y riñón, pero no en el cerebro. No se analizaron corazón y bazo para este grupo. Para rAAV-XL026 (Grupo C), hI2S fue detectable en el hígado, riñón, corazón, bazo y cerebro. Para rAAV-XL032 (Grupo A), hI2S fue detectable en el hígado, riñón y cerebro. No se analizaron corazón y bazo para este grupo.

[0161] En tejidos, hI2S se midió usando la actividad como se muestra en la Figura 4C. Para rAAV-XL024 (Grupo B), la actividad de hI2S fue detectable en el hígado, riñón y cerebro. No se analizaron corazón y bazo para este grupo. Para rAAV-XL026 (Grupo C), hI2S fue detectable en el hígado, riñón, corazón, bazo y cerebro. Para rAAV-XL032 (Grupo A), hI2S fue detectable en el hígado, riñón y cerebro. No se analizaron corazón y bazo para este grupo. Las concentraciones de la actividad enzimática se compararon con el grupo WT como se muestra en la Figura 4D. En suero y tejidos somáticos, todos los grupos dosificados con el vector contuvieron las concentraciones de actividad superior que el WT. En el cerebro, las concentraciones de rAAV-XL026 y rAAV-XL032 fueron menos que WT.

Ejemplo 3. Depuración de GAG mediante la terapia génica con constructos de hIDS-WPRE

[0162] La enzima iduronato-2-sulfatasa (IDS) elimina el grupo de sulfato de dermatán y heparán sulfatos de glucosaminoglicanos (GAG), y su ausencia o inactividad provoca mucopolisacaridosis tipo II (MPSII), o síndrome de Hunter, un trastorno de almacenamiento lisosómico. Por lo tanto, se midió la depuración de GAG para evaluar la potencia de hIDS expresada por los constructos de rAAV optimizados. Se extrajeron tejidos de cerebro, hígado y riñón de los grupos de ratones que se muestran en la Tabla 5 en la semana 12, y se midió la concentración de GAG en cada tejido.

35 **[0163]** Como se muestra en la Figura 5A, en el cerebro la concentración de GAG se redujo levemente para rAAV-XL026 (Grupo C) y rAAV-XL032 (Grupo A) en comparación con los ratones IDS-KO sin tratar. Como se muestra en la Figura 5B y la Figura 5C, la concentración de GAG se redujo de manera significativa en el hígado y riñón cuando se inyectaron vectores de rAAV que

codifica hIDS a los ratones. La concentración de GAG fue similar a la concentración de GAG que se encontró en ratones WT sin tratar.

Ejemplo 4. Reducción en sulfato de heparina (HS) y dermatán sulfato (DS) mediante la terapia génica con los constructos de hIDS-WPRE

5 [0164] Este ejemplo muestra la reducción en las concentraciones de heparán sulfato y dermatán sulfato mediante la expresión de hIDS en ratones. La enzima iduronato-2-sulfatasa (IDS) elimina el grupo de sulfato de dermatán y heparán sulfatos de glucosaminoglicanos (GAGs), y su ausencia o inactividad provoca la acumulación de GAG que provoca mucopolisacaridosis tipo II (MPSII), o síndrome de Hunter, un trastorno de almacenamiento lisosómico.

10 [0165] Para evaluar la potencia de hIDS expresada por los constructos de rAAV optimizados, se midió la depuración de GAG.

[0166] Se midieron los glucosaminoglicanos (GAGs) usando un ensayo de cromatografía de líquidos - espectrometría de masas (LC/MS) que pueden detectar heparán sulfato (HS) y dermatán sulfato (DS) en los tejidos de hígado, riñón, corazón, bazo y cerebro extraídos a la semana 12 de los grupos de ratones que se muestra en la Tabla 5. Los resultados se muestran en la Figura 6A-B.

[0167] Para rAAV-XL024 (Grupo B), se redujeron GAG de HS y DS en comparación con KO sin tratar (Grupo E) en el hígado y riñón, y, en menor medida, en el cerebro. No se analizaron corazón y bazo para este grupo. Para rAAV-XL026 (Grupo C), se redujeron GAG de HS y DS en comparación con KO sin tratar (Grupo E) en el hígado, riñón, corazón, bazo, y, en menor medida, en el cerebro. Para rAAV-XL032 (Grupo A), se redujeron GAG de HS y DS en comparación con KO sin tratar (Grupo E) en el hígado y riñón, y, en menor medida, en el cerebro.

[0168] Las concentraciones de GAG de HS y DS se normalizaron a IKO sin tratar = reducción del 0% y WT = reducción del 100% como se muestra en la Figura 6B.

25 [0169] En general, todos los grupos que recibieron dosis del vector mostraron una reducción en % de GAG de HS y DS en tejidos somáticos y reducción en % de GAG en el cerebro GAG de HS y DS. Los resultados mostraron que la expresión de I2S provocó una reducción de la concentración de GAG tejido de ratones.

30 ***Ejemplo 5. Reducción en el compartimento de almacenamiento lisosómico mediante la terapia génica con constructos de hIDS-WPRE en ratones***

[0170] Este ejemplo muestra una reducción en el compartimento de almacenamiento lisosómico según lo detectado por la tinción de LAMP1 en el tratamiento de reemplazo de enzimas con los constructos de hIDS-WPRE en ratones, por ejemplo, en el tratamiento de mucopolisacaridosis (MPSII).

35 [0171] Brevemente, la tinción de LAMP1 se usó para medir el compartimento de almacenamiento lisosómico en ratones. Se tiñeron varios tejidos tales como hígado y cerebro hipocampo, tálamo, cuerpo calloso, corteza, cerebelo y estrato. En este ejemplo, a un grupo de control de ratones se administró una enzima I2S por vía intratecal (IT) cinco veces durante el

período experimental, el día 0, día 7, día 14, día 21 y día 28 (Grupo F en la Tabla 5). Una reducción de la tinción de LAMP1 indica reducción del sustrato, una mejora en la patología de los ratones KO.

[0172] Los resultados se muestran en la Figura 7A y la Figura 7B. Se observó una reducción significativa en LAMP1 en los tejidos del hígado de los ratones a los que se inyectó vectores como se observa en la Figura 7A. El efecto en el hígado fue comparable con los ratones WT, y grupo de ratones tratados con ERT.

[0173] El cerebro se muestra en la Figura 7B. En comparación con los KO sin tratar (Grupo E), las reducciones en la positividad de la tinción de LAMP1 alcanzó significancia estadística en el hipocampo con rAAV-XL026, cuerpo calloso con rAAV-XL024 y rAAV-XL026, y tálamo con rAAV-XL024 y rAAV-XL026.

[0174] En general, los resultados mostraron que, en los tejidos del hígado y cerebro de los ratones, la administración de IDS provocó compartimento reducido de almacenamiento lisosómico según lo medido por tinción de LAMP1.

Ejemplo 6. Expresión de la expresión de hIDS-IRES-SUMF1 impulsada por rAAV *in vivo*

[0175] Este ejemplo compara la expresión y actividad *in vivo* de hIDS de la administración de los vectores hIDS-IRES-SUMF1 en relación con los vectores hIDS-WPRE en ratones.

[0176] Se requiere SUMF1 para activar el residuo catalítico de FGly de IDS, entonces se realizó una comparación usando los vectores que expresaron hIDS y SUMF1 en relación con los vectores que expresaron hIDS-WPRE.

[0177] Se inyectaron a los ratones vectores de rAAV que expresan el constructo hIDS AUSopt-WPRE (rAAV-XL026; Grupo C), constructos hIDS-IRES-SUMF1 (rAAV-XL027; Grupo G, y XL029; Grupo H), o constructo SUMF1 (rAAV-XL030; Grupo I) como un control negativo. El esquema para estos constructos se representa en la Figura 1B y la Figura 2.

[0178] Los ratones de seis semanas de edad recibieron 5×10^9 vg de vectores en un volumen de 200 μ L a través de la vena de la cola, y se recopilaron muestras de suero a los 2 días, 7 días y 21 días después de la inyección. Se usó un grupo de ratones de tipo salvaje de la misma edad como controles positivos y negativos, respectivamente. El estudio *in vivo* ejemplar se resume en la Tabla 6.

Tabla 6. Estudio *in vivo* ejemplar usando vectores de rAAV que codifican hIDS y SUMF1 en relación con hIDS y WPRE

Grupo	Condición	Tratamiento	Volumen	Dosis
C	Control	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 μ L	5×10^9 vg
D	Control Positivo	WT; No inyectado	-	-
G	Prueba	rAAV-XL027	200 μ L	200 μ L

		(hIDS wt-IRES-SUMF1 wt)		
H	Prueba	rAAV-XL029 (hIDS AUSopt-IRES-SUMF1AUSopt)	200 µL	200 µL
I	Control negativo	rAAV-XL030 (SUMF1 wt)	200 µL	200 µL

[0179] Las concentraciones de la expresión de IDS en suero se cuantificó mediante ELISA. Los resultados se muestran en la Figura 8. Inesperadamente, a los ratones que se inyectó rAAV-XL027 y rAAV-XL029 que expresan hIDS y SUMF1 mostraron una concentración más baja de hIDS en suero el día 21 en comparación con ratones a los que se inyectó el vector rAAV-XL026 (Grupo C), que expresa solamente hIDS.

[0180] Se obtuvieron resultados similares cuando la concentración de la actividad de hIDS se evaluó como se muestra en la Figura 9. Para todos los grupos a los que se inyectó vectores que expresan hIDS y SUMF1 (Grupos G-H), la concentración de la actividad fue menor que el grupo a los que se inyectó el vector que expresa hIDS-WPRE (Grupo C). Sin limitarse a ninguna teoría particular, se considera que el elemento WPRE en el vector rAAV-XL026 crea una estructura terciaria que aumenta la estabilidad de mRNA y, posteriormente, rinde una expresión de proteína más elevada y, por lo tanto, aumenta la actividad. Se han descrito otros mecanismos de función para WPRE incluido, por ejemplo, la mejora de la terminación de transcripto y facilitación de la exportación nuclear de mRNA. SUMF1, por otro lado, crea más formas activas de hIDS, pero la cantidad de hIDS expresada con el elemento WPRE es significativamente mayor. El vector del rAAV usado en este ejemplo es rAAV8.

[0181] Los resultados mostraron que las concentraciones y actividad de la enzima IDS fueron superiores en la expresión de vectores hIDS-WPRE en relación con los vectores hIDS-IRES-SUMF1.

Ejemplo 7. Expresión a largo plazo de hIDS-WPRE impulsado por rAAV en suero y tejido *in vivo* en ratones

[0182] Este ejemplo compara la expresión y actividad *in vivo* de hIDS en ratones a los que se les administró una de tres dosis de hIDS-WPRE. Las concentraciones y actividad de la expresión se evaluaron en aproximadamente 12 a 13 meses en suero y tejidos.

[0183] Se inyectaron a los ratones vectores de rAAV que expresan el constructo hIDS AUSopt-WPRE (rAAV-XL026) en dosis de 5×10^9 vg (Grupo D), $2,5 \times 10^{10}$ vg (Grupo E), $1,25 \times 10^{11}$ vg (Grupo F), constructo del vector nulo rAAV-MY011 en una dosis de $1,25 \times 10^{11}$ vg (Grupo G) como un control negativo. El esquema para estos constructos se representa en la Figura 1B y la Figura 2.

[0184] Los ratones de cinco a siete semanas de edad recibieron los vectores en un volumen de 200 µL a través de la vena de la cola, y se recolectaron las muestras de suero los días 7, 14, 28, 56, 84, 112, 140, 168, 196, 224, 252, 280, 308, 336 y 364 después de la inyección. Se usó un

grupo de ratones de tipo salvaje de la misma edad y un grupo de ratones *IDS-KO* de la misma edad sin tratamiento como controles positivo y negativo, respectivamente. Un estudio *in vivo* ejemplar se resume en la Tabla 7.

Tabla 7. Estudio *in vivo* ejemplar que usa vectores de rAAV y monitoreado durante 12 meses

Grupo	Condición	Tratamiento	Volumen	Dosis	N/grupo
D	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 µL	5x 10 ⁹ vg	12
E	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 µL	2,5x 10 ¹⁰ vg	12
F	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 µL	1,25x 10 ¹¹ vg	12
G	Control negativo	rAAV-MY011 (vector nulo)	200 µL	1,25x 10 ¹¹ vg	11
H	Control negativo	IDS-KO; No inyectado	-	-	9
I	Control Positivo	WT; No inyectado	-	-	6

[0185] Concentraciones y actividad de hI2S en suero: Las concentraciones de la expresión de suero hI2S se determinaron mediante ELISA. Los resultados se muestran en la Figura 10. Las concentraciones de hI2S aumentaron con el aumento de la dosis del vector rAAV-XL026 (Grupos D, E, F), y hI2S permaneció detectable hasta el momento final de 364 días después de la inyección. El vector del rAAV usado en este ejemplo es rAAV8.

[0186] Se obtuvieron resultados similares cuando la concentración de la actividad de hI2S se evaluó como se muestra en la Figura 11. Las concentraciones de la actividad de hI2S aumentaron con el aumento de la dosis del vector rAAV-XL026 (Grupos D, E, F), y la actividad de hI2S permaneció detectable hasta el momento final de 364 días después de la inyección.

[0187] Concentraciones y actividad de hI2S en tejido: En tejidos, hI2S se midió usando ELISA como se muestra en la Figura 12A. Para rAAV-XL026 (Grupo D, E, F), hI2S fue detectable en el hígado, bazo, riñón, corazón, pulmón, y cerebro y aumentó con el aumento de las dosis.

[0188] En tejidos, la actividad de hI2S se midió como se muestra en la Figura 12B. rAAV-XL026 (Grupo D, E, F), la actividad de hI2S fue detectable en el hígado, bazo, riñón, corazón, pulmón, y cerebro y aumentó con el aumento de las dosis.

[0189] Se midieron los glucosaminoglicanos (GAG) usando un ensayo de cromatografía de líquidos - espectrometría de masas (LC/MS) que pueden detectar heparán sulfato (HS) y dermatán sulfato (DS) en los tejidos de hígado, riñón, corazón, bazo, pulmón y cerebro extraídos en el día 364 de los grupos de ratones que se muestra en la Tabla 7. Los resultados se muestran en la Figura 12C.

[0190] En los tejidos somáticos, rAAV-XL026 en todas las dosis (Grupo D, E, F) redujeron en gran medida las concentraciones de GAG de HS y DS. Las concentraciones de GAG de HS y

DS se normalizaron a IKO sin tratar = reducción del 0% y WT = reducción del 100% como se muestra en la Figura 12D. Las tres dosis de rAAV-XL026 (Grupo D, E, F) mostraron 100% de reducciones en GAG de HS y DS en tejidos somáticos. En HS del cerebro, se disminuyeron GAG en un 17% para rAAV-XL026 Grupo D, 38% for rAAV-XL026 Grupo E, y 50% para rAAV-XL026 Grupo F.

[0191] Varios tejidos tal como hígado e hipocampo, tálamo, materia blanca, corteza, cerebelo y estrato del cerebro se tiñeron para LAMP1. El cerebro se muestra en la Figura 12E. En comparación con KO sin tratar (Grupo H), las reducciones en la positividad de la tinción de LAMP1 alcanzó significancia estadística en el hipocampo con rAAV-XL026 Grupo D, Grupo E, y Grupo F, en el estrato con rAAV-XL026 Grupo E y Grupo F, en la materia blanca con rAAV-XL026 Grupo E y Grupo F, en el tálamo con rAAV-XL026 Grupo E y Grupo F, en la corteza con rAAV-XL026 Grupo E y Grupo F, y en el cerebelo con rAAV-XL026 Grupo E y Grupo F.

[0192] Volumen del hueso: Se investigó la estructura corporal usando una tomografía microcomputada (micro-CT). El volumen óseo se midió a lo largo del tiempo en ratones de 7, 9, 11, y 13 meses usando micro-CT como se muestra en la Figura 13A y la Figura 13B.

[0193] En la Figura 13A y la Figura 13B, la línea A corresponde a rAAV-XL026 Grupo D, la línea B a rAAV-XL026 Grupo E, la línea C a rAAV-XL026 Grupo F, la línea D a rAAV-MY011 Grupo G control negativo, la línea E a IDS-KO sin tratar Grupo H control negativo, y la línea F al Grupo I de tipo salvaje sin tratar control positivo.

[0194] En el húmero (Figura 13A), las mediciones de volúmenes óseos para rAAV-XL026 Grupo D, Grupo E, y Grupo F superposición con el Grupo I de tipo salvaje control positivo y volúmenes para estos grupos son menores que rAAV-MY011 Grupo G y IDS-KO Grupo H sin tratar de controles negativos.

[0195] En el arco cigomático del cráneo (Figura 13B) a los 13 meses, mediciones de volúmenes óseos para rAAV-XL026 Grupo D, Grupo E, y Grupo F superposición con el Grupo I de tipo salvaje control positivo y volúmenes para estos grupos son menores que rAAV-MY011 Grupo G y IDS-KO Grupo H sin tratar de controles negativos.

[0196] Estos resultados mostraron un volumen óseo más bajo en el húmero y hueso del arco cigomático en la expresión de I2S, que se mantuvo durante 13 meses.

[0197] En general, los resultados mostraron que las concentraciones de la expresión y actividad de I2S en suero y tejido y efectos resultantes en el volumen óseo se mantuvieron durante aproximadamente 12 a 13 meses.

Ejemplo 8. Monitoreo de la expresión hIDS-WPRE impulsada por rAAV in vivo durante 3 meses después de la administración de dosis baja en ratones

[0198] Este ejemplo muestra la expresión y actividad *in vivo* de hI2S en ratones a los que se les administró hI2S durante 3 meses en una dosis de entre 5×10^6 - 5×10^9 vg.

[0199] Se inyectaron a los ratones vectores de rAAV que expresan el constructo hIDS AUSopt-WPRE (rAAV-XL026) en dosis de 5×10^6 vg (Grupo C), 5×10^7 vg (Grupo D), 5×10^8 vg (Grupo

E), 5×10^9 vg (Grupo F), constructo del vector nulo rAAV-MY011 en una dosis de 5×10^9 vg (Grupo B) como un control negativo.

[0200] A ratones de cinco a siete semanas de edad se les administró 200 μ L del vector a través de la vena de la cola, y se recolectaron muestras del suero los días 14, 28, 56, y 84 después de la inyección. Se usó un grupo de ratones de tipo salvaje de la misma edad y un grupo de ratones *IDS*-KO de la misma edad sin tratamiento como controles positivo y negativo, respectivamente. El estudio *in vivo* ejemplar se resume en la Tabla 8.

[0201] Tabla 8. Estudio *in vivo* ejemplar que usa vectores de rAAV y monitoreado durante 3 meses

Grupo	Condición	Tratamiento	Volumen	Dosis	N/grupo
A	Control negativo	IDS-KO; No inyectado	-	-	8
B	Control negativo	rAAV-MY011 (vector nulo)	200 μ L	$2,5 \times 10^9$ vg	8
C	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 μ L	5×10^6 vg	8
D	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 μ L	5×10^7 vg	8
E	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 μ L	5×10^8 vg	8
F	Prueba	rAAV-XL026 (hIDS AUSopt-WPRE)	200 μ L	5×10^9 vg	8
G	Control Positivo	WT; No inyectado	-	-	5

[0202] Concentraciones y actividad de IDS en suero: Las concentraciones de expresión de hIDS en suero de los ratones a los que se les administraron dosis bajas del vector hIDS-WPRE se determinó mediante ELISA, y se muestra en la Figura 14A. Las concentraciones de hIDS disminuyeron con la disminución de las dosis del vector rAAV-XL026 para los Grupos D, E, F, y hIDS fue indetectable para el grupo C. El vector del rAAV usado en este ejemplo es rAAV8.

[0203] Las concentraciones de la actividad de I2S en suero se midieron como en la Figura 14B. Las concentraciones de hI2S disminuyeron con la disminución de las dosis del vector rAAV-XL026 para los Grupos D, E, F, y hI2S fue indetectable para el grupo C.

[0204] En general, a los Grupos D y E a los que se les administraron las dosis 5×10^8 vg y 5×10^9 vg respectivamente, mostraron un aumento en la expresión y actividad de I2S en ratones sin tratar, y se mantuvieron las concentraciones y actividad de I2S durante 84 días o 3 meses.

[0205] Concentraciones y actividad de I2S en tejido: En el hígado, bazo, riñón, corazón, pulmón, médula ósea, cuádriceps, y cerebro, según lo medido por ELISA, los grupos de KO sin tratar (Grupo A) y WT sin tratar (Grupo J) y rAAV-MY011 control negativo (Grupo B) no contenían la proteína detectable I2S humana (hI2S) (Figura 14C). De 5×10^7 vg a 5×10^9 vg, los Grupos D,

E, y F rAAV-XL026 contenían un aumento de las concentraciones de hI2S en tejidos con aumento de dosis.

[0206] La actividad de I2S se midió en el hígado, bazo, riñón, corazón, pulmón, médula ósea, cuádriceps y cerebro como se muestra en la Figura 14D. El rAAV-MY011 (Grupo B) contenía la actividad de I2S en todos tejidos que fue similar a KO sin tratar (Grupo A). De 5×10^7 vg a 5×10^9 vg, los Grupos D, E, y F rAAV-XL026 contenían un aumento de las concentraciones de la actividad de I2S en tejidos con aumento de dosis. Las concentraciones de la actividad de I2S en cada tejido de los ratones KO que recibieron las dosis se puede comparar con las concentraciones en WT sin tratar como se muestra en la Figura 14E.

[0207] Las concentraciones y actividad de I2S en tejido se aumentaron de manera dependiente de la dosis en ratones a los que se les administró dosis bajas del vector del rAAV que comprende hI2S-WPRE.

[0208] Concentraciones de GAG en tejido: Se midieron los glucosaminoglicanos (GAGs) usando un ensayo de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (LC/MS) que pueden detectar heparán sulfato (HS) y dermatán sulfato (DS) en los tejidos de hígado, bazo, riñón, corazón, pulmón, médula ósea, cuádriceps, piel y cerebro extraídos en el día 84 de los grupos de ratones que se muestra en la Tabla 8. Las concentraciones de GAG de HS y DS se normalizaron a IKO sin tratar = reducción del 0% y WT = reducción del 100% como se muestra en la Tabla 9 y Tabla 10.

[0209] El 5×10^8 vg rAAV-XL026 Grupo E redujo las concentraciones de GAG y HS en un >90% en todos los tejidos somáticos medidos. En el cerebro, el 5×10^8 vg rAAV-XL026 Grupo E redujo las concentraciones de GAG y HS en el cerebro en un 8,8% y 41%, respectivamente. El 5×10^9 vg rAAV-XL026 Grupo F redujo las concentraciones de GAG y HS en un >95% en todos los tejidos somáticos medidos. En el cerebro, el 5×10^9 vg rAAV-XL026 Grupo F redujo las concentraciones de GAG y HS en el cerebro en un 39% y 78%, respectivamente.

[0210] Las concentraciones de GAG y HS se redujeron en tejidos somáticos y cerebro en la administración de 5×10^7 , 5×10^8 o 5×10^9 vg rAAV que comprende IDS-WPRE.

Tabla 9. Reducción de GAG de HS normalizada

Tejido	rAAV-XL026 5×10^7 vg	rAAV-XL026 5×10^8 vg	rAAV-XL026 5×10^9 vg
Hígado	99%	100%	100%
Bazo	79%	98%	100%
Riñón	37%	91%	101%
Corazón	20%	97%	99%
Pulmón	50%	97%	100%
Médula ósea	92%	99%	100%
Cuádriceps	59%	99%	102%

Piel	62%	94%	100%
Cerebro	11%	8,8%	39%

Tabla 10. Reducción de GAG de DS normalizada

Tejido	rAAV-XL026 5 × 10 ⁷ vg	rAAV-XL026 5 × 10 ⁸ vg	rAAV-XL026 5 × 10 ⁹ vg
Hígado	92%	99%	99%
Bazo	66%	95%	100%
Riñón	22%	97%	100%
Corazón	43%	99%	99%
Pulmón	32%	100%	100%
Médula ósea	88%	101%	101%
Cuádriceps	86%	100%	100%
Piel	92%	94%	106%
Cerebro	17%	41%	78%

[0211] Almacenamiento lisosómico: Varios tejidos tal como hígado, bazo, riñón, corazón, y cerebro hipocampo, tálamo, materia blanca, corteza, cerebelo y estrato se tiñeron para LAMP1. Los tejidos somáticos se muestran en la Figura 14F. En los tejidos somáticos incluido hígado, bazo, y corazón, la positividad de tinción de LAMP1 IHC se redujo significativamente en comparación con el control de KO indiferenciado para la dosis de rAAV-XL026 5x 10⁷ vg Grupo D, la dosis de 5x 10⁸ vg Grupo E, y la dosis de 5x 10⁹ vg Grupo F. En el riñón, la positividad de tinción de LAMP1 se redujo significativamente en comparación con el control de KO indiferenciado para la dosis de rAAV-XL026 5x 10⁸ vg Grupo E, y la dosis de 5x 10⁹ vg Grupo F.

[0212] La tinción de LAMP1 IHC en las regiones del cerebro se muestra en la Figura 14G. En el cerebro, la positividad de tinción de LAMP1 se midió en el hipocampo, estrato, tálamo, materia blanca, corteza y cerebelo. En todas estas regiones, la positividad de tinción de LAMP1 para las dosis de rAAV-XL026 Grupos C, D, E, y F no fue diferente de manera significativa del Grupo A de control KO sin tratar.

[0213] Los resultados mostraron que el almacenamiento lisosómico disminuyó en tejidos somáticos en la administración de dosis bajas de *IDS*-WPRES, pero no de manera significativa en el cerebro.

[0214] En general, los resultados mostraron que en la administración de dosis bajas de rAAV que comprende *hIDS*-WPRES en ratones, la expresión y actividad de *I2S* en suero y tejido se mantuvo durante aproximadamente tres meses, y disminuyó el almacenamiento lisosómico en tejidos somáticos según lo determinado por LAMP.

Ejemplo 9. El producto transgénico de las concentraciones de expresión de *hI2S* en suero en primates no humanos (NHP)

[0215] Este ejemplo muestra un estudio ejemplar de PK/distribución en primates no humanos a los que se les administró el producto transgénico hI2S.

[0216] Los primates macho no humanos de entre aproximadamente 1,8 a 2 años de edad recibieron el producto hI2S a través de la infusión intravenosa. Los animales de la cohorte de la dosis baja recibieron una dosis baja de hI2S de $1,25 \times 10^{12}$ vg/kg (n=3) y los animales de la cohorte de la dosis alta recibieron una dosis alta de hI2S de $6,25 \times 10^{12}$ vg/kg (n=6). Los animales de control recibieron solo el amortiguador de la formulación.

[0217] Se recolectaron muestras de suero en varios puntos temporales, comenzando de la dosis previa, antes de la administración del transgén hI2S, seguido del muestreo cada 20 días hasta 240 días. Se sacrificaron tres animales de cada cohorte de dosis baja y la cohorte de dosis alta, respectivamente, a los 3 meses.

[0218] La Figura 15A demuestra que la concentración del producto transgénico hI2S en suero a partir de la cohorte de dosis baja en necropsia en suero de NHP después de la dosis día 1 mes a 3 meses. Se observó la concentración sostenida del producto transgénico hI2S en $1,25 \times 12$ vg/kg (dosis baja).

[0219] Correspondientemente, en la Figura 15B, la actividad enzimática del producto transgénico hI2S en suero mostró concentraciones sostenidas de hasta 3 meses. A los 3 meses, se observaron las concentraciones de actividad enzimática de I2S aproximadamente 5 veces superior en relación con las concentraciones de la actividad de I2S de NHP endógeno medido en animales de control que recibieron solamente el amortiguador de formulación.

[0220] La Figura 15C demuestra las concentraciones del producto transgénico hI2S en suero a partir de las cohortes de dosis alta en tres necropsias de NHP el día 1 a aproximadamente 90 días o 3 meses posterior a la dosis, y el restante de tres animales de dosis altas a partir del día 1 a aproximadamente 240 días u 8 meses posterior a la dosis.

[0221] Los animales individuales mostraron un perfil variable del producto transgénico hI2S y se observó variabilidad en la concentración sérica máxima inicial alcanzada. Se observó una disminución rápida en la concentración sérica del producto transgénico hI2S en los animales a los que se les hizo el seguimiento de necropsia de 3 meses. La actividad enzimática de hI2S en suero mostró un aumento, luego una disminución después del día 21 a una concentración de meseta de aproximadamente 5200 nmol/hr/mL a 7500 nmol/hr/mL (Figura 15D), lo que demuestra una actividad enzimática de hI2S en suero incluso cuando se redujo la concentración del producto transgénico I2S en tres animales a los que se les finalizó la dosis a los 3 meses.

[0222] Los animales donde la concentración del producto transgénico hI2S en suero y la actividad de I2S en suero fue seguida durante aproximadamente 240 días (8 meses) mostraron una variabilidad en su perfil de concentración del producto transgénico hI2S. Dos animales mostraron una disminución en la concentración del producto transgénico I2S a aproximadamente 100 ng/mL o menor en aproximadamente 8 meses. Esto también estuvo asociado con una disminución observada en la actividad enzimática de hI2S a aproximadamente concentraciones

endógenas (amortiguador de la formulación) en aproximadamente 8 meses. Uno de los animales en este estudio mostró una concentración sostenida del producto transgénico hI2S y actividad enzimática hasta en aproximadamente 8 meses.

[0223] En general, los datos demostraron que incluso en la ausencia de inmunosupresores, la expresión sostenida del producto transgénico hI2S se logró en primates no humanos.

Ejemplo 10. Comparación de las concentraciones en suero del producto transgénico hI2S y actividad enzimática de I2S en primates no humanos con dosis altas y bajas en relación con el anticuerpo del producto contra el transgénico (también conocido como ADA anti-hI2S (anticuerpo contra el fármaco)) y titulación de ADA anti-AAV8

[0224] Este ejemplo muestra una comparación entre los datos de ADA anti-hI2S y ADA anti-AAV8 a partir de primates no humanos individuales marcados con la concentración y actividad enzimática del producto transgénico hI2S.

[0225] Los datos de ADA anti-hI2S y ADA anti-AAV8 a partir de animales individuales se marcaron contra la concentración y actividad enzimática del producto transgénico hI2S (Figura 16). Se ilustraron datos de solo hasta 3 meses de ADA en estos gráficos. Se observó una disminución inicial en la concentración de hI2S dentro del primer mes en la ausencia de ADA anti-hI2S en algunos animales (2001, 3002, 4003, 4001 y 4002). La disminución en las concentraciones de hI2S no fue dependiente de la dosis. La disminución inicial de la concentración de producto transgénico hI2S en suero de NHP (dentro del primer mes) varió de animal en animal (10% - 80%).

[0226] La disminución en producto transgénico hI2S en suero después del estado de equilibrio se correlacionó con la presencia de ADA anti-hI2S en la cohorte que recibió una dosis alta de hI2S. El “estado de equilibrio” o “estado restablecido” se refiere un “estado estable” o concentraciones meseta de la enzima I2S o actividad enzimática de I2S. La presencia de ADA anti-AAV8 en algunos animales (3002 y 4001) puede prevenir la redosificación. Ninguno de los animales en la cohorte de dosis baja mostró la presencia de ADA anti-hI2S en suero.

[0227] Los resultados mostraron que la disminución en las concentraciones séricas de I2S se correlacionó con la presencia de ADA anti-hI2S en primates no humanos que recibieron una dosis alta de rAAV-XL026 que comprende hI2S-WPRE.

Ejemplo 11. Perfil individual de la concentración del producto transgénico hI2S en el hígado de primates no humanos

[0228] Este ejemplo muestra el perfil de concentración del producto transgénico hI2S en el hígado de primates no humanos.

[0229] Se llevaron a cabo las biopsias del hígado a partir de los animales con dosis baja (Figura 17A) y dosis alta (Figura 17B) al 1 mes y a los 2 meses y se recopilaron las muestras del hígado terminal a los 3 meses. Los tres animales de la cohorte de dosis alta que tenían prevista la necropsia a los 12 meses se sometieron a una biopsia a los 3 meses y 6 meses.

[0230] Cada biopsia se tomó de los lóbulos izquierdo y derecho. La concentración promedio del producto transgénico hI2S entre los lóbulos izquierdo y derecho en el hígado a partir de la cohorte de dosis baja varió de un promedio de 38,2 ng/mL a 42,5ng/mL entre 1 mes y 3 meses.

5 [0231] La concentración del producto transgénico hI2S en el hígado a partir de la cohorte de dosis alta varió de 175,1 ng/mL a 367,6 ng/mL al 1 mes. Uno de los animales (animal 3001) mostró una gran diferencia entre los lóbulos izquierdo (101,8 ng/mL) y derecho (528,3 ng/mL).

[0232] A los 2 meses, dos animales (animal 3001 y animal 3002) mostraron una disminución rápida de la concentración en el hígado del producto transgénico hI2S de 1 mes a 2 meses. Otros animales mostraron una disminución de 2 meses a 6 meses, incluido el animal 3003, pero en
10 menor medida.

[0233] En general, estos resultados mostraron perfiles individuales de concentración del producto transgénico I2S en tejidos de primates no humanos de 1 a 3 meses después de la administración de rAAV-XL026.

15 ***Ejemplo 12. Perfil comparativo de la concentración del producto transgénico hI2S en tejidos de primates no humanos***

[0234] Este ejemplo muestra un perfil comparativo de la concentración del producto transgénico hI2S en tejidos de primates no humanos

[0235] Se realizó la necropsia del tejido en animales de la cohorte de dosis baja y 3 animales de la cohorte de dosis alta a los 3 meses.

20 [0236] La concentración del producto transgénico hI2S según lo medido por ELISA en homogenato del tejido a partir de varios órganos incluido el riñón, bazo, pulmón, corazón y médula ósea. Aunque la concentración del producto transgénico hI2S en suero de cohorte de dosis alta a los 3 meses mostró una concentración significativamente baja (<250 ng/mL) en la presencia de ADA anti-hI2S cuando se comparó con los de la cohorte de dosis baja
25 (>640 ng/mL), la concentración promedio de hI2S en riñón (Figura 18A) y bazo (Figura 18B) mostró una concentración más alta en la cohorte de dosis alta que en la de la dosis más baja.

[0237] En la presencia de ADA anti-hI2S, los 3 animales de la cohorte de dosis alta mostraron una concentración más baja del producto transgénico hI2S en el pulmón (Figura 18C) y corazón (Figura 18D), mientras que en la médula ósea (Figura 18E), la concentración de hI2S en el tejido
30 fue comparable entre los animales en la cohorte de dosis baja y alta. Ya que los tejidos fueron de NHP sanos, se detectó el I2S endógeno, por ejemplo, en el grupo de amortiguador de la formulación en el pulmón.

[0238] Los resultados mostraron un perfil comparativo de la concentración de I2S en diferentes tejidos de primates no humanos después del tratamiento de rAAV-XL026.

35 ***Ejemplo 13. Exposición comparativa del hI2S en tejido en primates no humanos en relación con los ratones con genes inactivados de IDS***

[0239] Este ejemplo muestra la concentración comparativa de I2S y actividad enzimática en varios tejidos diana entre primates no humanos y ratones KO IDS.

- [0240]** La actividad enzimática de hI2S en tejido y el porcentaje correspondiente de la reducción de GAG de HS de $2,5 \times 10^{11}$ vg/kg y $2,5 \times 10^{10}$ vg/kg en ratones KO *IDS* se muestran en la Tabla 11.
- [0241]** En ratones, se observó una reducción de GAG de HS superior al 95% en una dosis de aproximadamente $2,5 \times 10^{10}$ vg/kg para la mayoría de los tejidos excepto para el riñón, donde se observó una reducción de aproximadamente el 91%. En el corazón y la médula ósea, los datos de la cohorte de dosis baja de primates no humanos mostraron una concentración más elevada en tejido y actividad enzimática del hI2S que aquellos de los ratones KO *IDS* a $2,5 \times 10^{10}$ vg/kg.
- [0242]** En el tejido de pulmón, en ratones KO *IDS*, hubo solamente el 30% de actividad enzimática de I2S en WT, pero esto mostró una reducción de GAG de HS del 97%. En primates no humanos se administró una dosis baja de hI2S, actividad enzimática en el pulmón mostró un % superior de actividad enzimática de hI2S en WT a 40%. Al administrar rAAV-XL026 a través de la infusión IV a $1,25 \times 10^{12}$ vg/kg a NHP, se logró la exposición de la producción del transgén hI2S en el pulmón que provocó una reducción de GAG de HS en un $\geq 95\%$ en un modelo de enfermedad.

Tabla 11. La comparación de la concentración y actividad enzimática de hI2S y reducción de GAG en ratones con gen inactivado y primates no humanos.

	concentración de hI2S en tejidos de NHP en la necropsia de los 3 meses por encima del control del vehículo	concentración de hI2S (a $2,5 \times 10^{10}$ vg/kg) en tejidos de ratones KO en la necropsia de los 3 meses	actividad enzimática de hI2S del tejido de NHP expresado como un % de WT	Actividad enzimática de hI2S en tejido de ratones KO (a $2,5 \times 10^{10}$ vg/kg) expresada como % de WT	Reducción de GAG de HS del tejido de ratones KO (a $2,5 \times 10^{10}$ vg/kg) expresado como % del vehículo KO	Actividad enzimática de hI2S en ratones KO (a $2,5 \times 10^{11}$ vg/kg) expresada como % de WT	Reducción de GAG de HS del tejido de ratones KO (a $2,5 \times 10^{11}$ vg/kg) expresado como % del vehículo KO
Pulmón (bajo)	7,1 ng/mg	2 ng/mg	40%	30%	~97%	270%	100%

Pulmón (alto)	0,9 ng/mg		20%				
Corazón (bajo)	12,5 ng/mg	1,4 ng/mg	232%	210%	~97%	2480%	100%
Corazón (alto)	4,8 ng/mg		174%				
Médula ósea (bajo)	29,6 ng/mg	15,1 ng/mg	210%	310% (10% a $2,5 \times 10^9$ v g/kg)	100% (92% a $2,5 \times 10^9$ v g/kg)	46,000%	100%
Médula ósea (alto)	30,4 ng/mg		170%				
Riñón (bajo)	4,5 ng/mg	3 ng/mg	10%	90%	~91%	1380%	100%
Riñón (alto)	31,6 ng/mg		180%				
Bazo (bajo)	36,2 ng/mg	17 ng/mg	100%	140%	~95%	1170%	100%
Bazo (alto)	58,4 ng/mg		190%				

EQUIVALENTES Y ALCANCE

[0243] Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar, solo con la experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descrita en el presente documento. El alcance de la presente invención no tiene el fin de ser limitado a la descripción anterior, sino como se presenta en las reivindicaciones a continuación.