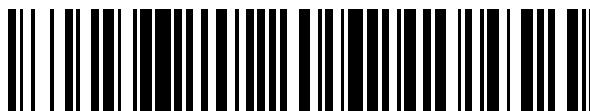


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 630 253**

51 Int. Cl.:

C07K 14/765 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.02.2010 PCT/EP2010/051751**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.08.2010 WO10092135**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2010 E 10703295 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017 EP 2396347**

54 Título: **Variantes de albúmina y conjugados**

30 Prioridad:

11.02.2009 EP 09152625
12.02.2009 EP 09152686

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.08.2017

73 Titular/es:

ALBUMEDIX A/S (100.0%)
Lottenborgvej 26
2800 Kgs. Lyngby, DK

72 Inventor/es:

FINNIS, CHRISTOPHER JOHN ARTHUR;
HAY, JOANNA MARY;
FRIIS, ESBEN PETER;
CAMERON, JASON y
SLEEP, DARRELL

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 630 253 T3

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

DESCRIPCIÓN

Variantes de albúmina y conjugados

5 Referencia a la lista de secuencias

[0001] Esta aplicación contiene un listado de secuencias en forma legible para el ordenador.

Campo de la invención

10

[0002] La presente invención se refiere a albúminas competentes de conjugación y polipéptidos relacionados con la albúmina, y sus conjugados con al menos una fracción, y a polinucleótidos que codifican los mismos.

Antecedentes de la invención

15

[0003] Las albúminas de suero proporcionan soportes valiosos a los que las moléculas bioactivas se pueden fusionar o por fusiones genéticas o por fusiones químicas para mejorar las propiedades de las molécula(s) fusionadas (Leger, R. Et al. (2004). *Bioorg Med Chem Lett* 14(17): 4395-8; Thibaudeau, K., et al. (2005). *Bioconjug Chem* 16(4): 1000-8; Balan, V. et al. (2006). *Antivir Ther* 11(1): 35-45; EP 0 413 622; WO 90/13653; EP 1 681 304; WO 1997/024445; WO 01/79271).

20

Las albúminas y partículas de albúmina son importantes también para llevar y suministrar fármacos y profármacos a sus sitios de acción (Kratz (2008) *Journal of Controlled Release*, 132 (3), p.171-183).

Las tecnologías de fusión y partículas ofrecen regímenes de dosificación mejorados debido a propiedades farmacocinéticas mejoradas, tal como extensión de semivida y pueden mejorar la biodisponibilidad y proteger la molécula bioactiva fusionada de inactivación.

25

[0004] La bioquímica, genética y aplicaciones médicas de albúminas están bien caracterizadas ("All about Albumin", T. Peters Jr., Academic Press N. Y., and <http://www.albumin.org/>).

30

Albúmina de suero humano (HSA, también referida como HA) es la proteína más abundante en el plasma humano a ~60g/L.

La secuencia de HSA se proporciona en la SEQ ID n° 1. Se producen variantes naturales de HSA y se da una lista de polimorfismos conocidos en Minchiotti et al. (2008). *Hum Mutat* 29(8): 1007-16., y en <http://www.uniprot.org/uniprot/P02768>.

35

[0005] La producción y purificación de albúminas de humano recombinantes están bien establecidas (WO 95/23857; WO 00/44772; WO 2006/066595; EP 0 305 216; Sleep et al. 1990 *Biotechnology* (N Y). 1990 Jan; 8(1):42-6) e incluyen albúmina de humano recombinante para aplicaciones farmacéuticas (Bosse et al. (2005). *J Clin Pharmacol* 45(1): 57-67).

40

La estructura tridimensional de HSA ha sido elucidada por cristalografía de rayos X (Carter et al. (1989). *Science* 244(4909): 1195-8; Sugio et al. (1999). *Protein Eng* 12(6): 439-46).

La cadena polipeptídica HSA tiene 35 residuos de cisteína, que forman 17 enlaces de disulfuro y una cisteína (libre) desparejada en la posición 34 de la proteína madura (SEQ ID n° 1).

45

La cisteína 34 se ha usado para la conjugación de moléculas a albúmina (Leger et al. (2004) *Bioorg Med Chem Lett* 14(17): 4395-8; Thibaudeau et al. (2005). *Bioconjug Chem* 16(4): 1000-8), y proporciona un sitio preciso bien definido para conjugación.

Sin embargo, la conjugación en cisteína-34 proporciona solo un sitio para la fijación de una fracción única, de modo que no hay elección de sitio de conjugación.

50

También, la provisión de unos sitios de conjugación únicos significa que solo una fracción se puede conjugar a cada molécula de albúmina. Lo que se requiere es una molécula de albúmina que proporcione uno o más sitios de fijación alternativos.

Resumen de la invención

55

[0006] Basados en un análisis de la estructura tridimensional de una albúmina de suero humano, (HSA) los residuos conservados dentro de polipéptidos de albúmina y polimorfismos naturales de los mismos, los inventores han diseñado variantes de polipéptidos (muteínas) de albúmina que tienen uno o más residuos de cisteína competentes de conjugación.

60

El término 'tio albúmina' se utiliza en este caso para describir una variante de albúmina que comprende uno o más residuos de cisteína desparejados, particularmente, una variante de albúmina donde uno o más de los residuos de cisteína desparejados no se producen en una variante de origen natural de una albúmina.

Así, una tio albúmina es una 'albúmina competente de conjugación'.

Una tio albúmina se puede referir a una 'variante de cisteína de una albúmina'.

65

[0007] En toda esta especificación, el término 'albúmina' incluye albúmina de origen natural, proteínas relacionadas con la albúmina y variantes de las mismas, tales como variantes naturales y diseñadas.

Las variantes incluyen polimorfismos, fragmentos tales como dominios y subdominios, fragmentos y/o proteínas

de fusión.

La albúmina puede tener al menos 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 99 % de similitud o identidad con la SEQ ID n° 1.

Así, una tio albúmina de la invención puede ser un derivado de, o estribarse en cualquiera de tal albúmina.

5

[0008] Los residuos de cisteína desparejada se pueden proporcionar por inserción, delección, sustitución, adición o extensión de una secuencia de albúmina.

[0009] La invención también se refiere a un conjugado que comprende al menos uno, por ejemplo 2, 3, 4, 5 o 6, parejas de conjugación tales como compuestos bioactivos y un polipéptido según la invención.

10

[0010] La invención también proporciona un método para diseñar las albúminas competentes de conjugación.

Breve descripción de los dibujos

15

[0011]

Fig. 1. Es una tabla que muestra el criterio usado para seleccionar sitios en la albúmina de suero humano (SEQ ID n° 1) para sustituciones de aminoácidos, inserciones y delecciones para la generación de cisteínas competentes de conjugación.

20

Fig. 2. Es un alineamiento de la secuencia de aminoácidos de albúmina de suero de humano (SEQ ID n° 1 = humano - P02768.pro) con albúminas de quince especies mamíferas diferentes. La 'mayoría' muestra la secuencia de consenso. '+Mayoría' muestra la homología relativa entre todas las dieciséis secuencias en forma de gráfico de barras, donde la altura de la barra indica la homología relativa a 20, 40, 60, 80 y 100 %. Las secuencias proteínicas incluyen la secuencia líder.

25

Fig. 3. Es un alineamiento de la secuencia de aminoácidos de albúmina de suero de humano (P02768.pro = SEQ ID n° 1) con albúminas de treinta y dos especies diferentes, algunas de las cuales son mamíferos. La 'mayoría' muestra la secuencia de consenso. La '+ Mayoría' muestra la homología relativa entre todas las treinta tres secuencias en la forma de gráfico de barras, donde la altura de la barra indica la homología relativa a 20, 40, 60, 80 y 100 %.

30

Las secuencias proteínicas incluyen la secuencia líder.

P02768.pro: humano; P02769.pro: bovino; P49064.pro: gato; P49822.pro: perro; Q5XLE4.pro: asno; JC5838.pro: jerbo; ACF10391,1.pro: fragmento de cabra; AAQ20088.pro: cerdo de guinea; P35747.pro: caballo; Q28522.pro: macaco; P07724.pro: ratón; P08835.pro: cerdo; P02770.pro: rata; P49065.pro: conejo; Q28522.pro: rhesus mono; P14639.pro: oveja; NP 001127106.pro: orangután; P19121.pro: pollo; P01012.pro: ovalbúmina de pollo; 073860.pro: ovalbúmina de pavo; AAC63407.pro: lamprea de mar; Q91274.pro: lamprea de mar; P21847.pro: rana toro; AAD09358.pro: Rana shqiperica; ABXL68.pro: Xenopus; NP 001004887.pro: Xenopus; AAL56646.pro: salamandra manchada; Q03156.pro: salmón atlántico; P21848.pro: salmón atlántico; AAM46104.pro: Sfenodon punctatus; P83517.pro: pez pulmonado australiano; S59517.pro: cobra monoculada; AAL08579.pro: Schistosoma mansoni.

40

Fig. 4. Es un diagrama de Venn que muestra las clases y la relación entre veinte aminoácidos.

Figuras 5A, 5B, 5C y 5D son tablas que muestran grupos de sitios preferidos en la albúmina de suero humano (SEQ ID n° 1) para sustituciones de aminoácidos, inserciones y delecciones para la generación de uno o más cisteína competente de conjugación.

45

Figuras 6A y 6B son tablas que muestran grupos de sitios preferidos en la albúmina de suero humano (SEQ ID n° 1) para interrupción de uno o más enlaces de disulfuro para la generación de una o más cisteínas competentes de conjugación.

Fig. 7. es un mapa de plásmido pDB2244.

Fig. 8 es un mapa de plásmido pDB2243.

Fig. 9. es un mapa de plásmido pDB2713.

50

Fig. 10 es una tabla que muestra sitios preferidos para conjugación reagrupada según su posición relativa en una albúmina doblada de la SEQ ID n.º: 1.

Fig. 11 es una tabla que muestra mutaciones (ver segunda columna) hecha para albúmina de suero humano nativo para generar moléculas con un grupo tiol libre único además de Cys-34 de albúmina de suero de humano nativo.

55

Fig. 12 es un mapa de plásmido pDB3927.

Fig. 13 es un mapa de plásmido pDB3964.

Fig. 14 es un mapa de plásmido pBD3936.

Fig. 15 muestra análisis SDS-PAGE y los datos de HPLC (gráfico de barras), que muestran la expresión ($\mu\text{g/ml}$ con desviación típica) de moléculas de albúmina con un grupo tiol libre a Cys-34 de la SEQ ID n.º: 1 y un tiol libre adicional en la posición indicada por debajo del gráfico de barras.

60

Fig. 16 es una tabla que muestra mutaciones (ver segunda columna) hecha para albúmina de suero humano nativo para generar moléculas con uno o más grupos de tiol libre además de Cys-34 de albúmina de suero de humano nativo y/o con Cys-34 quitada.

65

Fig. 17 muestra el análisis SDS-PAGE y datos de HPLC (gráfico de barras), que muestran la expresión ($\mu\text{g/ml}$ con desviación típica) de moléculas de albúmina con uno o más grupos de tiol libre además de Cys-34 de albúmina de suero de humano nativo y/o con Cys-34 quitada.

Fig. 18 es una tabla que muestra el rendimiento de fermentación y nivel relativo de conjugación para moléculas de albúmina que comprenden uno o más tioles libres.

Fig. 19 es un espectrograma de masa de una molécula de rHA diseñado para tener tres tioles libres (Cys-34; A2C y L585C) antes del tratamiento con DTNB.

5 Fig. 20 es un espectrograma de masa de una molécula de rHA diseñado para tener tres tioles libres (Cys-34; A2C y L585C) después del tratamiento con DTNB.

Fig. 21 es un espectrograma de masa de una molécula de rHA diseñado para tener cuatro tioles libres (Cys-34; D129C, C360S y L585C) antes del tratamiento con DTNB.

10 Fig. 22 es un espectrograma de masa de una molécula de rHA diseñado para tener cuatro tioles libres (Cys-34; D129C, C360S y L585C) después del tratamiento con DTNB.

Fig. 23 es un espectrograma de masa de una molécula de rHA diseñado para tener tres tioles libres (Cys-34; A2C y un tiol libre C-terminal) antes del tratamiento con DTNB.

Fig. 24 es un espectrograma de masa de una molécula de rHA diseñado para tener tres tioles libres (Cys-34; A2C y un tiol libre C-terminal).

15

Descripción detallada de la invención

[0012] Los inventores revelan un método para diseñar y/o preparar variantes de albúmina que comprenden uno o más residuos de cisteína competentes de conjugación. Por lo tanto, el polipéptido se puede considerar que es competente de conjugación.

Tal albúmina se puede referir como una 'tio albúmina' o como una 'variante de cisteína' de una albúmina.

El término 'cisteína competente de conjugación' incluye una cisteína que tiene un tiol que no es disulfuro conectado a otra cisteína y que, preferiblemente, no está bloqueado de la conjugación a otra molécula (que se puede referir como una 'pareja de conjugación') debido a impedimentos estéricos desfavorables.

25 Esto es, preferiblemente la ubicación de la cisteína dentro de o en un polipéptido plegado es de tal manera que está disponible para conjugación.

[0013] Un número de criterios de selección pueden usarse o no, solos o en cualquier combinación para identificar sitios adecuados para la introducción de un residuo de cisteína competente de conjugación.

30 Por lo tanto, la invención proporciona un método y/o reglas para una identificación *a priori* de sitios de una secuencia de aminoácidos de albúmina en el que una cisteína competente de conjugación puede ser introducida. Tales sitios se pueden referir como 'residuos candidatos'.

La secuencia de albúmina sobre la que se basa la albúmina variante puede ser la SEQ ID n° 1 o cualquier otra albúmina. Por ejemplo, la albúmina variante se puede basar en una albúmina que tiene o no tiene una cisteína en la posición 34 de la secuencia de aminoácidos o una posición equivalente.

35 Residuos de cisteína pueden o no pueden ser introducidos por uno o más de sustitución, inserción, deleción, extensión y adición.

Los sitios se pueden seleccionar o no con referencia a una estructura tridimensional de una albúmina o variante de la misma.

40 El criterio siguiente se puede usar o no para seleccionar sitios adecuados:

(a) El área de superficie accesible de solvente ("accesibilidad de superficie (% SASA)).

Preferiblemente, la accesibilidad de superficie es alta.

Por ejemplo, preferiblemente, la accesibilidad de superficie es al menos 60 %, más preferiblemente, de 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % a 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 %. % SASA se puede determinar como una 'puntuación bruta' utilizando los métodos descritos aquí o se puede calcular relativamente a la puntuación del residuo que tiene la accesibilidad de superficie máxima en la proteína.

45 Por ejemplo, la albúmina de HSA 1A06 tiene una accesibilidad de superficie máxima de 229,0 y este es el residuo de calificación máxima en HSA.

Una accesibilidad de superficie más alta indica que el residuo está sobre la superficie de la proteína y por lo tanto está disponible para la unión.

50 Tal accesibilidad se puede calcular utilizando un método como se describe en este caso.

(b) La presencia o ausencia del factor(es) B cristalográfico.

El factor B indica flexibilidad relativa de un residuo de aminoácido dentro de una estructura tridimensional.

55 Preferiblemente, el factor B es de al menos 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90 % a al menos 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 % lo que puede o no puede ser relativo a la puntuación de factor B máxima de cualquier residuo de aminoácido en la molécula.

Para HSA (por ejemplo 1A06), preferiblemente, la puntuación del factor b es alta, por ejemplo al menos 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 a al menos 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 o 106 (por ejemplo usando el sistema de calificación de factor b descrito aquí).

60 Alternativamente, la puntuación de factor b puede ser menor que o igual al 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 %, como se describe en este caso.

[0014] El factor b (raíz significa fluctuaciones cuadradas) de los átomos de carbono c-alfa durante el último nanosegundo de la simulación se puede calcular utilizando la herramienta de GROMACS "g_rmsf", versión 3.3, basada en D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A. E. Mark and H. J. C. Berendsen: GROMACS, Fast, Flexible and Free, J. Comp. Chem. 26 pp. 1701-1718 (2005).

65

(c) Presencia o ausencia de estructura secundaria (SS).

5 [0015] El residuo candidato puede o no estar localizado dentro de la estructura secundaria por ejemplo H (hélice), B (puente beta aislado) o E (hoja extendida).
La ubicación del residuo fuera de estructura secundaria indica que es menos probable que el residuo sea importante para la estructura secundaria y/o es más probable que esté disponible para la unión que un residuo situado dentro de una estructura secundaria.

10 (d) Homología relativa con otras albúminas.

[0016] Dentro de una secuencia de proteína dada, un residuo de aminoácido que muestra alta homología con otras secuencias similares es probable que indique que tal residuo o región es probable que sea importante para la estructura y/o función de la proteína.
15 Por lo tanto, se prefiere a que un residuo candidato muestra una homología inferior a 100 % con respecto al alineamiento de la albúmina donde el residuo se localiza con albúminas conocidas (por ejemplo albúminas mamíferas tales como las mostradas en la Fig. 2 o una combinación de albúminas mamíferas y no mamíferas tales como las mostradas en la Fig. 3).
20 Se prefiere a una homología inferior a 100, 98, 96, 95, 94, 92, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5.
La homología se puede determinar utilizando algoritmos conocidos en la técnica, tales como Clustal, por ejemplo Clustal W (Thompson et al. (1994). *Nucleic Acids Res* 22(22): 4673-80) o Clustal V (Higgins, D. G. and P. M. Sharp (1989). "Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer." *Comput Appl Biosci* 5(2): 151-3.).
25 Una homología inferior indica que el residuo no es importante particularmente o crítico para la estructura y/o función de la proteína.
Preferiblemente, la homología se determina con referencia a las dieciséis albúminas mamíferas de la figura 2 o el treinta y tres albúminas mamíferas y no mamíferas de la figura 3.

30 (e) Presencia o ausencia de residuos conservados adyacentes.

[0017] Dentro de una secuencia de aminoácidos, cada residuo tiene uno o dos residuos adyacentes.
Si un residuo candidato es adyacente inmediatamente uno o más residuos con una homología baja, con respecto a albúminas conocidas, esto indica que el residuo candidato no es probable que sea importante particularmente o crítico a la estructura y/o función de la proteína.
35 Esto se debe a que el residuo candidato es probable que se sitúe dentro de una región no conservada relativamente a la proteína.
Por lo tanto, se prefiere que el residuo candidato no sea adyacente a un residuo que tiene 100 % de homología con respecto al alineamiento de la albúmina con albúminas conocidas.
40 La homología se puede determinar como se describe en este caso.
El residuo candidato puede ser adyacente a dos residuos (es decir, un residuo C-terminal relativo al residuo candidato y un residuo N-terminal relativo al residuo candidato) que cada uno tiene un 100 % de homología con respecto al alineamiento de la albúmina con albúminas conocidas (por ejemplo Fig. 2 o Fig. 3).
45 Se prefiere que el residuo candidato sea adyacente a uno o dos residuos con una homología inferior a 100, 98, 96, 95, 94, 92, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 - estos niveles de homología se pueden referir como 'umbrales'. La homología se puede determinar como se describe en este caso.
Teniendo en cuenta el umbral de homología, la ubicación de un aminoácido con respecto a una región conservada se puede cuantificar, por ejemplo por la puntuación de un aminoácido que no es adyacente a cualquier aminoácido superior al umbral de homología como 0, puntuación de un aminoácido que es adyacente a un aminoácido superior al umbral como 1 y puntuación de un aminoácido que es adyacente a dos aminoácidos superiores al umbral como 2.
50

(f) Evidencia para polimorfismo(s).

55 [0018] Un polimorfismo es una variación genética, un polimorfismo puede causar o no un cambio fenotípico para la proteína resultante. Preferiblemente, el residuo candidato no está en una posición para la que se conoce un polimorfismo que causa un cambio fenotípico.
Más preferiblemente, el residuo candidato no está en una posición para la que un polimorfismo causa, o se sabe que causa, inestabilidad térmica.
60 Los polimorfismos conocidos para HSA (SEQ ID nº 1) se detallan en la Fig. 1 y también se debaten en Minchiotti et al. (2008). *Hum Mutat* 29(8): 1007-16 y en <http://www.uniprot.org/uniprot/P02768>.
La presencia, ausencia y/o efecto de un polimorfismo se pueden cuantificar, por ejemplo por la puntuación de un polimorfismo conocido que no tiene cambio fenotípico como 0, puntuación de un polimorfismo donde se conoce un cambio fenotípico (pero no se conoce que cause inestabilidad térmica) como 1 y puntuación de un polimorfismo que se conoce por causar inestabilidad térmica como 2.
65

(g) Conservación relativa de aminoácido candidato y cisteína.

[0019] Los aminoácidos encajan en varias clases bien conocidas.
Por lo tanto, algunos aminoácidos están más relacionados que otros.

5 El residuo de cisteína introducido puede o no mantener un nivel relativamente alto de conservación con el aminoácido candidato.

Fig. 4 es un diagrama de Venn que proporciona un sistema por el que se puede cuantificar el nivel de conservación.

10 El sistema de puntuación de la figura 4 usa una escala de 0 a 5 donde las sustituciones de alta conservación tienen una puntuación de 0, sustituciones de conservación baja tienen una puntuación de 5 y sustituciones de conservación intermedia tienen una puntuación de 1, 2, 3 o 4.

Preferiblemente, la sustitución del residuo candidato no es una sustitución no conservada, esto es, preferiblemente (utilizando el sistema de puntuación de la figura 4) el residuo candidato no tiene puntuación de conservación (con respecto a cisteína) de 5.

15 Más preferiblemente, el residuo candidato tiene una conservación más alta con respecto a cisteína (por ejemplo una puntuación de 4, 3, 2 y más preferiblemente 1).

El sistema de marcado se describe en la sección nombrada 'Sustitución conservadora (de abajo).

20 (h) Nivel de expresión.

[0020] La tio albúmina puede o no ser capaz de ser expresada a un nivel de al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 % en relación a la expresión de una albúmina no modificada (tal como la SEQ ID nº 1) a partir de un sistema de expresión adecuado, tal como levadura (por ejemplo *Saccharomyces*, por ejemplo *S. cerevisiae*) o un *Aspergillus*.

25 Los niveles de expresión relativos pueden ser determinados, por ejemplo, por la expresión de la proteína seguida de cuantificación por SDS-PAGE, HPLC o método de Western blot.

(i) Competencia de conjugación.

30 [0021] La tio albúmina puede o no tener un alto nivel de competencia de conjugación, por ejemplo, al menos 50, 60, 70, 80, 90, 95 o 100 % relativo a la competencia de conjugación de una albúmina que consiste en la SEQ ID nº 1 con solo una cisteína competente de conjugación a Cys-34.

La competencia de conjugación se puede determinar con respecto a cualquier molécula conjugable (pareja de conjugación) de interés, por ejemplo, una molécula bioactiva o un tinte fluorescente.

35 La determinación puede ser a través de un análisis de espectrometría de masas o cuantificación de la actividad del compuesto bioactivo tal como su fluorescencia.

Una ventaja de una tio albúmina con una alta competencia de conjugación es que esta puede permitir una conjugación eficaz de moléculas a la tio albúmina.

La competencia de conjugación se puede medir respecto al tiempo.

40 Las tio albúminas favorecidas pueden ser (a) aquellas que consiguen una conjugación máxima rápida o (b) lentamente.

(j) Actividad de compuesto conjugado.

45 [0022] La tio albúmina de la invención se puede conjugar a un compuesto (pareja de conjugación), por ejemplo, un compuesto bioactivo, de manera que el compuesto tenga un nivel alto de actividad con respecto a su actividad en un estado no conjugado.

Preferiblemente, el compuesto conjugado muestra al menos 1, 10, 20, 40, 50, 60, 70, 80, 80 y de la forma más preferible 100 % de su actividad con respecto a su estado no conjugado.

50 Una ventaja de un compuesto conjugado con un alto nivel de actividad es que este reduce la cantidad de compuesto conjugado requerida para conseguir un efecto deseado, por ejemplo, un efecto terapéutico deseado.

(k) Capacidad de la albúmina de unión al receptor

55 [0023] La tio albúmina conjugada y/o no conjugada puede o no tener una actividad de unión al receptor de al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 % de la actividad de unión al receptor de albúmina de suero de humano (SEQ ID nº 1).

Alternativamente, la tio albúmina conjugada y/o no conjugada puede o no tener una actividad de unión al receptor inferior por ejemplo como mucho 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90 % que la albúmina de suero humano.

60 La actividad de unión al receptor se puede determinar por ensayo, tal como en relación con la unión a FcRn.

[0024] La Fig. 1. muestra las puntuaciones de cada residuo de aminoácido de HSA (SEQ ID nº 1) para cada parámetro (a) a (g).

65 Por claridad, HSA in vivo se produce inicialmente como una proteína de aminoácido 609 donde los primeros veinticuatro aminoácidos son una secuencia líder. La secuencia líder se corta para generar una proteína 585

madura de aminoácido. En toda esta especificación, la proteína madura se refiere como la SEQ ID n.º 1.

La estructura modelo HSA A106 desatiende los primeros cuatro residuos y los últimos tres residuos de la SEQ ID n.º: 1 porque estas son no resueltas en el modelo 3D.

Por lo tanto, el residuo 1 de modelo A106 es equivalente al residuo 5 de la SEQ ID n.º: 1.

- 5 En toda esta especificación, todos los residuos se citan con referencia a la SEQ ID n.º 1, a menos que se diga lo contrario. La secuencia inmadura de HSA (es decir, HSA con su secuencia líder C-terminal natural) se proporciona en la SEQ ID n.º 102.

[0025] Las etiquetas de columna de la figura 1. se detallan abajo:

- 10 Posición en 1A06: se refiere a la posición de aminoácido en la estructura cristalina de albúmina de suero de humano del banco de datos de proteína RCSB (PDB; <http://www.rcsb.ORG/PDB/>) con la introducción con la identidad PDB 1A06 o 1ao6 (Sugio, S., A. Kashima, et al. (1999). *Protein Eng* 12(6): 439-46).

- 15 Hay que destacar que en comparación con la secuencia HSA madura (SEQ ID n.º 1), la estructura 1A06 comienza en el residuo 5S (con los primeros 4 aminoácidos ausentes de la estructura) y finaliza en 582A de la SEQ ID n.º: 1 (con los últimos 3 aminoácidos ausentes de la estructura).

Las posiciones de aminoácidos usadas aquí para describir posiciones que alteren para generar cisteínas competentes de conjugación se refieren a las posiciones en la SEQ ID n.º 1, no 1ao6.

- 20 La posición en HSA maduro: la posición de aminoácido en la SEQ ID n.º 1 tomada de la 585 forma residuo segregado de HSA, National Center for Biotechnology Information, ACCESSION: 1A06_A VERSION GI:3212456 (24-SEP-2008), cadena A, estructura cristalina de albúmina de suero de humano. (Sugio et al. (1999). *Protein Eng* 12(6): 439-46).

[0026] La posición con secuencia líder: se refiere a la posición en la forma no procesada de albúmina de suero de humano con la secuencia líder secretora de aminoácido 24.

- 25 [0027] Aminoácido: el código de una letra estándar para cada uno de los 20 aminoácidos (por ejemplo A = Ala = alanina).

- 30 [0028] % SASA: el área de superficie accesible de solvente calculada para cada residuo, utilizando el software DSSP descrito en Kabsch and Sander (1983). *Biopolímeros* 22(12): 2577-637.

Cada área de superficie accesible de solvente se dividió por un valor estándar para el aminoácido particular encontrado en esa posición y multiplicado por 100, obteniendo así un porcentaje del valor estándar para cada residuo.

- 35 Las áreas de superficie accesibles de solvente estándar para los 20 aminoácidos diferentes se definen como (usando códigos de una sola letra para los aminoácidos): A=62; C=92; D=69; E=156; F=123; G=50; H=130; I=84; K=174; L=97; M=103; N=85; P=67; Q=127; R=211; S=64; T=80; V=81; W=126, Y=104).

[0029] Factor b: el valor de factor b cristalográfico para el átomo c-alfa fue extraído directamente del fichero PDB. El factor b está en la columna número 11 del 1ao6 PDB fichero PDB, (<http://www.rcsb.org/pdb/>).

- 40 [0030] SS (estructura secundaria): la estructura secundaria determinada para cada residuo utilizando el software DSSP Kabsch and Sander (1983). *Biopolímeros* 22(12): 2577-637.

Si la estructura secundaria se define como H (hélice), B (puente beta aislado) o E (hoja extendida), el residuo se marca '1', de otro modo como '0'.

- 45 [0031] Align 1 (Mamm. W): el nivel de homología para un alineamiento de varias proteínas de familia de albúmina mamífera con HSA (SEQ ID n.º: 1), identificado como P02768 compilado usando el programa MegAlign (DNASTAR, Lasergene, versión 8.0.2) basado en Clustal W; seis niveles de homología se determinan con el máximo =100 %, que disminuye en 20 % de incrementos, al mínimo =0 % (Fig. 2).

- 50 [0032] Adj. 100 % (Align 1): la puntuación según si el residuo adyacente fue altamente (100 %) conservado cuando HSA se alinea con las albúminas mamíferas de la figura 2.

- 55 Una puntuación de 0 indica que el residuo no es adyacente a un residuo con 100 % de homología cuando HSA se alinea con las albúminas mamíferas de la figura 2; una puntuación de 1 indica que el residuo es adyacente a un residuo con 100 % de homología cuando HSA se alinea con albúminas mamíferas; una puntuación de 2 indica que el residuo es adyacente a dos residuos con 100 % de homología cuando HSA se alinea con albúminas mamíferas.

- 60 [0033] Align 2 (Var. Sps. V): el nivel de homología para un alineamiento de varias proteínas de familia de albúmina con HSA (SEQ ID n.º: 1), identificado como P02768 compilado que usa el programa MegAlign (DNASTAR, Lasergene, versión 8.0.2) basado en Clustal V; seis niveles de homología se determinan con el máximo =100 %, disminuyendo en 20 % de incrementos, al mínimo =0 % (Fig. 3).

[0034] Polimorf.: este identifica si es o no un polimorfismo conocido en el residuo de aminoácido.

- 65 Los polimorfismos de aminoácido únicos de albúmina de suero de humano (SEQ ID n.º: 1) fueron tomados de Minchiotti et al. (2008). *Hum Mutat* 29(8): 1007-16. y <http://www.uniprot.org/uniprot/P02768>, con posiciones de

aminoácido tomadas de la forma no procesada de albúmina de suero de humano con la 24 secuencia líder secretora de aminoácido y descrita utilizando el código de aminoácido de una letra estándar (por ejemplo D25V se refiere a un ácido aspártico que se cambia a una valina en la posición 1 en SEQ ID n.º: 1).

5 [0035] Cambio de fenotipo: una puntuación que representa la 'severidad' de cambio fenotípico derivada de las fuentes de cambios fenotípicos conocidos ('polimorf.', referenciado arriba) donde; 0 = ningún cambio fenotípico conocido, 1 = se ha descrito un cambio fenotípico para cualquiera de las mutaciones en esta posición en comparación con el residuo en la SEQ ID n.º: 1, excluyendo un cambio que da como resultado una termostabilidad disminuida, 2 = una mutación en esta posición en la SEQ ID n.º: 1 se describe como causante de termostabilidad reducida.

10 [0036] Cisteína frente a mutación conservada: una puntuación que se refiere a como está bien conservado el aminoácido en comparación con cisteína, como se ha derivado de la figura 4 (descrita aquí) y que varía de 1 a 5 para mutaciones a cisteína. Una puntuación de 1 se asigna a los cambios más conservadores posibles (por ejemplo alanina a cisteína) y que varía a una puntuación de 5 para el mínimo de conservación en comparación con una cisteína (por ejemplo histidina a cisteína).

15 [0037] Aunque la selección de criterios se puede usar en cualquier combinación deseada, se describen cuatro grupos preferidos de criterios de selección (A, B, C, D), solo por medio de ejemplo, abajo.
20 De estos (A) y (B) también se pueden referir a grupos de selección 1 y 2 (respectivamente):

(A) una forma de realización preferida particularmente del método descrito proporciona un método para diseñar y/o preparar una tio albúmina, el método comprende:

25 Proporcionar un modelo tridimensional que comprenda al menos un caso de una secuencia de albúmina (preferiblemente, el modelo tridimensional se refiere a una secuencia de aminoácidos de una albúmina y de la forma más preferible la secuencia de aminoácidos de la secuencia de albúmina también se proporciona, la secuencia de aminoácidos puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos que no están resueltos en el C- y/o N-terminal de los modelos tridimensionales, preferiblemente, la secuencia de aminoácidos es 'de longitud completa', es decir, la secuencia de aminoácidos madura de la albúmina);

30 Seleccionar un residuo de aminoácido candidato en la secuencia de albúmina corresponde al primer, segundo, tercero, cuarto o quinto residuo relativo al N- o C- terminal de la secuencia de albúmina (del modelo o de la secuencia de aminoácidos) o que (preferiblemente, en relación al modelo tridimensional) cumple las condiciones siguientes: no presente dentro de la estructura secundaria; accesibilidad de superficie (SASA) de al menos 90 %; puntuación de factor b de al menos 60; menos de la 80 % de la homología a albúminas mamíferas conocidas (por ejemplo Fig. 2); ningún residuo adyacente con 100 % de homología a albúminas mamíferas conocidas (por ejemplo Fig. 2); ningún polimorfismo con un cambio fenotípico conocido; y ningún cambio de aminoácido no conservado a cisteína con una puntuación de 5 o por superior;

35 Substitución de uno o más de los residuos de aminoácidos seleccionados con cisteína o inserción de cisteína en el lado N o lado C del residuo seleccionado,

40 Opcionalmente, hacer una o más alteraciones adicionales a la secuencia de albúmina donde cada una de la alteración es una delección de aminoácido, sustitución, extensión, adición o inserción; y opcionalmente preparar un polipéptido con la secuencia de aminoácidos requerida.

45 [0038] Con referencia al modelo 1A06 y SEQ ID n.º 1, los residuos candidatos identificados por criterios de selección (A) incluyen L585, D1, A2; D562; A364; A504; E505; T79 y E86 (en orden descendente de accesibilidad de solvente) y también se muestra en la Fig. 5A.

(B) otra forma de realización preferida del método descrito comprende:

50 Proporcionar un modelo tridimensional que comprende al menos un caso de una secuencia de albúmina (preferiblemente, el modelo tridimensional se refiere a una secuencia de aminoácidos de una albúmina y de la forma más preferible la secuencia de aminoácidos de la secuencia de albúmina también se proporciona, la secuencia de aminoácidos puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos que no son resueltos en el C- y/o N-terminal de los tres modelos dimensionales, preferiblemente, la secuencia de aminoácidos es de 'longitud completa', es decir, la secuencia de aminoácidos madura de la albúmina);

55 Seleccionar un residuo de aminoácido candidato en la secuencia de albúmina (del modelo o de la secuencia de aminoácidos) que (preferiblemente en relación al modelo tridimensional) cumple las condiciones siguientes: está presente en la estructura secundaria; la accesibilidad de superficie de al menos 90 %; puntuación de factor b de al menos 40; menos del 80 % de homología con albúminas mamíferas conocidas (por ejemplo Fig. 2); ningún residuo adyacente con 100 % de homología con albúminas mamíferas conocidas (por ejemplo Fig. 2); ningún polimorfismo con un cambio fenotípico conocido; y ningún cambio aminoácido no conservado a cisteína con una puntuación de 5 o superior;

60 Substitución de uno o más de los residuos de aminoácidos seleccionados con cisteína o inserción de cisteína en el lado N o lado C del residuo seleccionado,

65 Opcionalmente, hacer una o más alteraciones adicionales a la secuencia de albúmina donde cada alteración es una delección de aminoácido, sustitución, extensión, adición o inserción; y opcionalmente preparar un polipéptido con la secuencia de aminoácidos requerida.

[0039] Con referencia al modelo 1AO6 y SEQ ID n° 1, los residuos candidatos identificados por criterios de selección (B) incluyen D129; D549; A581; D121; E82; S270; Q397 y A578 (en el orden descendente de accesibilidad de solvente) y son también mostrados en la Fig. 5B.

5 (C) otra forma de realización preferida del método descrito comprende:

Proporcionar un modelo tridimensional que comprenda al menos un caso de una secuencia de albúmina (preferiblemente, el modelo tridimensional se refiere a una secuencia de aminoácidos de una albúmina y de la forma más preferible la secuencia de aminoácidos de la secuencia de albúmina también se proporciona, la secuencia de aminoácidos puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos que no están resueltos en el C- y/o N-terminal del modelo tridimensional, preferiblemente la secuencia de aminoácidos es de 'longitud completa', es decir, la secuencia de aminoácidos madura de la albúmina);

10 Seleccionar un residuo de aminoácido candidato en la secuencia de albúmina (del modelo o de la secuencia de aminoácidos) que (preferiblemente, en relación al modelo tridimensional) cumple las condiciones siguientes: no está presente dentro de la estructura secundaria; accesibilidad de superficie de al menos un 80 %; puntuación de factor b de al menos 50; menos del 100 % de homología con albúminas mamíferas conocidas (por ejemplo Fig. 2); menos del 80 % de homología con las varias albúminas alineadas en la Fig. 3; ningún polimorfismo conocido por causar inestabilidad térmica; y ningún cambio aminoácido no conservado a cisteína con una puntuación de 4 o superior;

15 Substitución de uno o más de los residuos de aminoácidos seleccionados con cisteína o inserción de cisteína en el lado N o lado C del residuo seleccionado;

Opcionalmente, hacer una o más alteraciones adicionales a la secuencia de albúmina donde cada alteración es una delección de aminoácido, sustitución, extensión, adición o inserción; y opcionalmente preparar un polipéptido con la secuencia de aminoácidos requerida.

20 [0040] Con referencia al modelo 1AO6 y SEQ ID n° 1, los residuos candidatos identificados por criterios de selección (C) se muestran en la Fig. 5C.

(D) otra forma de realización preferida del método descrito comprende:

30 Proporcionar un modelo tridimensional que comprenda al menos un caso de una secuencia de albúmina (preferiblemente el modelo tridimensional se refiere a una secuencia de aminoácidos de una albúmina y de la forma más preferible la secuencia de aminoácidos de la secuencia de albúmina también se proporciona, la secuencia de aminoácidos puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos que no están resueltos en el C- y/o N-terminal de los modelos dimensionales);

35 Seleccionar un residuo de aminoácido candidato en la secuencia de albúmina que (preferiblemente, en relación al modelo tridimensional) cumple las condiciones siguientes: está presente dentro de la estructura secundaria; accesibilidad de superficie de al menos un 80 %; puntuación de factor b de al menos 30; menos del 100 % de homología con albúminas mamíferas conocidas (por ejemplo Fig. 2); menos del 80 % de homología con las varias albúminas alineadas en la Fig. 3; ningún polimorfismo conocido por causar inestabilidad térmica; y ningún cambio aminoácido no conservado a cisteína con una puntuación de 4 o superior;

40 Substitución de uno o más de los residuos de aminoácidos seleccionados con cisteína o inserción de cisteína en el lado N o lado C del residuo seleccionado,

45 Opcionalmente, hacer una o más alteraciones adicionales a la secuencia de albúmina donde cada alteración es una delección de aminoácido, sustitución, extensión, adición o inserción; y opcionalmente preparar un polipéptido con la secuencia de aminoácidos requerida.

[0041] Con referencia al modelo 1AO6 y SEQ ID n° 1, los residuos candidatos identificados por criterios de selección (D) se muestran en la Fig. 5D.

50 [0042] Ya que las figuras 5A, 5B, 5C y 5D son selecciones de la figura 1, los encabezamientos de columna son los mismos.

[0043] Un residuo candidato puede ser uno o más de los residuos de cisteína implicados en la unión de disulfuro presente en la molécula de albúmina (en el caso de HSA SEQ ID n° 1, hay 17 enlaces de disulfuro y por lo tanto 34 cisteínas implicadas en la unión de disulfuro). Dos cisteínas que se enlazan por un enlace de disulfuro se pueden referir como 'equivalentes'. Para generar una cisteína competente de conjugación, el residuo candidato se puede eliminar o se puede sustituir con un aminoácido diferente, particularmente Ser, Thr, Val o Ala para crear un tiol libre en la pareja de cisteína. Los 34 residuos de cisteína de la SEQ ID n.º: 1 que se implican en la unión de disulfuro son C53; C62; C75; C91; C90; C101; C124; C169; C168; C177; C200; C246; C245; C253; C265; C279; C278; C289; C316; C361; C360; C369; C392; C438; C437; C448; C461; C477; C476; C487; C514; C559; C558 y C567.

En relación a la invención, algunos de estos 34 residuos candidatos están más favorecidos que otros.

65 [0044] Los residuos de cisteína se inspeccionaron visualmente utilizando el software PyMOL (Warren L. DeLano "The PyMOL Molecular Graphics System." DeLano Scientific LLC, San Carlos, CA, EE.UU. [Http://www.pymol.ORG](http://www.pymol.ORG)) y las cisteínas en los enlaces de disulfuro fueron divididas en 3 categorías:

- aquellas que pueden ser sustituidas, por ejemplo, por serina, que abandonan su cisteína equivalente como un tiol libre que tiene una probabilidad alta de ser un sitio de conjugación.
Estas corresponden C75; C91; C124; C168; C169; C316; C360; C361; C567; C558.
- aquellas que se pueden sustituir por serina, abandonan su homólogo como un tiol libre que tiene una probabilidad media de ser un sitio de conjugación.
Estas corresponden C90; C101; C177; C265; C279; C278; C289; C369; C392; C438; C476; C487; C514; C559.
- aquellas que se pueden sustituir por serina, abandonan su homólogo como un tiol libre que tiene una probabilidad baja de ser un sitio de conjugación.
Estas corresponden C53; C62; C200; C246,C245,C253,C437,C448,C461,C477.

[0045] La decisión se basa en la accesibilidad de superficie y la orientación del enlace c-alfa c-beta del tiol libre potencial relativo al polipéptido plegado.
Usando este juicio, a cada uno de los residuos de cisteína de HSA les fue proporcionada una puntuación de modificación y clasificada como alta, media o baja.

[0046] La Figura 6A, proporciona una lista de todos los residuos de cisteína que tienen una alta puntuación de modificación (columna de derecha), lo que indica tal modificación de un residuo de cisteína en esta posición supondría su cisteína equivalente que proporciona un tiol libre que tiene una probabilidad alta de ser adecuada para uso como un sitio de conjugación.

[0047] La Figura 6B, proporciona una lista de las cisteínas equivalentes que, cuando se desaparejan (y así proporcionan un tiol libre) tienen una alta probabilidad de ser adecuadas para uso como un sitio de conjugación

[0048] Las etiquetas de la columna para la Fig. 6 son las mismas para aquellas descritas para la Fig. 1 con la adición de:

Puntuación de modificación: definida como 'alta', 'media' o 'baja', como se describe en este caso.
Información de disulfuro: resume la unión de disulfuro en la SEQ ID n° 1.
(Polimorf.) cambio de fenotipo: resume las columnas marcadas 'polimorf'. Y 'cambio de fenotipo en la Fig. 1.

[0049] Los residuos de cisteína preferidos para modificación podrían ser además seleccionados en base a las otras informaciones proporcionadas en la figura 6A, tales como estructura secundaria asignada, residuos de cisteína con residuos conservados no adyacentes (100 % de albúminas mamíferas entre (alineados por Clustal W), ningún polimorfismo conocido causa cambios fenotípicos.

[0050] Alternativamente, los residuos de cisteína para modificación podrían ser seleccionados examinando el ambiente del residuo de cisteína (con un grupo tiol libre) generado por modificación de su residuo de cisteína equivalente proporcionado en la figura 6A, se pueden preferir características tal como alta %SASA (figura 6B, columna quinta).

[0051] Para claridad, para albúminas diferentes de la albúmina de suero humano de la SEQ ID: n.º1, residuos equivalentes se favorecen para la mutación.

Tales residuos equivalentes pueden tener o no números de residuo idénticos a los de la SEQ ID n° 1 pero serían identificable claramente por la persona experta, por ejemplo con referencia a alineamientos de homología con la SEQ ID n° 1 y otras albúminas tales como las de la figura 2 y/o Fig. 3.

Por ejemplo, en la Fig. 2, el residuo en posiciones a 160 de la 'regla' horizontal' son equivalentes pero tienen números de residuo que difieren y, a veces, son aminoácidos que difieren, por ejemplo L159 en el humano, W134 en el fragmento de cabra, L151 en Macaco y M159 en el ratón.

Se prefiere que, para un alineamiento tal como Fig. 2 o Fig.3, los residuos equivalentes estén dentro de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácido del aminoácido candidato de la SEQ ID n.º: 1.

La 'regla' sobre el alineamiento indica si un aminoácido está dentro de 1 a 10 aminoácidos de un aminoácido candidato de la SEQ ID n.º: 1.

[0052] El criterio de selección de grupo (A) es más preferible que aquel del grupo (B) que a su vez es más preferible que aquel del grupo (C) y sucesivamente es más preferible que aquel del grupo (D).

[0053] El método puede además comprender o no la determinación de la capacidad de unión al receptor y/o la competencia de conjugación del polipéptido y opcionalmente la selección de un polipéptido que tiene o no una capacidad de unión al receptor y/o competencia de conjugación.

[0054] 'Preparación' de un polipéptido puede o no incluir la expresión del polipéptido en una célula huésped y/o purificar el polipéptido de la célula huésped o célula huésped media.

El método puede comprender favorecer la selección de residuos que reúnen uno o todos los criterios siguientes:

- se prefieren residuos con alta accesibilidad de superficie a aquellos que tienen baja accesibilidad de superficie;

- se prefieren mutaciones conservadoras de otro aminoácido a cisteína sobre mutaciones no conservadoras;

[0055] Alternativamente, o como adición, los criterios de selección como se detallan en toda esta especificación pueden o no ser usados para seleccionar residuos en el método descrito aquí.

[0056] Un primer aspecto de la invención, proporciona una tio albúmina que comprende una secuencia polipeptídica y/o polipéptido diseñado, y/o producido según el método descrito arriba.

[0057] Preferiblemente, el polipéptido es un polipéptido recombinante.

Preferiblemente, el polipéptido es un polipéptido aislado y/o purificado.

Preferiblemente, el polipéptido es sintético y/o naturalmente no se produce en la naturaleza.

[0058] Específicamente, la invención proporciona un polipéptido competente de conjugación que comprende:

(i) una secuencia de aminoácidos que es al menos un 60 % idéntico a residuos 1 a 585 de la SEQ ID n.º: 1, donde:

(a) en una posición equivalente a la posición 34 de la SEQ ID n.º: 1 hay un residuo de cisteína competente de conjugación; y

(b) además, en el polipéptido hay uno o más residuos de cisteína competentes de conjugación, preferiblemente, 2 o más; o

(ii) un fragmento que comprende al menos un 50 % de la secuencia de aminoácidos de (i) o que comprende un dominio de la secuencia de aminoácidos de (i).

[0059] Además, la invención proporciona un polipéptido competente de conjugación que comprende:

(i) una secuencia de aminoácidos que es al menos un 60 % idéntica a residuos 1 a 585 de la SEQ ID n.º: 1, donde:

(a) en una posición equivalente a la posición 34 de la SEQ ID n.º: 1, no hay un residuo de cisteína competente de conjugación; y

(b) además, en el polipéptido hay uno o más residuos de cisteína competentes de conjugación, preferiblemente 2 o más o 3 o más; o

un fragmento que comprende un mínimo de 50 % de la secuencia de aminoácido de (i) o que comprende un dominio de la secuencia de aminoácidos de (i).

[0060] El polipéptido competente de conjugación puede ser un polipéptido de fusión que comprende el polipéptido competente de conjugación.

[0061] El polipéptido puede comprender o no 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 residuos de cisteína competentes de conjugación.

[0062] Más específicamente, el polipéptido (que puede ser descrito en relación a una secuencia de albúmina conocida tal como SEQ ID n.º 1) puede comprender o no uno o más de:

(a) sustitución de un aminoácido sin cisteína con una cisteína en una posición que corresponde con una posición equivalente a cualquier residuo L585, D1, A2; D562; A364; A504; E505; T79; E86; D129; D549; A581; D121; E82; S270; Q397 y A578 de la SEQ ID n.º: 1;

(b) inserción de una cisteína en una posición adyacente al lado N o lado C de un aminoácido que puede corresponder o no a una posición equivalente a cualquiera de los residuos L585, D1, A2; D562; A364; A504; E505; T79; E86; D129; D549; A581; D121; E82; S270; Q397 y A578 de la SEQ ID n.º: 1;

(c) una cisteína con un grupo tiol libre en una posición que puede corresponder o no a cualquiera de C369; C361; C91; C177; C567; C316; C75; C169; C124 y C558 que se puede generar o no por delección o sustitución de C360; C316; C75; C168; C558; C361; C91; C124; C169 y/o C567.

(d) adición de una cisteína al lado N del residuo N-terminal de una secuencia de albúmina y/o al lado C del residuo C-terminal de una secuencia de albúmina

de manera que el resultado neto de la sustitución, delección, adición o eventos de inserción de (a); (b), (c) y (d) es que el número de residuos de cisteína competente de conjugación de la secuencia polipeptídica aumenta relativamente al polipéptido antes de la sustitución, inserción, delección y eventos de adición.

Dentro de (a) a (d), de arriba, los residuos de todos los residuos son preferidos.

Sin embargo, dentro de cada (a); (b), (c) y (d), los residuos se enumeran en orden de preferencia decreciente.

[0063] Una tio albúmina puede incluir o no un polipéptido donde uno o más grupo(s) de tiol libres de origen natural, tales como cisteína-34 en HSA (SEQ ID n.º 1), se modifica a un aminoácido que no es cisteína.

Por ejemplo, la cisteína puede se puede sustituir o no por un aminoácido que tiene una puntuación de conservación relativamente alta (por ejemplo 1, 2 o 3 como calculado según la Fig. 4) tal como alanina o serina.

Una tio albúmina puede incluir o no un polipéptido donde uno o más grupo(s) de tiol libre que se producen naturalmente, tal como cisteína-34 en HSA (SEQ ID n.º 1) están presentes.

[0064] Como se detalla aquí, la invención se puede conseguir por la introducción de residuos de cisteína por una o más de extensión, adición, inserción, sustitución o delección.

[0065] Una adición se puede hacer por extensión y/o inserción.

[0066] Por ejemplo, una o más cisteínas competentes de conjugación se pueden crear o no en una albúmina por extensión; por ejemplo añadiendo un residuo de cisteína extra al N-terminal o C-terminal de la molécula, que se puede adicionar o no como un residuo de cisteína único o como un polipéptido más largo que contiene una o más cisteínas competentes de conjugación.

El residuo(s) de cisteína se puede adicionar inmediatamente adyacente al N- o C-terminal de la albúmina.

Alternativamente, puede haber uno o más residuos diferentes de aminoácidos situados entre el N- y/o C-terminal de la albúmina y el residuo(s) de cisteína.

Cuando se agregan dos o más residuos de cisteína, alguna o todas las cisteínas adicionadas se pueden separar entre sí por uno o más aminoácidos diferentes, por ejemplo por 1 a 50 aminoácidos, tales como de 1, 10, 20, 30 o 40 aminoácidos a 10, 20, 30, 40 o 50 aminoácidos.

Una extensión N-terminal preferida es la adición de Cys inmediatamente adyacente al N-terminal de una albúmina madura (es decir, albúmina dividida de su secuencia líder). Por ejemplo, para una albúmina que comprende o consiste en la SEQ ID n° 1, Cys es N-terminal preferiblemente inmediatamente al primer Asp (D1).

Tal albúmina se puede referir como 'Cys-albúmina', por ejemplo 'Cys-HSA' (donde HSA es una albúmina de suero humano). Otras extensiones N-terminal preferidas de albúminas tal como SEQ ID n° 1 incluyen Cys-Ala-albúmina tal como Cys-Ala-HSA.

Una extensión C-terminal preferida es la adición de Cys inmediatamente adyacente al C-terminal de una albúmina, tal como una albúmina madura.

Por ejemplo, para una albúmina que comprende o consiste en la SEQ ID n° 1, Cys es el C-terminal preferiblemente inmediatamente al último Leu (L585) residuo.

Tal albúmina se puede referir como 'albúmina Cys', por ejemplo Cys HSA.

Otras extensiones C-terminal preferidas de albúminas tal como la SEQ ID n° 1 incluyen albúmina-Ala-Cys, tal como HSA-Ala-Cys.

Los polipéptidos adecuados para suministrar extensiones, como se ha descrito anteriormente, se pueden añadir o insertar al lado C- o lado N del aminoácido terminal de la albúmina, tal como al lado C de L585 en la SEQ ID n° 1.

[0067] El polipéptido puede o no comprender además otro enlazador al que un socio de conjugación, tal como un compuesto bioactivo, puede ser enlazado. Por ejemplo, un enlazador puede comprender una amina primaria tal como una lisina.

[0068] Una o más cisteínas competentes de conjugación se pueden crear en una albúmina por inserción; por ejemplo añadiendo una o más cisteínas adicionales sin eliminación de un residuo de aminoácido de la secuencia de albúmina, o por sustitución de uno o más aminoácidos adyacentes con un mayor número de residuos que contienen al menos una cisteína, de modo que se extienden la longitud total del polipéptido.

Por ejemplo, un residuo de cisteína se puede introducir adyacente inmediatamente a un residuo de albúmina identificado aquí. El residuo de cisteína se puede introducir como un residuo de cisteína único o dentro de un polipéptido.

El polipéptido puede ser de 2 a 50 aminoácidos de largo, preferiblemente de 2, 10, 20, 30 o 40 a 10, 20, 30, 40 o 50 aminoácidos de largo.

[0069] Alternativamente o por añadidura, la invención incluye la sustitución de uno de los residuos de cisteína en uno o más enlaces de disulfuro de una albúmina con un residuo de aminoácido diferente, de forma que se rompe el enlace de disulfuro para dejar un grupo tiol libre adicional. Por ejemplo, una cisteína de uno o más de los 17 enlaces de disulfuro de origen natural de HSA se pueden sustituir para proporcionar una cisteína competente de conjugación.

Tal sustitución provoca la cisteína que no ha sido sustituida para no tener ya una pareja enlace de disulfuro y por lo tanto proporcionar un grupo tiol libre.

Las cisteínas competentes de conjugación se pueden proporcionar de uno o más de los enlaces de disulfuro de origen natural de una albúmina tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 de los enlaces de disulfuro de origen natural de una albúmina tal como HSA (por ejemplo SEQ ID n° 1).

Por ejemplo, un residuo de cisteína que forma naturalmente un enlace de disulfuro con otro residuo de cisteína se puede sustituir o no con un residuo de aminoácido conservado relativamente, particularmente Ser, Thr, Val o Ala.

Con referencia a la SEQ ID n° 1, los residuos de cisteína implicados en la unión de disulfuro son C53; C62; C75; C91; C90; C101; C124; C169; C168; C177; C200; C246; C245; C253; C265; C279; C278; C289; C316; C361; C360; C369; C392; C438; C437; C448; C461; C477; C476; C487; C514; C559; C558 y C567.

Los residuos de cisteína preferidos para la modificación (es decir, delección o sustitución) pueden en particular corresponder a C360; C316; C75; C168; C558; C361; C91; C124; C169 y/o C567 generando así una cisteína competente de conjugación a uno o más de C369; C361; C91; C177; C567; C316; C75; C169; C124 y C558 de la SEQ ID n.º: 1.

[0070] Además, las cisteínas competentes de conjugación se pueden crear o no en la albúmina por delección de

una de las cisteínas de un enlace de disulfuro en la estructura de proteína, de forma que rompen el enlace de disulfuro para proporcionar un grupo tiol libre adicional.

5 [0071] Alternativamente o por añadidura, uno o más de los residuos de cisteína presentes en la molécula de albúmina, pero no implicados en la unión de disulfuro (por ejemplo Cys-34 en el caso de la SEQ ID n.º: 1) se puede eliminar o no (es decir, sin sustitución con un aminoácido diferente) o se puede sustituir o no con un aminoácido diferente, particularmente Ser, Thr, Val o Ala.

10 [0072] Para un polipéptido que comprende dos o más residuos de cisteína competentes de conjugación, cuando el polipéptido está plegado, los residuos de cisteína competentes de conjugación se pueden distribuir o no equitativamente relativamente sobre la superficie de la proteína plegada.

El término 'plegado' incluye plegado de un polipéptido/proteína en su configuración natural, por ejemplo la configuración plegada más estable termodinámicamente.

15 Una ventaja de la distribución relativamente uniforme es que esta permite la conjugación de dos o más fracciones a la tio albúmina sin impedimento estérico entre dos o más de las fracciones conjugadas.

Esto tiene la ventaja de que minimiza y opcionalmente elimina la pérdida potencial de la actividad debido a salidas tal como impedimento estérico entre fracciones adyacentes (parejas de conjugación) que se pueden conjugar a la tio albúmina.

20 Tales fracciones, por ejemplo moléculas bioactivas, pueden ser relativamente grandes.

[0073] Preferiblemente, las dos o más cisteínas competentes de conjugación se distribuyen sobre la superficie de la molécula de tio albúmina de manera que estas se distancian tan lejos de una a la otra como sea posible, por ejemplo, posible geoméricamente.

25 Preferiblemente, la distancia entre dos o más cisteínas competentes de conjugación es al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 Angstromos.

Preferiblemente, cada cisteína competente de conjugación es al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 Angstromos de distancia de todas las otras cisteínas competentes de conjugación en la molécula.

30 La distancia entre dos cisteínas competentes de conjugación es preferiblemente una distancia que es al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 95 % y de la forma más preferible 100 % de la longitud del eje más largo de la molécula de albúmina plegada, por ejemplo como se muestra en un modelo de una albúmina.

Por ejemplo, el eje más largo de la SEQ ID n.º: 1 como se muestra en la estructura de proteína 1A06 es aproximadamente 85 Angstromos.

35 Por lo tanto, se prefiere que dos o más de los residuos de cisteína sean al menos 65, 70, 75 o de la forma más preferible 80 Angstromos aparte.

De la forma más preferible, cada residuo de cisteína de conjugación competente está a una distancia de al menos 80, 90 o 95 % y de la forma más preferible 100 % de la longitud del eje más largo de la molécula de albúmina plegada.

40 [0074] Preferiblemente, las cadenas laterales de cisteínas competentes de conjugación se desvían una de la otra y/o se dirigen de modo que una fracción conjugada se desviará a la cisteína desde el centro de la estructura de albúmina.

Esto proporciona la ventaja de la prevención de interacciones entre las fracciones conjugadas y/o la misma fracción de albúmina.

45 [0075] Con referencia a una secuencia de aminoácidos, los residuos de aminoácidos candidatos se pueden inspeccionar visualmente usando un software tal como PyMOL (Warren L. DeLano "The PyMOL Molecular Graphics System" DeLano Scientific LLC, San Carlos, CA, EE.UU. [Http://www.pymol.ORG](http://www.pymol.ORG)).

Los aminoácidos candidatos se pueden dividir en categorías basadas en su proximidad a otros miembros de este grupo.

50 Por ejemplo, los aminoácidos candidatos se pueden dividir en 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 categorías.

Se prefiere que las combinaciones de aminoácidos candidatos se seleccionen de distintas categorías.

Esto es, se prefiere que una tio albúmina contiene una o varias mutaciones menores de cada categoría.

55 [0076] Con referencia a la SEQ ID n.º 1, PyMOL fue usado para analizar los residuos candidatos de las Figs 5A y 5B para identificar combinaciones favorecidas particularmente de mutaciones de cisteína.

Tales combinaciones se pueden utilizar para diseñar una tio albúmina con dos o más residuos de cisteína competentes de conjugación.

60 Los grupos de selección 1 y 2 corresponden a los criterios de selección (A) y (B) (respectivamente) de las Figs 5A y 5B del método de selección descrito aquí.

El grupo de selección 3 corresponde a los residuos identificados en la Fig. 6B.

Los residuos favorecidos particularmente se dan en la figura 6A y 6B donde los encabezamientos de columna son los mismos que aquellos en la Fig. 1 con la adición de 'grupo de selección' y 'grupo de proximidad' como se describe en este caso.

65 [0077] Los resultados del análisis se dan en la Fig. 10 donde los encabezamientos de columna son los mismos que aquellos usados en la Fig. 1 y Fig. 6 con la adición de:

Grupo de proximidad: asignación de un grupo de proximidad como se describe aquí para describir subconjuntos de sitios dentro de HSA (en concreto, la SEQ ID n° 1).

5 [0078] Por ejemplo, los residuos de aminoácidos candidatos seleccionados en el grupo de selección 1 (enumerados en la figura 5A) se inspeccionaron visualmente utilizando el software PyMOL y los aminoácidos seleccionados se dividieron en categorías basadas en su proximidad a otros miembros del grupo de selección 1. Los cinco grupos se generaron (marcados A a E en la figura 10 'grupo de proximidad', columna de derecha), cuatro fueron generados por inspección visual.

10 Grupo E contiene residuos de aminoácidos no visibles en 1A06 que se conocen por estar en la región N-terminal.

Además, se observó que cys-34 está presente en la proximidad del grupo A.

15 [0079] De forma similar, los residuos de aminoácidos seleccionados en el grupo de selección 2 (enumerados en la figura 5B) se inspeccionaron visualmente utilizando el software PyMOL y los aminoácidos seleccionados se dividieron en categorías basadas en su proximidad a otros miembros del grupo de selección 2.

Se generaron cinco grupos (marcados F-J en la figura 10 'grupo de proximidad', columna derecha)

20 [0080] De forma similar, los residuos de cisteína libres preferidos seleccionados en el grupo de selección 3 (enumerado en la figura 6B), que se puede generar por mutaciones que causan la interrupción de enlaces de disulfuro se inspeccionaron visualmente utilizando el software PyMOL y los aminoácidos seleccionados se dividieron en categorías basadas en su proximidad a otros miembros de este grupo.

Se generaron cuatro grupos (marcados K-N en la figura 10 'grupo de proximidad', columna derecha).

25 Cuando en referencia a los residuos del grupo de selección 3, los residuos citados son las cisteínas competentes de conjugación resultantes (por ejemplo Fig. 6B).

Para generar tal cisteína competente de conjugación está claro que la cisteína equivalente (por ejemplo Fig. 6A) en el enlace de disulfuro debería quitarse por ejemplo por deleción o sustitución.

30 [0081] Cuando se desea una combinación de dos o más mutaciones, los residuos de aminoácidos que se produzcan en diferentes 'grupos de proximidad' (por ejemplo, con referencia a la SEQ ID n.º 1) se pueden preferir sobre aquellos que se produzcan en el mismo grupo de proximidad.

Para la SEQ ID n° 1, hay 14 grupos de proximidad (es decir, A a N).

Se prefiere que, para una tio albúmina con dos o más cisteínas competentes de conjugación, haya cero o una cisteína competente de conjugación definida de cada uno de los 14 grupos.

35 Esto es, se prefiere que tal tio albúmina no contenga dos o más cisteínas competentes de conjugación que formen parte del mismo grupo.

Existe un gran número de permutaciones que reúnen este criterio.

40 [0082] Por ejemplo, para una variante de tio albúmina que contiene dos residuos de grupos de tiol libre basados en criterios de selección que generó el grupo de selección 1, luego T79 + A364, donde un residuo está seleccionado de un grupo A de proximidad para combinar con A364 en el grupo de proximidad C, sería preferido sobre T79 + E86 que ambos se producen en el grupo A de proximidad.

45 [0083] Para combinaciones que incluyen cisteína-34, se prefiere no seleccionar residuos de grupos de proximidad A, F o K.

Esto es, se prefiere seleccionar residuos de uno o más de grupos de proximidad B a E, G a J y L a N.

[0084] Los ejemplos de mutaciones preferidos seleccionados de dentro de grupo de selección 1 pueden incluir lo siguiente:

50 • para 2 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 1; se prefieren residuos de aminoácidos de grupos de proximidad A + C, tal como T79 + A364. De forma similar, los residuos de aminoácidos seleccionados de grupos de proximidad C + E, tales como A364 + D1 también se prefieren.

También, se prefieren los residuos de aminoácidos de grupos de proximidad D + E, tal como L585 + A2 o + el lado C de L585 + A2 o de G + yo, tal como S270 + A581.

55 • para 3 residuos de aminoácidos seleccionados, el grupo de selección 1; residuos de aminoácidos que se producen en los grupos de proximidad A + C + B se prefieren tal como T79 + A364 + D562.

De forma similar, también se prefieren los residuos de aminoácidos seleccionados de grupos de proximidad B + C + E, tal como D562 + A364 + A2 o D562 + A364 + D1

60 • para 4 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 1; se prefieren residuos de aminoácidos que se producen en los grupos de proximidad A + C + B + D tal como tal como T79 + A364 + D562 + A504, o alternativamente T79 + D562 + A364 + L585.

Aún más preferidos son los residuos de aminoácidos seleccionados de grupos de proximidad A + B + C + E, tal como C34 + D562 + A364 + A2; T79 + D562 + A364 + D1.

65 • para 5 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 1; se prefieren residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad A + C + B + D + E tal como T79 + D562 + A364 + L585 + D1.

De forma similar, E86 + D562 + A364 + A504 + A2 también se prefieren.

- las variantes de albúmina anteriormente mencionadas pueden además comprender o no una cisteína a Cys34 de la SEQ ID n.º: 1 o en una posición equivalente en otra albúmina.

[0085] Los ejemplos de mutaciones preferidas seleccionados de dentro de grupo de selección 2 pueden incluir lo siguiente:

- para 2 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 2; se prefieren los residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad G + I tal como S270 + A581.
Alternativamente, se prefieren los residuos de aminoácidos que se producen en los grupos de proximidad G + H tal como S270 + D129.
- para 3 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 2; se prefieren residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad G + I + F tal como S270 + A581 + E82.
Alternativamente, se prefieren los residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad G + I + H tal como S270 + A581 + D129.
- para 4 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 2; residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad G + I + F + H tal como S270 + A581 + E82 + D129.
- para 5 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 2; se prefieren residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad G + I + F + H + J tal como S270 + A581 + E82 + D129 + Q397.
Sin embargo, D549 no se prefiere en combinación con mutaciones A578; A581.
También, las mutaciones para D549; A578; A581 se prefieren o no en combinación con la mutación de L585 del grupo de selección 1.

[0086] Los ejemplos de sitio preferido seleccionados de dentro de grupo de selección 3 para los tiolos libres competentes de conjugación pueden incluir lo siguiente:

- para 2 residuos de aminoácidos seleccionados del grupo de selección 3; se prefieren residuos de aminoácidos que se produzcan en los grupos de proximidad M + L, tal como C369 + C177.
De forma similar, también se prefieren C361 + C124.
- Más de dos mutaciones que interrumpen los enlaces de disulfuro son menos preferidos.
- las variantes de albúmina mencionadas anteriormente pueden además comprender o no una cisteína a Cys34 de la SEQ ID n.º: 1 o en una posición equivalente en otra albúmina.

[0087] Las combinaciones de sitios de grupos de selección 1, 2 y 3 también se pueden hacer, donde sitios del grupo de selección 1 se prefieren normalmente a sitios de grupo de selección 2, que se prefieren normalmente a sitios seleccionados del grupo de selección 3.

[0088] Los ejemplos de sitios de grupos de selección 1 + 2 pueden incluir residuos de grupos de proximidad C + I, tal como A364 + A581.
Alternativamente, los residuos de grupos de proximidad A + G + I, tal como C34 + S270 + A581, de grupos de proximidad A + H + G + I, tal como C34 + D129 + S270 + A581, de grupos de proximidad A + C + I, tal como T79 + A364 + A581 o residuos de grupos de proximidad C + I + H tal como A364 + A581 + D129 también se prefieren.

[0089] Los ejemplos de sitios de grupos de selección 1 + 3 pueden incluir residuos de grupos de proximidad A + L + M, tal como C34 + C169 + C316, de grupos de proximidad C + L, tal como A364 + C177 se prefieren.
Alternativamente, se prefieren los residuos de grupos de proximidad B + M, tal como D562 + C369.

[0090] Los ejemplos de sitios de grupos de selección 2 + 3 pueden incluir residuos de grupos de proximidad H + M, tal como D129 + C369 se prefieren.
Alternativamente, los residuos de grupos de proximidad I + M, tal como A581 + C369 se prefieren.

[0091] Los ejemplos de sitios de grupos de selección 1 + 2 + 3 que pueden incluir residuos de grupos de proximidad A + H + M + D, tal como C34 + D129 + C360 + L585, de grupos de proximidad B + H + M, tal como D562 + D129 + C369 son preferidos.

[0092] Las combinaciones anteriores son generalmente más preferidas que combinaciones de residuos de los conjuntos siguientes de grupos de proximidad: (i) A, K y F; (ii) B, D, I, J y N; (iii); C y M; (iv) H y L.

[0093] Las variantes de albúmina anteriores de la invención pueden además comprender o no una cisteína a Cys34 de la SEQ ID n.º: 1 o en una posición equivalente, si se basa en una albúmina además de la SEQ ID n.º 1.

[0094] Una persona experta apreciará que los sitios para introducción de un grupo tiol libre (cisteína competente de conjugación) han sido seleccionados de grupos de selección 1, 2 y 3.
Sin embargo, este método también se puede usar para seleccionar sitios para la introducción de más de un grupo tiol libre de otros residuos seleccionados de la SEQ ID n.º 1, es decir, este podría usar el método descrito para generar otros grupos de selección útiles.

[0095] Una tio albúmina preferida comprende la SEQ ID n° 1 con Cys en posiciones 2 y 585 además del Cys de origen natural en la posición 34 (SEQ ID n° 78, constructo 'TA33').

Una tio albúmina más preferida comprende la SEQ ID n° 1 con Cys en posiciones 2, 364, 562, 585 además del Cys de origen natural en la posición 34 (SEQ ID n° 82, constructo 'TA38').

5 Las tio albúminas que comprenden tres o cuatro de las Cys en posiciones 2, 364, 562 y 585 también se pueden preferir.

[0096] El polipéptido puede comprender o no al menos una mutación que reduce la glicosilación.

10 [0097] Un segundo aspecto de la invención proporciona un polinucleótido que codifica el polipéptido según la invención.

El polinucleótido se puede optimizar o no de codón relativamente al huésped donde se va a expresar.

SEQ ID n° 2 proporciona la secuencia de codificación usual de HSA (SEQ ID n° 1).

15 La SEQ ID n° 3 proporciona una secuencia de codificación de HSA (SEQ ID n° 1) que es optimizada de codón para la expresión de *S. cerevisiae*.

La SEQ ID n° 2 o 3 se puede mutar para proporcionar un polinucleótido que codifica un polipéptido según la invención.

Preferiblemente, el polinucleótido es sintético y/o recombinante.

Preferiblemente, el polinucleótido es un polinucleótido aislado.

20 El polinucleótido puede codificar un HSA con o sin una secuencia líder.

Por ejemplo, el polinucleótido puede codificar un HSA con la secuencia líder natural de HSA (aminoácidos 1 a 24 de la SEQ ID n.º: 102) o un HSA con una secuencia líder de fusión (aminoácidos 1 a 24 de la SEQ ID n.º: 49).

25 [0098] Un tercer aspecto de la invención proporciona un plásmido que comprende el polinucleótido del segundo aspecto de la invención.

El plásmido puede ser un plásmido basado en 2 micras tales como los descritos en WO2005/061719; WO2005/061718 y WO2006/067511.

El plásmido puede mostrar la actividad de chaperona mejorada, por ejemplo a través de una expresión de un chaper-one, particularmente PDI.

30 [0099] Un cuarto aspecto de la invención proporciona un sistema de expresión tal como una célula huésped que comprende un polinucleótido según el segundo aspecto de la invención y/o un plásmido del tercer aspecto de la invención.

35 Preferiblemente, la célula huésped es una célula mamífera tal como una célula humana o bovina, o una célula fúngica tal como una célula de levadura.

Alternativamente, la célula huésped puede ser una célula bacteriana tal como un *Bacillus* o *Escherichia coli* o una célula vírica tal como *Baculovirus* o una célula vegetal tal como un arroz por ejemplo *Oryza sativa*.

De la forma más preferible, la célula es una célula de levadura tal como un *Saccharomyces* (por ejemplo *S. cerevisiae*), una *Pichia* o una célula *Aspergillus*.

40 [0100] Un quinto aspecto de la invención proporciona un conjugado que comprende una pareja de conjugación, tal como un compuesto bioactivo, y un polipéptido según la invención, donde el socio de conjugación se enlaza al polipéptido a través de un residuo de cisteína competente de conjugación del polipéptido.

45 La pareja de conjugación puede ser un diagnóstico terapéutico o compuesto de formación de imágenes tal como los mencionados aquí.

El conjugado puede comprender 2 o más, por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 parejas de conjugación que pueden cada una ser diferentes y/o pueden ser copias múltiples del mismo compuesto.

50 Preferiblemente, cada pareja de conjugación se enlaza al polipéptido a través de un residuo de cisteína competente de conjugación del polipéptido, sin embargo, las parejas de conjugación se pueden enlazar por otros medios por ejemplo por una fusión genética o enlaces covalentes para aminoácidos sin cisteína tal como lisina.

[0101] Un sexto aspecto de la invención proporciona un método para producir un polipéptido de la invención que comprende:

55 (a) cultivo de una célula huésped según la invención bajo condiciones que permiten la expresión del polipéptido; y

(b) recuperación del polipéptido desde la célula huésped y/o de medio de crecimiento de célula huésped.

60 [0102] Por consiguiente, la presente invención también proporciona un método para la producción de un polipéptido (o proteína) de la invención, el método comprende: (a) proporción de una célula huésped de la invención que comprende un polinucleótido que codifica el producto proteínico de elección tal como se ha definido anteriormente; y (b) crecimiento de la célula huésped (por ejemplo, cultivo de la célula huésped en un medio de cultivo); para así producir un cultivo celular u organismo recombinante que comprende un nivel en aumento del producto de proteína de elección comparado con el nivel de producción del producto proteínico de elección conseguido por el crecimiento (por ejemplo, cultivo), bajo las mismas condiciones, la misma célula huésped que no ha sido genéticamente modificada para causar la sobre-expresión de una o más proteínas auxiliares.

- 5 [0103] La etapa del crecimiento de la célula huésped puede o no implicar permitir una célula huésped derivada de un organismo multicelular para regenerarse en un organismo recombinante multicelular (tal como una planta o animal) y, opcionalmente, producción de una o más generaciones de progenie de los mismos.
- [0104] El método puede además comprender o no la etapa de la purificación del producto de elección proteínico expresado así desde la célula huésped cultivada, organismo recombinante o medio de cultivo.
- 10 [0105] El método de producción puede comprender conectar una pareja de conjugación al polipéptido de la invención a través de un residuo de cisteína competente de conjugación del polipéptido. Los métodos de conjugación adecuados y parejas de conjugación se describen aquí.
- [0106] Un séptimo aspecto de la invención proporciona una composición que comprende un conjugado según la invención y al menos un portador farmacéuticamente aceptable y/o diluyente.
- 15 [0107] Un octavo aspecto de la invención proporciona un método para hacer un ingrediente farmacéutico y/o un producto farmacéutico que comprende hacer una tio albúmina según la presente invención, opcionalmente conjugar otra molécula a la tio albúmina, opcionalmente formular el conjugado resultante con un diluyente farmacéuticamente aceptable y/o portador, y opcionalmente preparar el producto en la forma de dosificación unitaria.
- 20 [0108] Un noveno aspecto de la invención proporciona el uso de un polipéptido según la invención para la producción de una tio albúmina conjugada.
- 25 [0109] Un décimo aspecto de la invención proporciona el uso de un conjugado según la invención y/o producido por un método según la invención para el tratamiento del trastorno, tratamiento de enfermedad y/o diagnóstico.
- [0110] Un aspecto decimoprimer de la invención proporciona un gel que comprende una o más albúminas según la invención.
- 30 El gel se puede formar por cualquier método adecuado. Por ejemplo el gel se puede formar por la incubación de una solución de albúmina o suspensión, a una temperatura adecuada por ejemplo temperatura ambiente (15 a 25 °C, tal como 20 °C) o temperatura corporal (36 a 38 °C, preferiblemente 36,9 °C). Un gel se puede utilizar para revestir dispositivos médicos, tal como una férula. Un gel se puede utilizar en o sobre un vendaje para heridas.
- 35 La albúmina se puede aplicar al producto sanitario o vendaje para heridas antes o después de que se haya gelificado. La albúmina puede ser aplicada *ex situ* o *in situ* (por ejemplo, aplicarse a un producto sanitario o vendar antes, después o durante su aplicación o insertar en un cuerpo humano o animal).
- 40 [0111] Los polipéptidos y/o conjugados de la invención se pueden utilizar para preparar nanopartículas que pueden ser usadas, por ejemplo, en aplicaciones angiogénicas, aplicaciones antiangiogénicas y para revestir un producto sanitario tal como una férula. Las nanopartículas son eficaces en el blanco, por ejemplo para uniones no heméticas y, por lo tanto, pueden ser útiles para tumores diana tales como tumores cancerígenos. Las nanopartículas también pueden ser útiles para el antígeno diana, para provocar una respuesta inmune, ya que las nanopartículas son particularmente susceptibles de envoltura y presentación mediante fagocitos. La invención proporciona nanopartículas que consisten solo en tio albúmina según la invención que se pueden conjugar o no a una fracción (pareja de conjugación).
- 50 La invención también proporciona nanopartículas que comprenden tio albúmina según la invención, que se puede conjugar o no a una fracción, y uno o más constituyentes diferentes de una nanopartícula que puede ser o no albúmina relacionada. En una forma de realización preferida, una tio albúmina según la invención comprende al menos dos residuos de cisteína competentes de conjugación situados en la superficie del polipéptido.
- 55 Tal tio albúmina se puede utilizar para la preparación de nanopartículas donde uno o más residuos de cisteína competente de conjugación se pueden utilizar en la formación de una nanopartícula y uno o más residuos competentes de conjugación se usan para una pareja de conjugación, por ejemplo, para una molécula bioactiva.
- [0112] La invención se refiere a todas las albúminas.
- 60 Mientras los residuos preferidos se han identificado en relación con la SEQ ID nº 1, la persona experta sería capaz de identificar residuos equivalentes en otras secuencias de albúmina, tales como las albúminas descritas en las Figuras 2 y 3, y entender que las mutaciones de albúminas (diferentes de la SEQ ID nº 1) a tales residuos equivalentes son parte de la invención. Los residuos equivalentes se pueden identificar, por ejemplo, por alineamiento de homología con la SEQ ID nº 1.
- 65 Un residuo en una albúmina diferente de la SEQ ID nº 1 puede tener o no una coordenada de residuo idéntica a su residuo equivalente en la SEQ ID nº 1.

Así, la invención proporciona tio albúminas basadas en cualquier secuencia de albúmina, tal como las secuencias mostradas en la tabla 1 y, más preferiblemente, aquellas mostradas en la Fig. 2 y/o 3. 'Basadas en' incluye la modificación de una secuencia de albúmina para introducir uno o más tioles libres adicionales.

5 [0113] Las albúminas recombinantes pueden ofrecer ventajas sobre albúminas derivadas de un animal con un nivel más alto de grupos de tiol libre competente de conjugación, y se pueden fabricar sin el riesgo de contaminación con priones patogénicos y virus.

Una ventaja de un conjugado de tio albúmina es que la parte de tio albúmina se puede preparar separadamente a una pareja de conjugación.

10 Por lo tanto, un lote de tio albúmina se puede utilizar para producir muchos conjugados de tio albúmina diferentes.

También, los componentes individuales del conjugado se pueden fabricar por métodos diferentes y, por lo tanto, no se restringen a un método único, tal como expresión de proteína heteróloga en una célula huésped tal como una levadura.

15 Además, una tio albúmina puede comprender sitios de conjugación múltiples y, por lo tanto, una tio albúmina única se puede conjugar a más de un tipo de pareja de conjugación (por ejemplo, agente terapéutico, agente de diagnóstico, agente diana, agente de imágenes) y/o a copias múltiples de uno o más tipos de parejas de conjugación.

20 La capacidad para conjugar de la tio albúmina a diferentes tipos de parejas de conjugación permite la provisión de unas especies de múltiples funciones.

La capacidad para conjugar la tio albúmina a copias múltiples de una pareja de conjugación permite la concentración de una molécula que se va a aumentar y, por lo tanto, aumenta la cantidad o volumen, de conjugado de tio albúmina requerido para un fin dado con respecto a un conjugado con solo una copia única de la pareja de conjugación.

25 Las ventajas de entregar fármacos vía una proteína de fusión de albúmina se debaten en Osborn, et al. (2002). J Pharmacol Exp Ther 303(2): 540-8.

Se espera que la entrega de fármacos vía una conjugación de la invención tenga ventajas similares.

30 [0114] Los detalles adicionales que se pueden usar o no de acuerdo con la invención están descritos abajo:

Modelos tridimensionales (3D)

[0115] La divulgación anterior se ha hecho en relación al modelo de albúmina conocido como 1AO6 (banco de datos de proteína) que se refiere a la SEQ ID n° 1.

35 La Figura 1 proporciona los residuos de aminoácidos para 1AO6.

[0116] Sin embargo, la invención se refiere a todas las albúminas y sus estructuras.

40 Las estructuras de albúmina están disponibles para la persona experta, por ejemplo las coordenadas atómicas para la estructura terciaria de albúmina de humano están disponibles en la base de datos de ADN GenBank a www.ncbi.nlm.nih.gov.

[0117] Las estructuras se pueden ver utilizando el software adecuado tal como RasM.1 Chime (Sayle, TIBS 20, 374,1995).

Las coordenadas de albúmina disponibles incluyen:

45 1AO6,1BM0 (Sugio et al. (1999). Protein Eng 12(6): 439-46), que estaba entre el punto 17 de proteínas solicitadas.

1UOR, He & Carter (1992). Nature 358(6383): 209-15.

1bj5 y 1bke, Curry et al. (1998). Nat Struct Biol 5(9): 827-35.

50 1e7a.1e7b, 1e7c, Bhattacharya et al. (2000). J Biol Chem 275(49): 38731-8.

1e7e, 1e7f, 1e7g, 1e7h y 1e7i, Bhattacharya et al. (2000). J Mol Biol 303(5): 721-32.

1GNJ, Petitpas et al. (2001). J Mol Biol 314(5): 955-60.

1 HA2 y 1 H9Z Petitpas et al. (2001). J Biol Chem 276(25): 22804-9.

Albúmina

55 [0118] La albúmina usada en la invención puede ser una albúmina de origen natural, una proteína relacionada con la albúmina o una variante de la misma tal como una variante natural o diseñada.

Las variantes incluyen polimorfismos, fragmentos tales como dominios y subdominios, fragmentos y/o proteínas de fusión.

60 Una albúmina de esta invención puede comprender la secuencia de una proteína de albúmina obtenida de cualquier fuente. Típicamente, la fuente es un mamífero tal como humano o bovino.

En una forma de realización preferida, la albúmina de suero es albúmina de suero humano ("HSA").

El término "albúmina de suero humano" incluye una albúmina de suero que tiene una secuencia de aminoácidos de origen natural en seres humanos y variantes de las mismas.

65 Preferiblemente, la albúmina tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID n.º: 1 o una variante o fragmento de la misma, preferiblemente, una variante funcional o fragmento de la misma.

La secuencia de codificación HSA es obtenible por métodos conocidos para el ADNc de aislamiento que corresponde con genes humanos y también se describe en, por ejemplo, EP 0 073 646 y EP 0 286 424.

Un fragmento o variante puede ser o no funcional.

5 Por ejemplo, un fragmento o variante puede retener la capacidad para enlazar con un receptor de albúmina tal como FcRn a al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 % de la capacidad de la albúmina progenitora (de donde deriva el fragmento o variante) para enlazar al receptor.

La capacidad de unión relativa se puede determinar por métodos conocidos en la técnica tales como estudios de resonancia plasmónica de superficie.

10 [0119] La albúmina puede ser una variante polimórfica de origen natural de albúmina de humano o una albúmina humana análoga.

Generalmente, las variantes o fragmentos de albúmina de humano tendrán al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, (preferiblemente al menos 80 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105 % o más) de actividad de unión de ligandos de la albúmina de humano (por ejemplo unión FcRn), mol a mol.

15 [0120] La "albúmina" puede comprender la secuencia de albúmina de suero bovino.

El término "albúmina de suero bovino" incluye una albúmina de suero que tiene una secuencia de aminoácidos de origen natural en vacas, por ejemplo, como se ha tomado del número de registro de Swissprot P02769 y variantes de las mismas tal y como se define aquí.

20 El término "albúmina de suero bovino" también incluye fragmentos de albúmina de suero bovino de longitud completa o variantes de los mismos, tal y como se define aquí.

[0121] Un número de proteínas se conoce por existir en la familia de albúmina; una lista no exclusiva se muestra en tabla 1, de abajo.

25 La lista indica toda su longitud de secuencias que incluyen la proteína madura y secuencia líder (a menos que se indique de otro modo).

[0122] La albúmina puede comprender la secuencia de una albúmina derivada de una albúmina de suero de perro (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P49822-1), cerdo (por ejemplo, ver el número de registro de Swissprot P08835-1), cabra (por ejemplo, como está disponible de Sigma como producto n.º A2514 O A4164), gato (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P49064-1), pollo (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P19121-1), ovalbúmina (por ejemplo, ovalbúmina de pollo) (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P01012-1), ovalbúmina de pavo (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot 073860-1), asno (por ejemplo ver número de registro de Swissprot Q5XLE4-1), cobaya (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot Q6WDN9-1), hámster (ver DeMarco et al. (2007). International Journal for Parasitology 37(11): 1201-1208), caballo (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P35747-1), mono rhesus (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot Q28522-1), ratón (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P07724-1), paloma (por ejemplo, tal y como se define por Khan et al, 2002, Int. J. Biol. Macromol., 30(3-4).171-8), conejo (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P49065-1), rata (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P02770-1) y oveja (por ejemplo, ver número de registro de Swissprot P14639-1) e incluye variantes y fragmentos de la misma tal y como se define aquí.

45 [0123] La albúmina puede comprender la secuencia de una albúmina tal como una albúmina de suero o una ovalbúmina, por ejemplo aquellas mostradas en la tabla 1, por debajo e incluye variantes y fragmentos de las mismas, tal y como se define aquí.

Tabla 1: albúminas de varias especies

Proteína	Nombre común	Especies	Número de acceso de SwissProt	Identidad con la SEQ ID n.º: 1 (Clustal V)	Longitud (aa)
SA	rana africana de uñas	<i>Xenopus laevis</i>	P08759-1	37,3	608
SA	Bovino	<i>Bos taurus</i> (SEQ ID nº 94)	P02769-1	76,1	607
SA	Gato	<i>Felis catus</i> (SEQ ID nº 95)	P49064-1	82,2	608
SA	Pollo	<i>Gallus Gallus</i>	P19121-1 (texto versión 2)	46,5	615
SA	Cobra ALB	<i>Naja kaouthia</i>	Q91134-1	30,9	614
SA	Perro	<i>Canis lupus familiaris</i> (SEQ ID nº 96)	P49822-1	80,3	608
SA	Asno	<i>Equus asinus</i> (SEQ ID nº 97)	Q5XLE4-1	76,6	607

ES 2 630 253 T3

SA	Rana de agua europea	<i>Rana shqiperica</i>	Q9YGH6-1	31,5	603
SA	esquistosomiasis	<i>Schistosoma mansoni</i>	AAL08579 Q95VB7-1	76,0	608
SA	Jerbo mongol	<i>Meriones unguiculatus</i> (SEQ ID nº 98)	035090-1 / JC5838	73,2	609
SA	Cabra	<i>Capra hircus</i> (SEQ ID nº 99)	B3VHM9-1	74,3	607
SA	Cobaya	<i>Cavia porcellus</i> (SEQ ID nº 100)	Q6WDN9-1	73,0	608
SA	Caballo	<i>Equus caballus</i> (SEQ ID nº 101)	P35747-1	76,4	607
SA	Humano	<i>Homo sapiens</i> (SEQ ID nº 102)	P02768-1	100,0	609
SA	pez pulmonado australiano	<i>Neoceratodus fosteri</i>	P83517-1	22,8	101 (NL)
SA	Macaco (rhesus mono)	<i>Macaca mulatta</i> (SEQ ID nº 103)	Q28522-1	93,5	608
SA	Ratón	<i>Mus musculus</i> (SEQ ID nº 104)	P07724-1 Versión 3.	72,4	608
SA	Rana toro norteamericana	<i>Rana catesbeiana</i>	P21847-1	36,1	382 (NL)
SA	Cerdo	<i>Sus scrofa</i> (SEQ ID nº 105)	P08835-1 Versión 2	75,6	607
SA	Conejo	<i>Oryctolagus cuniculus</i> (SEQ ID nº 106)	P49065-1 Versión 2	75,3	608
SA	Rata	<i>Rattus norvegicus</i> (SEQ ID nº 107)	P02770-1 Versión 2.	73,4	608
SA	Salamandra	<i>Ambistoma maculatum</i>	Q8UW05-1	38,8	626
SA	Salmón ALB1	<i>Salmo salar</i>	P21848-1	25,0	608
SA-2	Salmón ALB2	<i>Salmo salar</i>	Q03156-1	24,8	608
SA	Lamprea de mar	<i>Petromizon marinus</i>	Q91274-1	16,9	1423
SA	Lamprea de mar	<i>Petromizon marinus</i> -AS	042279-1	17,4	551
SA	Oveja	<i>Ovis aries</i> (SEQ ID nº 108)	P14639-1	75,3	607
SA	Sumatran orangután	<i>Pongo abelii</i>	Q5NVH5-1	100,0	609
SA	Tuatara	<i>Sfenodon punctatus</i>	Q8JIA9-1	43,8	527 (NL)
SA	rana de uñas occidental	<i>Xenopus (Silurana) tropicalis</i>	Q6DJ95-1	10,5	572 (NL)
OA	Pollo	<i>Gallus Gallus</i>	P01012-1 Versión 2	10,9	383 (NL)
OA	Pavo	<i>Meleagris gallopavo</i>	073860-1 Versión 3.	11,4	386 (NL)
SA: albúmina de suero, SA-2:albúmina de suero-2, OA: ovalbúmina, NL: ninguna secuencia líder					

[0124] Muchas formas mutantes de origen natural de albúmina son conocidas.

Muchas se describen en Peters, (1996, All About Albumin: Biochemistry, Genetics and Medical Applications, Biochemistry, Genetics and Medical Applications, Academic Press, Inc., San Diego, California, p.170-181).

5 Una variante tal y como se define aquí puede ser un mutante de origen natural tal como los descritos en Minchiotti et al. (2008). Hum Mutat 29(8): 1007-16., and <http://www.uniprot.org/uniprot/P02768>.,

[0125] Una "variante de albúmina" se refiere a una proteína de albúmina donde en una o más posiciones ha habido inserciones de aminoácido, deleciones o sustituciones, bien conservadoras o no conservadoras, siempre que tales cambios suponen una proteína de albúmina para la que al menos una propiedad básica, por ejemplo actividad de unión (tipo de y actividad específica por ejemplo unión a bilirrubina o un ácido graso tal como ácidos

10

grasos de cadena larga, por ejemplo oleico (C18:1), palmítico (C16:0), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0), araquidónico (C20:4) y/o palmitoleico (C16:1)), osmolaridad (presión oncótica, presión coloidosmótica), comportamiento en un (estabilidad de pH) rango de pH determinado no se ha cambiado significativamente. "Significativamente" en este contexto se refiere a que un experto en la técnica diría que las propiedades de la variante pueden ser todavía diferentes pero no serían discutibles sobre aquellas de la proteína original, por ejemplo la proteína de donde se deriva la variante.

Tales características se pueden utilizar como criterios de selección adicionales en la invención.

[0126] Típicamente, una variante de albúmina tendrá más del 40 %, normalmente al menos 50 %, más típicamente al menos 60 %, preferiblemente al menos 70 %, más preferiblemente al menos 80 %, aún más preferiblemente al menos 90 %, aún más preferiblemente al menos 95 %, de la forma más preferible al menos 98 % o más identidad de secuencia con una albúmina de origen natural tal como la SEQ ID n° 1.

El porcentaje de secuencia de identidad entre dos polipéptidos se puede determinar utilizando programas informáticos adecuados, por ejemplo, el programa GAP de University of Wisconsin Genetic Computing Group se calcula en relación con polipéptidos cuya secuencia ha sido alineada óptimamente.

El alineamiento puede efectuarse alternativamente utilizando el programa Clustal W o el programa Clustal V y, por lo tanto, permite el cálculo de % homología entre secuencias de un alineamiento múltiple y/o cálculo de % identidad entre secuencias de un alineamiento por pares.

Los parámetros usados pueden ser de la siguiente manera:

Parámetros de alineamiento de pareja rápida: tamaño K-tuple (palabra); 1, tamaño de la ventana; 5, penalización del espacio; 3, número de diagonales superiores; 5.

Método de calificación: x porcentaje.

Parámetros de alineamiento múltiples: penalización por apertura de espacio; 10, penalización por extensión de espacio; 0,05.

Matriz de puntuación: BLOSUM

Clustal W: parámetros de alineamiento en pareja: 'precisión lenta', penalización del espacio: 10, longitud del espacio: 0,1, matriz de peso de proteína: GONNET 250, matriz de peso de ADN: IUB.

Parámetros de alineamiento múltiple: penalización del espacio 10.00, penalización de longitud del espacio 0.20, secuencias divergentes de retraso (%) 30, peso de transición de ADN 0,50, matriz de peso de proteína = serie Gonnet, matriz de peso de ADN = IUB.

Clustal V: parámetros de alineamiento de pareja: Ktuple: 1, penalización del espacio: 3, ventana: 5, diagonales: 5; parámetros de alineamiento múltiple: penalización del espacio 10, penalización de longitud del espacio 10.

35 Sustitución conservadora

[0127] Como se utiliza en este caso, el término sustituciones de aminoácidos "conservadoras" se refiere a sustituciones hechas en el mismo grupo y que típicamente sustancialmente no afectan a la función de proteína.

Por "sustituciones conservadoras" se entienden combinaciones tales como Gly, Ala; Val, Ile, Leu; Asp, Glu; Asn, Arg; Ser, Thr; Lys, Arg; y Phe, Tyr.

Tales variantes pueden estar hechas por técnicas bien conocidas en la técnica, tales como por mutagénesis dirigida al sitio como se describe en la patente US n.º 4,302,386 expedida el 24 noviembre 1981 para Stevens.

[0128] En una forma de realización, el diagrama Venn de la figura 4 se puede utilizar para determinar sustituciones de aminoácidos conservadoras: usando la Fig. 4., se puede calcular una puntuación de mutación de conservación (que varía de 0 a 5).

Una puntuación de 0 es la conservación máxima, que, para cisteína, solo se asigna a sustitución de un residuo de cisteína con otro residuo de cisteína.

Para cambios de cualquier otro aminoácido a una cisteína, la puntuación puede ser 1, 2, 3, 4, 5.

Una puntuación de 1 es una sustitución más conservadora que una puntuación de 2, 3, 4 o 5.

Una puntuación de 5 se asigna a la conservación mínima entre un aminoácido sustituido y la cisteína.

La puntuación de 0 a 5 se calcula de la Fig. 4 como el número de bordes (es decir líneas) cruzados para ir de la cisteína al aminoácido apropiado.

Así, la puntuación para cisteína es 0, ya que ninguno de los bordes son cruzados.

Asimismo, la puntuación de ácido aspártico (D) es 3, ya que 3 bordes son cruzados.

[0129] La puntuación de mutación de conservación (respecto a la Fig. 4) para los 20 aminoácidos diferentes se define como (usando códigos de una sola letra para los aminoácidos): A=1, C=0, D=3, E=4, F=4, G=2, H=5, I=4, K=4, L=4, M=3, N=2, P=3, Q=3, R=5, S=1, T=1, V=3, W=3; Y=3.

Con referencia a las figuras 1, 5A, 5B, 5C y 5D, estas puntuaciones se proporcionan para cada uno de los residuos de aminoácidos en la columna marcada 'mutación conservada a cisteína'.

Utilizando los residuos de puntuación de mutación de conservación con una puntuación de 3 o menos, es decir, metionina de ácido aspártico, prolina, glutamina, valina, triptófano, tirosina, glicina, asparagina, alanina, serina y treonina se prefieren ya que estas están relativamente conservadas con cisteína.

Más preferidos son aquellos aminoácidos con una puntuación de 2 o menos, es decir, glicina, asparagina, alanina, serina, treonina.

Los más preferidos son aquellos con una puntuación de 1, es decir, alanina, serina, treonina.

De forma similar, utilizando el sistema de puntuación de mutación de conservación de la figura 4, los residuos con una puntuación de 4 o más, es decir, ácido glutámico, fenilalanina, isoleucina, lisina, leucina, histidina y arginina son menos preferidos y pueden no preferirse en absoluto.

5 [0130] Alternativamente o por añadidura, las sustituciones de aminoácidos "conservadoras" se refieren a sustituciones hechas en el mismo grupo, tal como en el grupo de aminoácidos básicos (tal como arginina, lisina, histidina), aminoácidos ácidos (tal como ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (tal como glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (tal como leucina, isoleucina, valina), aminoácidos aromáticos (tal como fenilalanina, triptófano, tirosina) y aminoácidos pequeños (tal como glicina, alanina, serina, treonina, metionina).

15 [0131] Por ejemplo, una sustitución conservadora de alanina-2 en la SEQ ID n.º 1 puede incluir glicina o serina. Las sustituciones no conservadoras abarcan sustituciones de aminoácidos en un grupo por aminoácidos en otro grupo. Por ejemplo, una sustitución no conservadora podría incluir la sustitución de un aminoácido polar para un aminoácido hidrofóbico.

Fragmento

20 [0132] El término "fragmento" como se utiliza en este caso incluye cualquier fragmento de albúmina en toda su longitud o un variante del mismo, mientras al menos una propiedad básica, por ejemplo actividad de unión (tipo de y actividad específica por ejemplo unión a bilirrubina), osmolaridad (presión oncótica, presión coloidosmótica), comportamiento en un rango de pH (estabilidad de pH) determinado no se ha cambiado significativamente. "Significativamente" en este contexto se refiere a que un experto en la técnica diría que las propiedades de la variante pueden todavía ser diferentes pero quisieran no ser discutibles sobre el aquellas de la proteína original.

25 Un fragmento será típicamente al menos 50 aminoácidos de largo.
Un fragmento puede comprender al menos un sub-dominio entero de albúmina.
Los dominios de HSA han sido expresados como proteínas recombinantes (Dockal et al., 1999, J. Biol. Chem., 274,29303-29310), donde el dominio I se definió como consistente en aminoácidos 1-197, el dominio II se definió como consistente en aminoácidos 189-385 y el dominio III se definió como consistente en aminoácidos 381-585.

30 El recubrimiento parcial de los dominios ocurre debido a la estructura de α -hélice extendida (h10-h1) que existe entre los dominios I y II, y entre dominios II y III (Peters, 1996, op. Cit., Table 2-4).
HSA también comprende seis subdominios (subdominios IA, IB, IIA, IIB, IIIA e IIIB).
El sub-dominio IA comprende aminoácidos 6-105, sub-dominio IB comprende aminoácidos 120-177, sub-dominio IIA comprende aminoácidos 200-291, sub-dominio IIB comprende aminoácidos 316-369, sub-dominio IIIA comprende aminoácidos 392-491 y sub-dominio IIIB comprende aminoácidos 512-583.

35 Un fragmento puede comprender una parte de uno o más dominios o subdominios tal como se ha definido anteriormente o cualquier combinación de aquellos dominios y/o subdominios.

40 Un fragmento puede comprender o consistir en al menos 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % de una albúmina o de un dominio de una albúmina.

[0133] Adicionalmente, se pueden utilizar las fusiones heterólogas únicas o múltiples que comprenden cualquiera de lo anterior; o fusiones heterólogas únicas o múltiples para albúmina, o una variante o fragmento de cualquiera de estas.

45 Tales fusiones incluyen fusiones de albúmina N-terminal, fusiones de albúmina C-terminal y co-N-terminal y fusiones de albúmina C-terminal como se ha ejemplificado por la WO 01/79271.

Homología

50 [0134] Las Figuras 2 y 3 muestran alineamientos de varias proteínas de familia de albúmina con HSA (SEQ ID n.º: 1), identificadas como 'P02768'.

Las secuencias proteínicas inducen la secuencia líder de albúmina.

Estos alineamientos pueden utilizarse para identificar regiones conservadas y residuos de aminoácidos correspondientes a aquellos seleccionados en HSA como se ha descrito anteriormente.

55 Uno o ambos alineamientos también pueden usarse para asignar una puntuación de homología para un residuo de aminoácido en una secuencia de albúmina.

[0135] Un ejemplo de tal procedimiento es el programa MegAlign (versión 8.0.2) desarrollado por DNASTAR Inc., parte del Lasergene suit, basado en Hein, J.J. (1990) "Unified approach to alignment and phylogenies." En Methods in Enzymology, Vol. 183: pp. 626-645.

60 Utilizando el método Jotun Hein y los ajustes de penalización de espacio = 11, penalización de longitud del espacio = 3 para alineamientos múltiples y KTUPLE = 2 para alineamientos en pareja se puede calcular una serie de valores de porcentaje de identidad.

65 Alternativamente, el método Clustal V y los ajustes de penalización de espacio = 10, longitud del espacio 10 para alineamientos múltiples y KTUPLE = 1.

La penalización del espacio = 3, ventana=5 y DIAGONAL=5 para alineamientos en pareja se puede calcular una

serie de valores de porcentaje de identidad.

Alternativamente, el método Clustal W y los ajustes de penalización de espacio = 10, penalización de longitud de espacio = 0,2, divergencia de retraso =30 transición de ADN =0,5 y usando series GONNET para matriz de peso de proteína e IUB para matriz de peso de ADN para alineamientos múltiples, y precisión lenta, penalización del espacio = 10, penalización de longitud del espacio = 0,1, y usando series GONNET para matriz de peso de proteína e IUB para matriz de peso de ADN para alineamientos en pareja, se puede calcular una serie de valores de porcentaje de identidad.

Alternativamente, el método Clustal V se puede utilizar (arriba).El alineamiento de dos secuencias de aminoácidos también se puede determinar usando el programa Needle del paquete EMBOSS (<http://EMBOSS.ORG>) versión 2.8.0.

El programa Needle implementa el algoritmo de alineamiento global descrito en Needleman y Wunsch (1970) "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins." J. Mol. Biol. 48,443-453.

La sustitución matricial usada es BLOSUM62, la penalización de abertura del espacio es 10 y la penalización por extensión de espacio es 0,5.

[0136] La Fig. 2 muestra un alineamiento de dieciséis proteínas de familia de albúmina mamífera incluyendo HSA (SEQ ID n.º: 1, identificados en el alineamiento como P02768) compilado usando el programa MegAlign (versión 8.0.2) basado en Clustal W.

Las secuencias proteínicas incluyen la secuencia líder de albúmina.

Cada una de las secuencia se marca con el animal de donde este deriva y su número de registro de base de datos.

[0137] La Fig. 3 muestra alineamientos de treinta y tres familias de albúmina (ambas mamíferas y no mamíferas) proteínas que incluyen HSA (SEQ ID n.º: 1, identificadas en el alineamiento como P02768) compilado usando el programa MegAlign (versión 8.0.2) basado en Clustal V.

Las secuencias proteínicas incluyen la secuencia líder de albúmina.

[0138] La homología se puede determinar con referencia a la Fig 2 y/o Fig 3.

El grado de identidad entre una secuencia de aminoácidos dada y la SEQ ID n.º: 1 se puede calcular como el número de coincidencias exactas en un alineamiento de las dos secuencias, dividido por la longitud de la más corta de las dos secuencias. El resultado se puede expresar en el porcentaje de identidad.

Una correspondencia exacta se produce cuando las dos secuencias tienen residuos de aminoácidos idénticos en las mismas posiciones del recubrimiento.

La longitud de una secuencia es el número de residuos de aminoácidos en la secuencia.

Conservación de residuos adyacentes

[0139] Además, los residuos de aminoácidos individuales de HSA se pueden clasificar según su conservación a los aminoácidos de otras proteínas de familia de albúmina en la misma posición.

La Figura 1, columna marcada `Align 1 (Mamm. W ('mamífero, Clustal W)) proporciona el nivel de homología a cada posición de la SEQ ID n.º: 1 como se ha calculado por el alineamiento de albúminas de mamífero dadas en la Fig. 2.

La puntuación de nivel de homología puede ser calculada.

Un método para la puntuación del nivel de homología, que se usa aquí, se calcula usando la fuerza del histograma proporcionado por el programa MegAlign (versión 8.0.2) (que varía de 0 a 100 %); seis niveles de homología se determinan con el máximo =100 %, disminuyendo en 20 % incrementos al mínimo (0 %) y mostrado por altura de barra en la figura 2.

Una puntuación de 100 es la conservación máxima e indica que no hay cambios en el residuo, cuando la secuencia de albúmina de suero de humano se compara con otra secuencia de albúmina mamífera, mientras que una puntuación de 0 indica el nivel mínimo de conservación entre las secuencias alineadas.

[0140] De forma similar, la puntuación de nivel de homología para cada residuo de aminoácido en HSA (figura 1, columna marcada `Align 2 (Var. esp. V ('varias especies (es decir, mamíferas y no mamíferas), Clustal V)) calculadas utilizando la fuerza del histograma proporcionado por Megalign cuando varias albúminas (incluyendo albúminas no mamíferas) se alinean utilizando Clustal V.

Un experto en la técnica apreciará que una gama de diferentes secuencias de albúmina y algoritmos de alineamiento se pueden utilizar para calcular la puntuación de nivel de homología.

[0141] Cuando se usan las puntuaciones de homología, tales como las descritas en referencia a los alineamientos de las Figs 2 y 3, para identificar residuos candidatos para la presente invención, los residuos preferidos incluyen los que no se conservan altamente (por ejemplo aquellos con una puntuación inferior a 40, más preferiblemente menos del 20 y de la forma más preferible 0) se prefieren y aquellos con un nivel más alto de homología (por ejemplo aquellos con una puntuación superior a 40, más del 60, más del 80 y de la forma más preferible 100) son menos preferidos.

[0142] Cada uno de los residuos de aminoácido en HSA (SEQ ID n° 1) fueron marcados según si el residuo adyacente fue altamente (100 %) conservado cuando HSA se alinea con albúminas mamíferas (figura 1, columna marcada 'Adj. 100 %' (Align 1)).

Esto es porque si un aminoácido está dentro de un dominio conservado altamente, puede ser importante para la estructura de función de la proteína y así la interrupción puede ser indeseable.

En la figura 1, una puntuación de 0 indica que el residuo no es adyacente en cualquier residuo con 100 % de homología (con referencia al alineamiento de la figura 2) cuando HSA se alinea con albúminas mamíferas; una puntuación de 1 indica que el residuo es adyacente a un residuo con 100 % de homología cuando HSA se alinea con albúminas mamíferas; una puntuación de 2 indica que el residuo es adyacente a dos residuos con 100 % de homología cuando HSA se alinea con albúminas mamíferas.

Los residuos con una puntuación de 0 o 1 son preferidos.

Los residuos con una puntuación de 0 son además preferidos.

[0143] Por ejemplo, los residuos de aminoácidos con una puntuación de 2 (tal como valine-7 (V7)) son preferiblemente deseleccionados utilizando el método de la invención, ya que estos residuos de aminoácidos fueron asumidos para producirse en una región de alta homología que sería improbable para aceptar una mutación para un aminoácido alternativo.

De forma similar, fenilalanina-11 (F11) es adyacente a un residuo conservado 100 %, en una región de residuos conservados, y es menos preferido a un residuo, tal como alanina-2 (A2), que no tiene ningún residuo adyacente 100 % conservado.

[0144] Conforme a la invención, información adicional tal como sitios preferidos para inserción, deleciones o sustituciones también se puede obtener por análisis de alineamiento.

Por ejemplo, la albúmina de ratón contiene 36 residuos de cisteína, todas las cisteínas implicadas en la unión de disulfuro (por homología para HSA) están presentes, como es cisteína-34, sin embargo, un residuo de cisteína está presente a 579 en la proteína de ratón madura pero no se pueden preferir otras secuencias de albúmina mamíferas, por lo tanto, muteína de tío albúmina S579C, ya que su falta de homología con otras albúminas mamíferas sugiere que esta no puede ser importante particularmente para la estructura y/o función de esta albúmina.

[0145] Además, utilizando los alineamientos de varias familias de albúmina mamífera y Clustal W (Fig. 2) muestra que en comparación con otras albúminas mamíferas, la albúmina de jerbo tiene un residuo de alanina adicional entre alanina-2 (A2) e histidina-3 (H3), lo que indica que se prefiere la inserción de unos residuos de cisteína después del residuo 2 (por ejemplo A2 de la SEQ ID n.º: 1) y antes del residuo 3 (por ejemplo H3 de la SEQ ID n.º: 1).

[0146] En comparación con otras albúminas mamíferas, la albúmina de cobaya tiene un residuo serínico en cisteína-34 (C34).

En ejemplos donde se requiere la deleción del grupo tiol libre en cisteína-34, una mutación tal como C34S puede ser preferida.

[0147] Muchas secuencias de albúmina mamífera (con la excepción de albúmina de suero de humano) tienen una secuencia que es menor que o igual a 584 aminoácidos en la longitud (menos de o igual a 608 aminoácidos incluyendo secuencia líder).

Utilizando el alineamiento en la Fig. 2, el residuo de aminoácido adicional presente en albúmina de suero humano aparece estar en el C-terminal sin residuos de aminoácidos de alineamiento cognado en las otras secuencias de albúmina de suero mamífero.

Así, se pueden preferir una variante de tío albúmina que contiene G584C y una deleción de L585.

[0148] Un número de secuencias de albúmina (bovina, asno, cabra, caballo, oveja, cerdo) son 583 aminoácidos en la longitud (607 aminoácidos incluyendo secuencia líder).

Utilizando el alineamiento en la Fig. 2, se puede observar que estas secuencias de albúmina de especies no tienen un residuo correspondiente R117 (R141 incluyendo secuencia líder) por lo tanto, una tío albúmina que contiene V116C y una deleción de R117 o una tío albúmina con una deleción de R117 y P118C puede ser preferida.

En tal tío albúmina, la longitud de la secuencia de aminoácidos sería reducida con respecto a la SEQ ID n° 1.

[0149] El alineamiento usado en la Fig. 2 y las conclusiones extraídas son en particular con referencia a albúminas mamíferas y Clustal W, la persona experta apreciará que la enseñanza se aplica asimismo a otros miembros de la familia de albúmina y a algoritmos de alineamiento alternativos.

Alineamiento e identidad

[0150] La variante de albúmina puede tener al menos 40 % de identidad con la SEQ ID n.º: 1, particularmente, al menos 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad.

[0151] La identidad se puede calcular utilizando cualquier método, por ejemplo aquellos descritos aquí.

Conjugación

[0152] La tio albúmina puede ser opcionalmente fusionada con una o más parejas de conjugación por ejemplo a través de una fusión genética o química.

Para una tio albúmina que comprende una fusión genética, la fusión puede estar en el N- o C-terminal o comprender una inserción.

[0153] Con respecto a las fusiones genéticas de albúmina, la persona experta también apreciará que el marco abierto de lectura de cualquier otro gen o variante, o una parte o cualquiera de los dos, se puede utilizar como un marco abierto de lectura para uso con la presente invención.

Por ejemplo, el marco abierto de lectura puede codificar una proteína que comprende cualquier secuencia, esta es una proteína natural (incluyendo un zimógeno) o una variante o un fragmento (que puede, por ejemplo, ser un dominio) de una proteína natural; o una proteína sintética totalmente; o una fusión única o múltiple de diferentes proteínas (naturales o sintéticas).

Tales proteínas se pueden tomar, pero no exclusivamente, de las listas proporcionadas en la WO 01/79258, WO 01/79271, WO 01/79442, WO 01/79443, WO 01/79444 y WO 01/79480 o una variante o fragmento de la misma.

Aunque estas solicitudes de patente presentan la lista de proteínas en el contexto de socios de fusión para albúmina, la presente invención no está tan limitada y, para los fines de la presente invención, cualquiera de las proteínas enumeradas en estos se pueden presentar solas o como parejas de fusión para albúmina o cualquier otra proteína o fragmento o variante de cualquiera de la anterior, como un polipéptido deseado.

Los ejemplos de fusiones de sustancia química (conocida también como conjugaciones) de albúmina se dan en Leger et al. (2004) *Bioorg Med Chem Lett* 14(17): 4395-8; y Thibaudeau et al. (2005). *Bioconjug Chem* 16(4): 1000-8.

[0154] Una ventaja del uso de una albúmina fusionada genéticamente o químicamente es que una de ellas o todas las moléculas que contribuyen a la fusión pueden tener propiedades mejoradas relativamente a las molécula(s) no-fundidas (Balan et al. (2006) *Antivir Ther* 11(1): 35-45).

Las albúminas y partículas de albúmina son importantes también para distribuir fármacos y profármacos a sus sitios de acción (Kratz, F. (2008) *Journal of Controlled Release*, 132 (3), p.171-183).

Fusión y tecnologías de partícula ofrecen regímenes de dosificación mejorada debido a propiedades farmacocinéticas mejoradas, tales como extensión de semivida y puede mejorar la biodisponibilidad y proteger la pareja de conjugación fusionada, por ejemplo molécula bioactiva, de inactivación.

El polipéptido puede mostrar (por ejemplo reducido) la glicosilación modificada, tal como, pero no limitada a glicosilación N-enlazada reducida o glicosilación O-enlazada reducida.

El modelo de glicosilación N-enlazada de una molécula de albúmina se puede modificar por las secuencias de consenso de glicosilación de aminoácido de adición/eliminación tal como n-X-S/T, en cualquiera o todas las posiciones N, X o S/T.

Los polimorfismos de albúmina existen con glicosilación N-enlazada.

Los mutantes de albúmina pueden tener tiempo de reciclaje de manera que se mejora la eficacia de un mutante como un portador bioactivo.

Las proteínas expresadas de forma recombinante pueden estar sujetas a modificaciones postraduccionales indeseables por la producción de célula huésped.

Por ejemplo, la secuencia de proteína de albúmina de la SEQ ID n.º: 1 no contiene cualquier sitio para glicosilación N-enlazada y no ha sido proporcionada para ser modificada, en la naturaleza, por glicosilación O-enlazada.

Sin embargo, se ha descubierto que la albúmina de humano recombinante ("rHA") producida en un número de especies de levadura se pueden modificar por glicosilación O-enlazada, generalmente implicando manosa.

La albúmina manosilada es capaz de enlazar con la lectina concanavalina A.

La cantidad de albúmina manosilada producida por la levadura se puede reducir usando una cepa de levadura deficitaria en uno o más de los genes PMT (WO 94/04687).

La vía más conveniente de la realización de esta es crear una levadura que tenga un defecto en su genoma de manera que se produzca un nivel reducido de una de las proteínas Pmt.

Por ejemplo, puede haber una delección, inserción o trasposición en la secuencia de codificación o las regiones reguladoras (o en otro reglaje de gen de la expresión de uno de los genes PMT) de manera que se produzca una pequeña proteína Pmt o ninguna.

Alternativamente, la levadura podría ser transformada para producir un agente anti-Pmt, tal como un anticuerpo anti-Pmt.

[0155] Si se usa una levadura diferente de la *S. cerevisiae*, la interrupción de uno o más de los genes equivalentes a los genes PMT de *S. cerevisiae* también es beneficioso, por ejemplo en la *Pichia pastoris* o *Kluyveromyces lactis*.

La secuencia de PMT1 (o cualquier otro gen PMT) aislada de *S. cerevisiae* se puede utilizar para la identificación o interrupción de genes que codifican actividades enzimáticas similares en otras especies fúngicas.

La clonación del PMT1 homólogo de *Kluyveromyces lactis* se describe en la WO 94/04687.

[0156] La etapa de "purificación de la proteína heteróloga expresada de la célula huésped cultivada o el medio de cultivo" opcionalmente comprende la inmovilización celular, separación celular y/o rotura celular, pero siempre comprende al menos otro paso de purificación diferente del paso o pasos de inmovilización celular, separación y/o rotura.

[0157] Las técnicas de inmovilización celular, tal como recubrimiento de las células usando perlas de alginato de calcio se conocen en la técnica. De forma similar, las técnicas de separación celular, tales como centrifugación, filtración (por ejemplo, filtración de flujo transversal, cromatografía de lecho expandido y similar se conocen bien en la técnica. Asimismo, los métodos de rotura de célula, que incluyen molienda de vidrio, sonicación, exposición enzimática y similar se conocen bien en la técnica.

[0158] Al menos otro paso de purificación puede ser cualquier otro paso adecuado para la purificación de proteína conocida en la técnica. Por ejemplo, las técnicas de purificación para la recuperación de albúmina expresada de forma recombinante se han descrito en: WO 92/04367, eliminación de tinte derivado de matriz; EP 464 590, eliminación de colorantes derivados de levadura; EP 319 067, precipitación alcalina y aplicación posterior de la albúmina a una fase lipofílica; y la WO 96/37515, US 5 728 553 y WO 00/44772, que describen procesos de purificación completos.

Producción de albúmina competente de conjugación ("tio-albúmina")

[0159] La tio albúmina o fusiones de tio albúmina y otra proteína o proteínas se pueden preparar por métodos conocidos en la técnica (Sanker; (2004), Genetic Eng. News, 24,22-28, Schmidt, (2004), Appl. Microbiol. Biotechnol., 65,363-372) que incluye pero no está limitado a la expresión en el cultivo celular mamífero (Mason et al., (2004), protein Expr. Purif., 36,318-326; Mason et al., (2002), Biochemistry, 41,9448-9454) de líneas celulares, tales como CHO (y sus variantes), NS0, BHK, HEK293, Vero o células PERC6 por transformación o expresión transitoria; cultivo celular de insecto (Lim et al., (2004) Biotechnol. Prog., 20,1192-1197); cultivo de célula vegetal de tales plantas como Lemna u Oryza sativa; animales transgénicos (Dyck et al., (2003) Trends in Biotechnology, 21,394-399); plantas transgénicas (Ma et al., (2003) Nature Reviews Genetics, 4,794-805); bacterias gram negativas y gram positivas tales como *Bacillus* y *Escherichia coli* (Steinlein, e Ikeda, (1993), encima Microb. Technol., 15,193-199); hongos filamentosos que incluyen pero no están restringidos a *Aspergillus spp* (EP 238023, US 5,364,770, US 5,578,463; EP184438; EP284603, WO 2000/056900; WO9614413), *Trichoderma spp* y *Fusarium spp* (Navalainen et al., (2005), Trends in Biotechnology, 23, 468-473).

[0160] La célula huésped puede ser cualquier tipo de célula.

La célula huésped puede ser o no un animal (tal como mamífero, aviar, insecto, etc.), planta (tal como *Oryza sativa*), célula fúngica o bacteriana.

Bacteriano y fúngico, tal como levadura, las células huésped pueden ser o no preferidas.

[0161] Plásmidos de vector procariótico típicos son: pUC18; pUC19; pBR322 y pBR329 disponible de laboratorios de Biorad (Richmond, CA, USA); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3; pDR540 y pRIT5 disponible de farmacia (PISCATAWAY, NJ, USA); vectores pBS, vectores Phagescript, vectores Bluescript, pNH8A, pNH16A, pNH18A, pNH46A disponible de Stratagene Cloning Systems (La Jolla, CA 92037, USA).

[0162] Un plásmido de vector de célula de mamífero típico es pSVL disponible de farmacia (Piscataway, NJ, USA).

Este vector usa el promotor tardío SV40 para conducir expresión de genes clonados, el nivel de máximo de expresión se encuentra en T células de producción de antígeno, tales como células COS-1.

Un ejemplo de un vector de expresión de mamífero inducible es pMSG, disponible también de Pharmacia (Piscataway, NJ, USA).

Este vector usa el promotor inducible de glucocorticoide de la repetición de terminal largo de virus de tumor mamario de ratón para conducir la expresión del gen clonado.

[0163] Métodos bien conocidos por los expertos en la técnica pueden utilizarse para vectores de expresión de construcción con la secuencia de codificación y, por ejemplo controles transcripcionales o traslacionales apropiados.

Tal método implica el ligamiento vía extremos cohesivos.

Los extremos cohesivos compatibles se pueden generar en el fragmento de ADN y el vector por la acción de enzimas de restricción adecuadas.

Estos extremos rápidamente templarán mediante bases complementarias emparejando y dejando las incisiones que se pueden cerrar por la acción de DNA-ligasa.

[0164] Otro método usa enlaces oligonucleótidos bicatenarios sintéticos y adaptadores.

Los fragmentos de ADN con extremidades redondeadas se generan por polimerasa T4 ADN bacteriófaga o *E.coli* ADN polimerasa I que eliminan los 3' terminales salientes y llenan 3' extremidades encajadas.

Los enlaces sintéticos y piezas de DNA bicatenario con extremos redondeados que contienen secuencias de reconocimiento para enzimas de restricción definidas se pueden ligar a fragmentos de ADN con extremos redondeados por T4 DNA-ligasa.

Estos son posteriormente digeridos con enzimas de restricción apropiadas para crear extremos cohesivos y ligados a un vector de expresión con terminales compatibles.

Los adaptadores son fragmentos de ADN sintetizados también químicamente que contienen un extremo redondeado usado para el ligamiento pero que también poseen un extremo cohesivo preformado.

Alternativamente, un fragmento de ADN o fragmentos de ADN se pueden ligar juntos por la acción de DNA-ligasa en presencia o ausencia de uno o más oligonucleótidos bicatenarios sintéticos opcionalmente que contienen extremos cohesivos.

[0165] Los enlaces sintéticos con una variedad de sitios de endonucleasa de restricción están disponibles comercialmente a partir de un número de fuentes que incluyen Sigma-Genosys Ltd, London Road, Pampisford, Cambridge, United Kingdom.

[0166] La tio albúmina o fusiones de tio albúmina y otra proteína o proteínas se pueden expresar a partir de una secuencia de nucleótidos, que pueden o no contener uno o más intrones.

Adicionalmente, la secuencia de nucleótidos puede o no ser codón optimizado para el huésped por métodos conocidos por la técnica.

[0167] La tio albúmina o fusiones de tio albúmina y otra proteína o proteínas se pueden expresar como variantes con glicosilación N-enlazada reducida.

Por consiguiente, en caso de albúmina de suero humano (HSA), puede ser particularmente ventajoso usar una levadura deficiente en una o más transferasas de manosil de proteína implicadas en la O-glicosilación de proteínas, por ejemplo por interrupción de la secuencia de codificación de gen.

Las proteínas recombinantes expresadas pueden estar sujetas a modificaciones postraduccionales indeseables por la producción de célula huésped.

La albúmina manosilada sería capaz de enlazar con la lectina concanavalina A.

La cantidad de albúmina manosilada producida por la levadura se puede reducir usando una cepa de levadura deficiente en uno o más de los genes PMT (WO 94/04687).

La vía más conveniente de la realización de esta es crear una levadura que tenga un defecto en su genoma, de manera que se produce un nivel reducido de una de las proteínas Pmt.

Por ejemplo, allí puede ser o no una delección, inserción o trasposición en la secuencia de codificación o las regiones reguladoras (o en otro gen que regule la expresión de uno de los genes PMT) de manera que se produzca una pequeña proteína Pmt o ninguna.

Alternativamente, la levadura podría ser transformada para producir un agente anti-Pmt, tal como un anticuerpo anti-Pmt.

Alternativamente, la levadura podría ser cultivada en presencia de un compuesto que inhibe la actividad de uno de los genes PMT (Duffy et al, "Inhibition of protein mannosyltransferase 1 (PMT1) activity in the pathogenic yeast *Candida albicans*", International Conference on Molecular Mechanisms of Fungal Cell Wall Biogenesis, 26-31 August 2001, Monte Verita, Switzerland, Poster Abstract P38 el resumen de cartel se puede ver en <http://www.micro.biol.etz.ch/cellwall/>).

Si se usa una levadura diferente de la *S. cerevisiae*, la interrupción de uno o más de los genes equivalentes a los genes PMT de *S. cerevisiae* también es beneficiosa, por ejemplo, en la *Pichia pastoris* o *Kluyveromyces lactis*.

La secuencia PMT1 (o cualquier otro gen PMT) aislada de *S. cerevisiae* se puede utilizar para la identificación o interrupción de genes que codifican actividades enzimáticas similares a otras especies fúngicas.

La clonación del PMT1 homólogo de *Kluyveromyces lactis* se describe en la WO 94/04687.

[0168] La levadura puede también o no tener una delección de los genes HSP150 y/o YAP3 como se ha enseñado respectivamente en la WO 95/33833 y WO 95/23857.

[0169] La variante HSA se puede producir por expresión recombinante y secreción.

Donde el sistema de expresión (es decir, la célula huésped) es levadura, tal como *Saccharomyces cerevisiae*, los promotores adecuados para *S. cerevisiae* incluyen aquellos asociados al gen PGK1, GAL1 o genes GAL10, TEF1, TEF2, PYK1, PMA1, CYC1, PHO5, TRP1, ADH1, ADH2, los genes para gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa, hexoquinasa, piruvato Descarboxilasa, fosfofructoquinasa, triosa fosfato isomerasa, glucosa-6-fosfato-isomerasa, glucoquinasa, de factor de (-mating feromona, factor a-mating feromona, el PRB1 promotor, el PRA1 promotor, el GPD1 promotor y promotores híbridos que implican híbridos de partes de 5' regiones reguladoras con partes de 5' regiones reguladoras de otros promotores o con sitios de activación aguas arriba (por ejemplo, el promotor de EP-A-258 067).

[0170] Las señales de terminación de transcripción adecuadas se conocen en la técnica. Donde la célula huésped es eucariótica, la señal de terminación de transcripción preferiblemente se deriva de la 3' secuencia flanqueante de un gen eucariota, que contiene señales apropiadas para la terminación de transcripción y poliadenilación.

Las 3' secuencias flanqueantes adecuadas pueden ser, por ejemplo, aquellas del gen naturalmente enlazado a la

secuencia de control de expresión usada, es decir, puede corresponder al promotor. Alternativamente, estos pueden ser diferentes.

En este caso y donde el huésped es una levadura, preferiblemente *S. cerevisiae*, luego la señal de terminación de los genes *S. cerevisiae* ADH1, ADH2, CYC1 o PGK1 son preferidos.

5

[0171] Puede ser beneficioso para el promotor y marco abierto de lectura del gen que codifica la proteína recombinante que comprende la secuencia de un mutante de albúmina que se debe flanquear por secuencias de terminación de transcripción, de modo que las secuencias de terminación de transcripción se localizan ambas aguas arriba y abajo del promotor y el marco abierto de lectura, para prevenir la translectura transcripcional en cualquier gen vecino, tal como los genes 2μ ms y viceversa.

10

[0172] En una forma de realización, las secuencias reguladoras favorecidas en la levadura, tal como *Saccharomyces cerevisiae*, incluyen: un promotor de levadura (por ejemplo el *Saccharomyces cerevisiae* PRB1 promotor), como se ha enseñado en la EP 431 880; y un terminador de transcripción, preferiblemente, el terminador de *Saccharomyces* ADH1, como se ha enseñado en la EP 60 057.

15

[0173] Puede ser beneficioso para la región no codificante incorporar más de una secuencia de ADN que codifica un codón de terminación traslacional, tal como UAA, UAG o UGA, para minimizar la translectura traslacional y así evitar la producción de proteínas de fusión alargadas no naturales. Se prefiere el codón de terminación de traducción UAA.

20

[0174] En una forma de realización preferida, se secreta la proteína recombinante que comprende la secuencia de una mutante de albúmina.

En este caso, una secuencia que codifica una secuencia líder de secreción se puede incluir en el marco abierto de lectura. Así, un polinucleótido según la presente invención puede comprender una secuencia que codifica una proteína recombinante que comprende la secuencia de una albúmina mutante operativamente enlazada a una secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia líder de secreción.

25

Las secuencias líder normalmente, aunque no necesariamente están localizadas en el N-terminal del producto de traducción primaria de un ORF y generalmente, aunque no necesariamente separadas de la proteína durante el proceso de secreción, para producir la proteína "madura".

30

Así, en una forma de realización, el término "operativamente vinculado" en el contexto de secuencias líder incluye el significado de que la secuencia que codifica una proteína recombinante que comprende la secuencia de un mutante de albúmina está enlazada a su 5' extremo y dentro del marco de lectura, al 3' extremo de una secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia líder de secreción.

35

Alternativamente, la secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia líder de secreción puede estar situada en el marco de la secuencia de codificación de la proteína recombinante que comprende la secuencia de un mutante de albúmina o en el 3' extremo de la secuencia de codificación de la proteína recombinante que comprende la secuencia de un mutante de albúmina.

40

[0175] Las secuencias líder de polipéptido naturales o artificiales (también llamada secreción pre regiones y pre/pro regiones) se ha usado o desarrollado para segregar proteínas de secreción de células huésped. Las secuencias líder dirigen una proteína naciente hacia la maquinaria de la célula que exporta proteínas de la célula en el medio circundante o, en algunos casos, en el espacio periplásmico.

45

[0176] Para la producción de proteínas en especies eucarióticas tal como las levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, especies *Zygosaccharomyces*, *Kluyveromyces lactis* y *Pichia pastoris*, se puede utilizar una secuencia líder de secreción. Esto puede comprender una señal (pre) secuencia o un prepro secuencia líder.

Las secuencias de señal se conocen por ser heterogéneas en su secuencia de aminoácidos (Nothwehr y Gordon 1990, Bioessays 12,479-484 o Gierasch 1989, Biochemistry 28, p923-930).

50

En esencia, las secuencias de señal están generalmente situadas N-terminal, tienen una n-región, una h-región hidrofóbica y una c-región polar.

En tanto que esta estructura se retiene, la secuencia señal trabajará sin tener en cuenta la composición de aminoácido. Lo bien que estos trabajan, es decir, la cantidad de proteína madura secretada depende de la secuencia de aminoácidos. Por consiguiente, el término "péptido señal" se entiende que significa una presecuencia que es predominantemente hidrofóbica en la naturaleza y presente como una secuencia N-terminal de la forma precursora de una proteína extracelular expresada en la levadura. La función del péptido señal es permitir que la proteína expresada se segregue para introducir el retículo endoplasmático.

55

El péptido señal normalmente se separa en el curso de este proceso.

El péptido señal puede ser heterólogo u homólogo al organismo de levadura que produce la proteína.

60

Las secuencias líder conocidas incluyen aquellas de la proteína de fosfatasa ácida de *S. cerevisiae* (Pho5p) (ver EP 366 400), la proteína de invertasa (Suc2p) (ver Smith et al. (1985) Science, 229,1219-1224) y choque térmico proteína-150 (Hsp150p) (ver WO 95/33833).

Adicionalmente, se han usado las secuencias líder de proteína de factor de acoplamiento de alpha-1 (MF(-1) de *S. cerevisiae* y desde la lisozima humana y proteína (HSA) de albúmina de suero humano, la última se ha usado especialmente, aunque no exclusivamente para la secreción de albúmina de humano.

65

La WO 90/01063 divulga una fusión del MF(-1) y secuencias líder HSA (conocidas también como la secuencia

líder de fusión (FL)). Además, la secuencia líder de albúmina natural se puede usar o no para secreción directa de la proteína recombinante que comprende la secuencia de un mutante de albúmina.

5 [0177] La persona experta apreciará que cualquier plásmido adecuado puede ser utilizado, tal como un plásmido centromérico. Los ejemplos proporcionan plásmidos adecuados (vectores centroméricos basados YCplac33) para uso para transformar células huésped de levadura de la presente invención. Alternativamente, se puede utilizar cualquier otro plásmido adecuado, tal como un plásmido 2µm-basado compatible con levadura.

10 [0178] Los plásmidos obtenidos de una levadura tipo se pueden mantener en otros tipos de levadura (Irie et al, 1991, Gene, 108(1), 139-144; Irie et al, 1991, Mol.Gen.Genet., 225(2), 257-265).

Por ejemplo, pSR1 de *Zygosaccharomyces rouxii* se puede mantener en el *Saccharomyces cerevisiae*.

15 En una forma de realización del plásmido puede ser o no un plásmido de familia de 2µm y la célula huésped será compatible con el plásmido de familia de 2µm usado (ver debajo para una descripción completa de los siguientes plásmidos).

Por ejemplo, donde el plásmido se basa en pSR1, pSB3 o pSB4 luego una célula de levadura adecuada es *Zygosaccharomyces rouxii*; donde el plásmido se basa en pSB1 o pSB2 luego una célula de levadura adecuada es *Zygosaccharomyces bailli*; donde el plásmido se basa en pSM1 luego una célula de levadura adecuada es *Zygosaccharomyces fermentati*; donde el plásmido se basa en pKD1 luego una célula de levadura adecuada es *Kluyveromyces drosophilum*; donde el plásmido se basa en pPM1 luego una célula de levadura adecuada es *Pichia membranaefaciens*; donde el plásmido se basa en el 2µm plásmido luego una célula de levadura adecuada es *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces carlsbergensis*.

20 Así, el plásmido se puede basar en el 2µm plásmido y la célula de levadura puede ser *Saccharomyces cerevisiae*.

25 Un plásmido de 2µm-familia se puede decir que está "basado en" un plásmido de origen natural si esta comprende uno, dos o preferiblemente tres de los genes FLP, REP1 y REP2 con secuencias derivadas de este plásmido de origen natural.

30 [0179] Los vectores plásmídicos episómicos de levadura útiles son pRS403-406 y pRS413-416 y están disponibles generalmente de sistemas de clonación de Stratagene (La Jolla, CA 92037, EE.UU.), YEp24 (Botstein, D., et al. (1979) Gene 8,17-24), y YEplac122; YEplac195 y YEplac181 (Gietz, R.D. y Sugino. A. (1988) Gene 74,527-534).

35 Otros plásmidos de levadura se describen en la WO 90/01063 y EP 424 117, al igual que los "vectores de desintegración de la EP-A-286 424 y WO2005061719. Los plásmidos pRS403; pRS404; pRS405 y pRS406 son plásmidos de integración de levadura (Yíps) e incorporan los marcadores seleccionables de levadura HIS3, TRP1, LEU2 y URA3, como son Ylplac204; Ylplac211 y Ylplac128 (Gietz, R.D. Y Sugino. A. (1988) gen 74,527-534). Plásmidos pRS413-416 son plásmidos centromeros de levadura (YCps) como son YCplac22; YCplac33 y YCplac111 (Gietz, R.D. Y Sugino. A. (1988) Gene 74,527-534).

40 [0180] Donde uno o más del auxiliar (conocido también como 'chaperona') proteína(s) y/o producto proteínico de elección se codifican por una secuencia de polinucleótidos transmitida por plásmido, el tipo de célula huésped se puede seleccionar para compatibilidad con el tipo de plásmido usado.

Tales plásmidos se describen en la WO2005061719.

45 Las proteínas auxiliares preferidas incluyen PDI1, AHA1; ATP11, CCT2, CCT3, CCT4, CCT5, CCT6, CCT7, CCT8, CNS1, CPR3, CPR6, DER1, DER3, DOA4, ERO1, EUG1, ERV2, EPS1, FKB2, FMO1, HCH1, HRD3; HSP10; HSP12; HSP104; HSP26; HSP30; HSP42; HSP60; HSP78; HSP82, KAR2, JEM1, MDJ1, MDJ2, MPD1, MPD2, PDI1, PFD1, ABC1, APJ1; ATP11; ATP12, BTT1; CDC37, CPR7; HSC82, KAR2, LHS1, MGE1; MRS11, NOB1; ECM10, SCJ1, SSA1, SSA2, SSA3, SSA4, SSB1, SSB2, SSC1, SSE2, SIL1, SLS1, ORM1, ORM2, PER1, PTC2, PSE1, UBC7, UBI4 y HAC1 o un sin intrón truncado HAC1 (Valkonen et al. 2003, Applied Environ. Micro., 69,2065).

50 Tales proteínas auxiliares se describen en la WO 2005/061718, WO 2006/067511 y WO 2006/136831.

[0181] Los plásmidos tal y como se definen aquí se pueden introducir en una huésped a través de técnicas estándar.

55 Con respecto a transformación de células huésped procarióticas, ver, por ejemplo, Cohen et al (1972) Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU 69,2110 y Sambrook et al (2001) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY. La transformación de células de levadura se describe en Sherman et al (1986) Methods In Yeast Genetics, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY. El método de Beggs (1978) Nature 275,104-109 es útil también.

60 Los métodos para la transformación de *S. cerevisiae* se enseñan generalmente en la EP 251 744, EP 258 067 y la WO 90/01063.

Con respecto a células de vertebrado, los reactivos útiles en la transfección de tales células, por ejemplo, fosfato cálcico y dextrana DEAE o formulaciones de liposoma están disponibles de sistemas de clonación de Stratagene o Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD 20877, EE.UU.

65 [0182] La electroporación es útil también para la transformación de células y es bien conocida en la técnica para

la transformación fúngica (incluyendo levadura) célula, células vegetales, células bacterianas y células animales (incluyendo vertebrados).

Métodos para transformación de levadura por electroporación se describen en Becker & Guarente (1990) *Methods Enzymol.* 194, 182.

5

[0183] Generalmente, el plásmido no transformará todos los huéspedes y, por lo tanto, no será necesario seleccionar para células huésped transformadas. Así, un plásmido puede comprender una etiqueta seleccionable, incluyendo pero no de forma limitada un marcador seleccionable bacteriano y/o una etiqueta seleccionable de levadura.

10

Una etiqueta seleccionable bacteriana típica es el gen de β -lactamasa aunque muchos otros se conocen en la técnica. El marcador seleccionable de levadura típico incluye LEU2, TRP1, HIS3, HIS4, URA3, URA5, SFA1, ADE2; MET15, LYS5, LYS2, ILV2, FBA1, PSE1, PDI1 y PGK1.

15

Los expertos en la técnica apreciarán que cualquier gen cuya delección cromosómica o inactivación produce un huésped no viable, así llamados genes esenciales, se puede usar como una etiqueta selectiva si se prevé un gen funcional en el plásmido, como se ha demostrado para PGK1 en una pgk1 cepa de levadura (Piper y Curran, 1990, *Curr.Genet.* 17,119).

20

Los genes esenciales adecuados se pueden encontrar en el Stanford Genome Database (SGD), (<http://db.yeastgenome.org>). Cualquier producto génico esencial (por ejemplo PDI1, PSE1, PGK1 o FBA1) que, cuando se elimina o inactiva, no supone un requisito (biosintético) auxotrófico, se puede usar como una etiqueta seleccionable en un plásmido en una célula huésped que, en ausencia del plásmido, es incapaz de producir ese producto génico, para conseguir estabilidad de plásmido aumentada sin la desventaja de requerir la célula que se debe cultivar bajo condiciones selectivas específicas.

25

Por "requerimiento auxotrófico (biosintético)" incluimos una deficiencia que se puede complementar por adiciones o modificaciones al medio de crecimiento.

30

Por lo tanto, preferido "genes marcadores esenciales" en el contexto de la presente aplicación son aquellos que, cuando se eliminan o inactivan en una célula huésped suponen una deficiencia que no se puede complementar por adiciones o modificaciones al medio de crecimiento.

35

Adicionalmente, un plásmido puede comprender más de un marcador seleccionable.

40

[0184] Las células huésped transformadas se pueden cultivar durante un tiempo suficiente y bajo condiciones apropiadas conocidas por los expertos en la técnica, y en vistas de las instrucciones descritas aquí, para permitir la expresión de las proteína(s) auxiliares y el producto proteínico de elección.

45

[0185] El medio de cultivo puede ser no selectivo o situar una presión selectiva en el mantenimiento de un plásmido.

50

[0186] Los métodos para las células huésped procarióticas de cultivo, tal como E. Coli y células huésped eucarióticas, tales como células mamíferas se conocen en la técnica. Los métodos para el cultivo de levadura generalmente se muestran en la EP 330 451 y EP 361 991.

55

[0187] El producto proteínico producido así de elección puede estar presente intracelularmente o, si se segrega, en el medio de cultivo y/o espacio periplásmico de la célula huésped.

60

Preparación de un polipéptido

65

[0188] La etapa de "purificación del producto de proteína de elección expresado de esta forma de la célula huésped cultivada, organismo recombinante o medio de cultivo" opcionalmente comprende inmovilización celular, separación celular y/o rotura celular, pero siempre comprende al menos otro paso de purificación diferente del paso o pasos de inmovilización celular, separación y/o rotura.

70

[0189] Tio albúmina de la invención se puede purificar del medio de cultivo por cualquier técnica que se ha encontrado para ser útil para la purificación de tales proteínas.

75

De forma similar, las técnicas de separación celular, tales como centrifugación, filtración (por ejemplo filtración de flujo transversal, cromatografía de lecho expandido y similar) se conocen en la técnica. Asimismo, los métodos de rotura de célula, incluyendo moloienda de vidrio, sonicación, exposición enzimática y similar se conocen bien en la técnica.

80

[0190] "Al menos un paso de purificación" puede ser cualquier otro paso adecuado para la purificación de proteína conocida en la técnica. Por ejemplo, las técnicas de purificación para la recuperación de albúmina recombinantemente expresada han sido descritas en: WO 92/04367, eliminación de tinte derivado de matriz; EP 464 590, eliminación de colorantes derivados de levadura; EP 319 067, precipitación alcalina y aplicación posterior de la albúmina a una fase lipofílica; y WO 96/37515, US 5 728 553 y WO 00/44772, que describen procesos de purificación completa.

85

Los métodos adecuados incluyen sulfato de amonio o precipitación de etanol, ácido o extracción de solvente, anión o cromatografía de intercambio de cationes, cromatografía de fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrofóbica, cromatografía de afinidad, cromatografía de hidroxapatita, cromatografía de lectina, concentración,

dilución, ajuste de pH, diafiltración, ultrafiltración, cromatografía líquida de alto rendimiento ("HPLC"), HPLC en fase inversa, ajuste de conductividad y similar.

[0191] El polipéptido se puede purificar a un nivel de pureza comercialmente o industrialmente aceptable.

5 Por nivel de pureza comercialmente o industrialmente aceptable incluimos la provisión de la tio albúmina y/o tio-albúmina-conjugada donde otro material (por ejemplo, uno o más contaminantes) están presente a un nivel inferior a 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,1 %, 0,01 %, 0,001 %, 0,0001 %, 0,00001 % o 0,000001 % y, de la forma más preferible, a un nivel de 0 %.

10 [0192] Un nivel de pureza comercialmente o industrialmente aceptable puede ser obtenido por un método de purificación relativamente crudo, por lo que el producto proteínico de elección se pone en una forma adecuada para su fin destinado.

Una preparación de proteína que ha sido purificada a un nivel de pureza comercialmente o industrialmente aceptable, además del producto proteínico de elección, también puede comprender, por ejemplo, componentes

15 de cultivo celular tales como células huésped o detritos derivados de ellas.

Alternativamente, los componentes de peso molecular alto (tales como células huésped o detrito derivado de ellas) se pueden retirar o no (tal como por filtración o centrifugación) para obtener una composición que comprende el producto proteínico de elección y, opcionalmente, un nivel aceptable funcionalmente de

20 contaminantes de peso molecular bajo derivados del proceso de cultivo celular.

[0193] La proteína se puede purificar o no para conseguir un nivel farmacéuticamente aceptable de pureza.

Una proteína tiene un nivel farmacéuticamente aceptable de pureza si está esencialmente libre de pirógenos y se puede usar para su fin destinado y, por lo tanto, ser administrada en una cantidad eficaz farmacéuticamente sin

25 causar efectos médicos no asociados con la actividad de la proteína.

[0194] La tio albúmina y/o tio-albúmina-conjugada se puede proporcionar a una concentración de al menos 10-4g.L-1,10-3 G.L-1, 0,01 G.L-1, 0,02 G.L-1, 0,03 G.L-1, 0,04 G.L-1, 0,05 G.L-1, 0,06 G.L-1,0,07 G.L-1, 0,08 G.L-1, 0,09 G.L-1, 0,1 G.L-1, 0,2 G.L-1, 0,3 G.L-1, 0,4 G.L-1, 0,5 G.L-1, 0,6 G.L-1, 0,7 G.L-1, 0,8 G.L-1, 0,9 G.L-1,1 G.L-1,2 G.L-1,3 G.L-1,4 G.L-1,5 G.L-1,6 G.L-1,7 G.L-1,8 G.L-1,9 G.L-1,10 G.L-1,15 G.L-1,20 G.L-1,25 G.L-1,30 G.L-1,40 G.L-1,50g.L-1,60 G.L-1,70 G.L-1,80 G.L-1,90 G.L-1,100 G.L-1 150 G.L-1,200 G.L-1,250 G.L-1,300 G.L-1,350 G.L-1,400 G.L-1,500 G.L-1,600 G.L-1,700 G.L-1,800 G.L-1,900 G.L-1,1000 G.L-1.

30 [0195] Un método de la presente invención puede además comprender o no la etapa de la formulación del producto proteínico purificado de elección con un portador o diluyente y, opcionalmente, presentar la proteína formulada así en una forma de dosificación unitaria.

[0196] Aunque es posible para una proteína terapéuticamente útil obtenida por un proceso de la invención que se debe administrar sola, resulta preferible presentar esta como una fórmula farmacéutica, junto con uno o más

40 portadores aceptables o diluyentes.

El portador(s) o diluyente(s) debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con la proteína deseada. Típicamente, los portadores o diluyentes serán agua o solución salina que será estéril y pirógeno libre.

[0197] Alternativamente, un método de la presente invención puede además comprender o no la etapa de la liofilización del producto proteínico purificado así de elección.

45 Formulación de tio albúmina o conjugado

[0198] La tio albúmina se puede formular por estrategias dadas en "Protein Formulation and Delivery", E. J. McNalli (Ed.), publicado por Marcel Dekker Inc. New York 2000 y "Rational Design of Stable Protein Formulations - Theory and Practice"; J. F. Carpenter y M. C. Manning (Ed.) Pharmaceutical Biotechnology Vol 13. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2002, Yazdi y Murphy, (1994) iCancer Research 54,6387-6394, Widera et al., (2003) Phamaceutical Research 20,1231-1238; Lee et al., (2005) Arch. Pharm. Res. 28,722-729.

Los ejemplos de métodos de fomulación son de la siguiente manera:

55 Método #1: la siguiente purificación el tiol libre que contiene muteina de albúmina de la invención o el conjugado se puede almacenar a 4 °C, -20 °C u -80 °C en 0,01 M - 0,1 M solución salina tamponada de fosfato (pH 7,0 - 8,0) que contiene 0,01 M - 0,2 M NaCl.

Método #2: purificación siguiente el tiol libre que contiene muteina de albúmina de la invención o el conjugado se puede almacenar a 4 °C, -20 °C u -80 °C en 0,01 M - 0,1 M solución salina tamponada de fosfato (pH 7,0 - 8,0) que contiene 0,01 M - 0,2 M NaCl y que contiene 10-20mg/L polisorbato 80.

60 Método #3: purificación siguiente del tiol libre que contiene muteina de albúmina de la invención o el conjugado se puede almacenar a 4 °C, -20 °C u -80 °C en 0,01 M - 0,2 M NaCl (pH 7,0-8,0).

Método #4: purificación siguiente del tiol libre que contiene muteina de albúmina de la invención o el conjugado se puede almacenar a 4 °C, -20 °C u -80 °C en 0,01 M - 0,2 M NaCl (pH 7,0 - 8,0) que contiene 10-20mg/L polisorbato 80.

65 Formulaciones liofilizadas

[0199] Método #5: la siguiente purificación del tiol libre que contiene miteína de albúmina de la invención o el conjugado se puede dializar contra el agua, liofilizar y almacenar a 4 °C, -20 °C u -80 °C.

5 [0200] Método #6: la siguiente purificación del tiol libre que contiene miteína de albúmina de la invención o el conjugado se puede dializar contra 0,01 M - 0,2 M NaCl (pH 7,0 - 8,0), liofilizar y almacenar a 4 °C, -20 °C u -80 °C.

Formulación de nanopartícula

10 [0201] La tio albúmina de la invención (y/o su forma conjugada) se puede utilizar para producir nanopartículas y/o ser atrapada dentro de una nanopartícula o liposoma.

15 [0202] La tio albúmina de la invención se puede utilizar con y/o en y/o como una nanopartícula y/o liposoma. Un problema actual de estrategias de conjugación es mantener la actividad farmacológica e inmunológica de la pareja de conjugación, tal como un conjugado de ligando de orientación bioactiva. Es probable que haya un número máximo de fracciones bioactivas/de ligando de orientación de proteína (parejas de conjugación) posible para la conjugación a una proteína y si este número se excede, el ligando de orientación no retiene su actividad biológica.

20 Preferiblemente, la actividad biológica de la pareja de conjugación no se reduce por conjugación a una albúmina de la invención.

25 [0203] Los liposomas y nanopartículas se pueden utilizar para atrapar compuestos bioactivos. Estos proporcionan un mecanismo para la entrega mejorada de fármacos tales como compuestos bioactivos o absorción por células diana y/o una reducción en la toxicidad del bioactivo libre a órganos sin objetivo que puede resultar en un índice terapéutico aumentado y/o efectos secundarios reducidos.

Además, muchas formulaciones a base de solvente requeridas para la entrega de algunos compuestos bioactivos (por ejemplo taxanos) se asocian con toxicidad que limita la dosis máxima que se puede proporcionar a un paciente.

30 Liposoma y entrega de nanopartícula también puede ser ventajoso para este tipo de compuestos bioactivos, ya que estos permitirían cantidades mayores del compuesto bioactivo que se debe entregar mientras se evitan algunas de las toxicidades de formulaciones a base de solvente (Hawkins et al (2008) *Advanced Drugs Delivery Reviews*, 60, 8, p876-885).

35 [0204] Los métodos para la unión de los ligandos de orientación para liposomas y nanopartículas se conocen en la técnica (reseñados en Nobs et al (2004) *Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol 93 p1980-1992) y se pueden usar de acuerdo con la invención.

Los métodos de fijación pueden ser covalentes o no covalentes.

40 Las reacciones covalentes parecen ser favorables, porque la conexión covalente es más estable que los métodos no covalentes.

Los lípidos para la fijación covalente o no covalente de proteínas, péptidos o fármacos a la superficie de liposoma están disponibles comercialmente (por ejemplo Avanti Polar Lipids Inc Alabaster, Alabama, USA).

45 Hay 3 clases principales de funcionalidad: conjugación a través de disulfuro o formación de tioéter, formación de enlace amida o unión de biotina/estreptavidina, cualquiera de estos se puede utilizar en la invención.

[0205] Se ha descrito un número de métodos que dependen de los ligandos de acoplamiento covalentes a la superficie de liposomas vía enlaces de tioéter, más frecuentemente, utilización de la reacción altamente eficaz de maleimida con grupos de tiol.

50 El anclaje de lípido funcional comúnmente añadido a liposomas y que se puede usar en o con la invención incluyen, pero no están limitados a aquellos que contienen maleimida, tales como N-[4-(p-maleimidofenil) butiramida]-PE (N-MPB)-PE) o N-[4-(p-maleimidometil) carboxamida de ciclohexano) (MCC-PE) que permiten el acoplamiento covalente conveniente de la fracción de orientación vía un enlace de tioéter estable (Martin & Papahadjopoulos (1982) *J. Biol. Chem.* 257,286- 288).

55 [0206] Método #7: la siguiente purificación del tiol libre que contiene miteína de albúmina de la invención o el conjugado se puede formular en nanopartículas preparadas según procedimientos conocidos para la preparación de nanopartículas, tales como procedimientos descritos en la WO 2004/071536 A1 y la WO 2008/007146 A1.

60 [0207] Los materiales similares para la formación de nanopartículas, incluyendo pero de forma limitativa poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y COOH PLA están disponibles comercialmente y pueden ser funcionalizados con maleimida u otros químicos conocidos según la bibliografía conocida para la formación de nanopartícula.

Cualquiera de estos se puede utilizar en o con la invención.

65 [0208] Otra vía conveniente para el acoplamiento covalente de ligandos a liposomas implica la conjugación de dos tioles para formar un disulfuro; sin embargo bajo las condiciones reductivas en la conjugación de químicos

más estable en suero que implica un grupo de tiol libre puede ser preferida.
 Químicos tal como (PDP-PE) permiten el acoplamiento covalente vía un enlace de disulfuro.
 Se puede utilizar la modificación del ligando para introducir un grupo tiol libre o un enlazador funcional.
 Una ventaja de la tio albúmina de la invención es que no se requiere ninguna modificación de ligando.
 Sin embargo, la modificación de ligando puede usarse opcionalmente además de la invención.

[0209] Frecuentemente, los grupos de tiol no están presentes en proteínas o no están presentes en cantidades suficientes o en la ubicación deseada.

Así, muchos casos de acoplamiento covalente de uno de más ligandos a un liposoma vía tioéter o enlaces de disulfuro requiere el uso de agentes de enlace cruzado heterobifuncional (descritos aquí con referencia a la conjugación).

Algunos agentes de enlace cruzado heterobifuncional (tales como SPDP y SATA) requieren un paso de deprotección.

La tio albúmina de la invención supera el requisito para este tratamiento adicional.

[0210] Alternativamente, la tio albúmina podría ser conjugada a liposomas o nanopartículas por otros químicos, conocidos en la técnica. Por ejemplo, la tio albúmina podría estar unida por un enlace amida utilizando un anclaje de lípido funcionalizado con una amina o grupos funcionales de carboxilo (los ejemplos incluyen DSPE-PEG-COOH) que reacciona con la amina primaria del ligando.

Se puede usar también el enlace cruzado directo entre aminas primarias y la superficie de liposomas.

Uno o más grupos de tiol libres de tio albúmina luego estarían disponibles para la conjugación a otra pareja de conjugación.

[0211] La siguiente conjugación, una pareja de conjugación (por ejemplo, molécula bioactiva) puede mostrar una reducción en su actividad (por ejemplo bioactividad).

La tio albúmina descrita en esta invención puede superar este problema mediante la disposición de un conjugado, nanopartícula y/o liposoma donde la pareja de conjugación está localizada y/o orientada respecto a una tio albúmina de manera que la pareja de conjugación retiene al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 % de su actividad no conjugada.

Pareja de conjugación

[0212] El término 'pareja de conjugación' incluye agentes bioactivos, agentes de formación de imágenes, agentes de diagnóstico, agentes de contraste y compuestos terapéuticos tales como fármacos quimioterapéuticos y radiofármacos.

Una tio albúmina de la invención se puede conjugar a una o más parejas de conjugación.

Agentes de formación de imágenes, compuestos de diagnóstico, agentes de contraste y compuestos terapéuticos

[0213] El uso de agentes de diagnóstico, agentes de formación de imágenes y agentes de "contraste" biológico se conocen en la técnica. Un agente de diagnóstico es cualquier producto farmacéutico usado como parte de una prueba diagnóstica (es decir, con el equipo y procedimientos que se necesitan para valorar el resultado de prueba).

El agente de diagnóstico se puede utilizar *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*.

[0214] La capacidad de albúmina para acumular en las fibras de músculo dañadas de músculo distrófico ha sido bien descrita.

Por ejemplo, un conjugado de albúmina Gadolinium-DTPA se puede utilizar como un diagnóstico combinado y herramienta terapéutica para visualizar y controlar, por ejemplo, el músculo distrófico por la formación de imágenes por resonancia magnética (MRI) y para la entrega de tratamientos putativos unidos a albúmina para una orientación eficaz al músculo distrófico (Amthor et al. (2004) *Neuromuscular Disorders* 14912: 791-796).

Los tumores malignos frecuentemente muestran una mayor absorción y metabolismo de albúmina.

El uso de conjugado de albúmina de gadolinio también se ha descrito para la formación de imágenes mejorada de tumores malignos y para determinar por MRI tumores sensibles a una terapia con albúmina conjugada de fármaco (Kießling et al. (2002) *Investigative Radiology* 37(4): 93-198).

[0215] Los agentes de formación de imágenes corrientes frecuentemente se degradan rápidamente mientras los agentes duraderos son frecuentemente tóxicos.

El uso de conjugados de albúmina pueden ser especialmente útiles para aumentar la semivida de agentes de formación de imágenes y, por lo tanto, permitiría la formación de imágenes sobre un periodo de tiempo extendido.

La WO2005/082423 describe el uso de albúmina de suero conjugado a sustancias fluorescentes para la formación de imágenes.

[0216] Una tio albúmina de esta invención se puede conjugar a dos o más moléculas seleccionadas de agentes

formación de imágenes, agentes de diagnóstico, compuestos terapéuticos y agentes de contraste.

[0217] Los tumores (y degeneración muscular) muestran una absorción mejorada de albúmina (EPR: permeación mejorada y retención).

5 Los conjugados de albúmina se pueden utilizar para la formación de imágenes mejorada y también para valorar si los tumores (u otros tejidos y órganos) serían adecuados para fármacos conjugados de albúmina.

Compuesto bioactivo

10 [0218] El compuesto bioactivo puede ser un compuesto terapéutico o de diagnóstico.
El compuesto terapéutico puede ser un fármaco de quimioterapia para usar en la quimioterapia para el cáncer.
Puede ser citostático o citotóxico; este puede ser un agente de inhibición de tumor.

15 [0219] El compuesto bioactivo puede ya contener un grupo tiol libre, por ejemplo, un polipéptido con un residuo de cisteína con un grupo tiol libre.

Alternativamente, el compuesto bioactivo se puede modificar para contener un grupo de tiol libre.

Así, la secuencia de aminoácidos de un polipéptido se puede alterar para incluir un residuo de cisteína con un grupo tiol libre o el compuesto bioactivo puede ser químicamente derivatizado para incluir un grupo tiol libre.

20 [0220] El compuesto bioactivo puede ser una (proteína) de polipéptido, particularmente, una proteína recombinante farmacéutica.

Puede ser una quimioterapia o fármaco radioterápico usado para tratar cánceres y otras enfermedades relativas.

25 [0221] El tiol libre que contiene muteína de albúmina de la invención (tio albúmina) se puede conjugar vía el grupo tiol libre o grupos si la muteína de albúmina de la invención contiene más de un tiol libre a al menos un compuesto bioactivo por métodos conocidos en la técnica. El compuesto bioactivo incluye pero no está limitado a péptidos, polipéptidos o proteínas, (bien naturales recombinantes o sintéticos) (Debinski; (2002) Cancer Investigation 20, 801-809, O'Keefe and Draper et al., (1985) JBC 260,932-937, Xia et al., (2000) J. Pharmacology Experimental Therapeutics 295,594-600, Kavimandan et al., (2006) bioconjugate Chem. 17,1376-1384, Humphries, et al., (1994) J.

30 Tissue Culture Methods 16, 239-242, Wenning et al., (1998) Biotech. Bioeng. 57,484-496, Yazdi and Murphy, (1994) Cancer Research 54, 6387-6394, Weaver and Laske (2003) J. Neurooncología 65,3-13, Widera et al., (2003) Pharmaceutical Research 20,1231-1238, Daniels, T.R. et al. (2006) Clinical Immunology 121, 159-176 y las referencias incluidas en este); fármacos terapéuticos y de diagnóstico o compuestos (Mishra et al., (2006) J.

35 Diana de fármaco 14, 45-53, Lim y Shen, (2004) Pharmaceutical Research 21, 1985-1992, Fritzer et al., (1996) Biochemical Pharmacology 51, 489-493, Lubgan and Jozwiak (2002) Cell. Mol. Biol. Lett. 7, 98, Daniels, T.R. et al. (2006) inmunología clínica 121,159-176 y las referencias incluidas en este); complejos de alto peso molecular que incluyen pero no están limitados a liposomas, virus y nanopartículas (Mishra et al., (2006) J. Drug Targeting

40 14, 45-53, Daniels, T.R. et al. (2006) Clinical Immunology 121, 159-176 y las referencias incluidas en este); ácidos nucleicos y radionúclidos, incluyendo ADN, ARN (incluyendo ARNs) y sus análogos (Lee et al., (2005) Arch. Pharm. Res. 28,722-729, Huang et al., (2007) FASEB J. 21,1117-1125, Daniels, T.R. et al. (2006) Clinical Immunology 121, 159-176 y las referencias incluidas en este) y dispositivos (Humphries, et al., (1994) J. Tissue Culture Methods 16, 239-242 y las referencias incluidas en este).

Adicionalmente, la entidad puede modificarse por sí misma por métodos conocidos en la técnica.

45

Compuestos terapéuticos

50 [0222] 4-1 BB ligando, 5-hélice, A humano C-C quimiocina, A humano L105 quimiocina, A humano L105 quimiocina designado huL105_3, A monoquina inducida por interferón gamma (MIG), A proteína parcial CXCR4B, A proteína básica de plaqueta (PBP), (1-antitripsina, ACRP-30 homólogo, componente del complemento C1q C, quimiocina expresada en un adenoide (ADEC), aFGF, FGF-1, AGF, proteína AGF, albúmina, una Etoposida, angiostatin, vacuna de ántrax, anticuerpos específico para collapsin, antistasina, anticuerpos de familia beta Anti-TGF, antitrombina III, APM-1; ACRP-30, famoxina, especies de apo-lipoproteína, arilsulfatasa B, b57 proteína, BCMA, proteína Beta-tromboglobulina (beta-TG), bFGF, FGF2, factores de coagulación sanguínea, BMP tratamiento de enzima furina, BMP-10; BMP-12; BMP-15; BMP-17; BMP-18; BMP-2B, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-9, proteína-2 de hueso morfogénico, calcitonina, Calpain-10a, Calpain-10b, Calpain-10c, vacuna cancerosa, Carboxipeptidasa, C-C quimiocina, MCP2, CCR5 variante, CCR7, CCR7, CD11a Mab, CD137, proteína receptora 4-1BB, CD20 Mab, CD27; CD27L, CD30; ligando CD30, inmunotoxina CD33, CD40; CD40L, CD52 Mab, proteína Cerebus, quimiocina eotaxina, quimiocina hIL-8, quimiocina hMCP1, quimiocina hMCP1a, quimiocina hMCP1b, quimiocina hMCP2, quimiocina hMCP3, quimiocina hSDF1b, quimiocina MCP-4, quimiocina TECK y TECK variante, proteína tipo quimiocina IL-8M1 en toda su longitud y madura, proteína tipo quimiocina IL-8M10 en toda su longitud y madura, proteína tipo quimiocina IL-8M3, proteína tipo quimiocina IL-8M8 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina IL-8M9 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina PF4-414 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina PF4-426 en toda su longitud y madura, proteína tipo quimiocina PF4-M2 en toda su longitud y maduración, vacuna de cólera, proteína tipo condromodulina, ligando c-kit, SCF, factor de crecimiento de

65

mastocito, MGF, factor de célula madre derivado de fibrosarcoma, CNTF y fragmento del mismo (tal como CNTF α 15'(Axokine™)), factores de coagulación en ambas formas pre y activas, colágenos, complemento C5 Mab, tejido conjuntivo que activa la proteína III, CTAA16,88 Mab, CTAP-III, CTLA4-Ig, CTLA-8, CXC3, CXC receptor de quimiocina 3, cianovirina-N, Darbepoetin, éxodo designado, designado huL105_7; DIL-40, Dnase, EDAR, EGF receptor Mab, ENA-78, Endostatin, eotaxina, activación neutrofilica epitelial protein-78, receptor EPO, eritropoyetina (EPO) y simuladores EPO, Eutropin, proteína Exodus, Factor IX, factor VII, Factor VIII, Factor X y factor XIII, proteína inhibitoria de ligando FAS (DcR3), FasL, FGF, FGF-12, homólogo de factor de crecimiento de fibroblasto factor-1, FGF-15, FGF-16, FGF-18, FGF-3, INT-2, FGF-4, gelonina, HST-1, HBGF-4, FGF-5, FGF-6, unión de heparina segregada que transforma factor-2, FGF-8, FGF-9, factor de activación de Glia, fibrinógeno, ligando flt-1, flt-3, subunidad de hormona alfa folículo-estimulante, subunidad de hormona Beta folículo-estimulante, folitropina, fractalquina, fragmento, proteína miofibrilar Troponina I, FSH, galactosidasa, Galectina-4, G-CSF, GDF-1, terapia genética, factor de crecimiento derivado de glioma, glucagón, péptidos de tipo glucagón, glucocerebrosidasa, glucosa-oxidasa, glucosidasa, glicodelina-A, proteína endométrica asociada a progesterona, GM-CSF, gonadotropina, proteína quimiotáctica de granulocito 2 (GCP-2), factor estimulador de colonias de macrófago-granulocito, hormona del crecimiento, alfa oncogen relacionada con el crecimiento (GRO-alfa), beta oncogen relacionada con el crecimiento (GRO-beta), gamma oncogen relacionada con el crecimiento (GRO-gamma), hAPO-4, TROY, hCG, antígeno de superficie Hepatitis B, vacuna Hepatitis B, HER2 Mab Receptor, hirudina, VIH gp120, VIH gp41, péptido de inhibidor de VIH, péptido de inhibidor de VIH, péptidos de inhibición de proteasa VIH, inhibidores de proteasa HIV-1, vacuna HPV, proteína humana 6CKine, proteína humana Act-2, factor inhibitorio de adipogénesis humana, receptor de factor-2 estimulante de célula humana B, quimiocina beta humana H1305 (MCP-2), quimiocina C-C humana DGWCC, quimiocina CC humana, proteína ELC, humano CC interleucina quimiocina C, proteína humana CCC3, humano CCF18 quimiocina, proteína de quimiocina tipo cc humano SLC designada (quimiocina linfoide secundaria), formas cortas quimiocina humana beta-8, quimiocina humana C10, quimiocina humana CC-2, quimiocina humana CC-3, quimiocina humana CCR-2, quimiocina humana Ckbeta-7, quimiocina humana ENA-78, eotaxina de quimiocina humana, quimiocina humana GROalfa, GRObeta de quimiocina humana, quimiocina humana HCC-1, quimiocina humana HCC-1, quimiocina humana I-309, quimiocina humana IP-10, quimiocina humana L105 3, quimiocina humana L105 7, quimiocina humana MIG, proteína de MIG-beta de quimiocina humana, quimiocina humana MIP-1alfa, quimiocina humana MIP1beta, quimiocina humana MIP-3alfa, quimiocina humana MIP-3beta, quimiocina humana PF4, proteína de quimiocina humana 331D5, proteína de quimiocina humana 61164, receptor de quimiocina humana CXCR3, quimiocina humana SDF1alfa, quimiocina humana SDF1beta, quimiocina humana ZSIG-35, proteína humana Chr19Kine, humano CKbeta-9, humano CX3C 111 quimiocina de aminoácido, humano DNAX interleukin-40, humano DVic-1 C-C quimiocina, humano EDIRF I secuencia de proteína, humano EDIRF II secuencia de proteína, humano eosinocite CC eotaxina tipo quimiocina, quimiocina expresada de eosinofilo humano (EEC), troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana C, troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana I, subunidad de troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana C, proteína de subunidad de troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana I, subunidad de troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana T, quimiocina expresada de bazo fetal humano, FSEC, receptor GM-CSF humano, humano gro-alfa quimiocina, quimiocina de gro-beta humana, quimiocina de gro-gamma humana, proteína humana IL-16, secuencia de proteína humana IL-1RD10, humano IL-1 RD9, cadena de alfa receptor humana IL-5 , receptor humano IL-6, proteína humana IL-8 receptora hIL8RA, proteína humana IL-8 receptora hIL8RB, proteína humana IL-9 receptora, variante de proteína receptora #3, fragmento de variante de proteína receptora humana IL-9, fragmento de variante de proteína receptora #3 humana IL-9, interleucina humana 1 delta, interleucina humana 10, interleucina humana 18, derivados de interleucina humana 18, precursor beta de interleuquin-1 humano, interleuquin-1 proteína de accesorio de receptor humano, humano interleuquin-1 antagonista receptor, beta humano interleuquin-1 tipo-3 receptor, humano Interleuquin-10 (precursor), humano interleuquin-11 receptor, humano interleuquin-12 40 kD subunidad, humano interleuquin-12 beta-1 receptor, humano interleuquin-12 beta-2 receptor, proteína humana Interleuquin-12 p35, proteína humana Interleuquin-12 p40, receptor humano interleuquin-12, receptor alfa humano interleuquin-13, receptor beta humano interleuquin-13, humano interleuquin-15, humano interleuquin-15 receptor de clon P1, humano interleuquin-17 receptor, proteína humana interleuquin-18 (IL-18), humano interleuquin-3, humano interleukin-3 receptor, humano interleukin-3 variante, humano interleuquin-4 receptor, humano interleuquin-5, interleucina-6 humana, humano interleuquin-7, humano interleuquin-8 (IL-8), intracelular humano IL-1 antagonista receptor, humano IP-10 e HIV-1 gp120 proteína de fusión de región hipervariable, humano IP-10 y humano Muc-1 epítipo de núcleo (VNT) proteína de fusión, hígado humano y quimiocina regulada de activación (LARC), proteína humana Lkn-1 en toda su longitud y maduración, proteína de (Mack) de quimiocina asociada mamaria humana, quimiocina madura en toda su longitud y maduración humano Ckbeta-7, maduración de humano gro-alfa, polipéptido de gro-gamma madura humana usado para tratar sepsis, humano MCP-3 y humano Muc-1 epítipo de núcleo (VNT) proteína de fusión, proteína humana MI10, proteína humana MI1A, factor quimioatrayente de monocito humano hMCP-1, factor quimioatrayente de monocito humano hMCP-3, proproteína quimiotáctica de monocito humano (MCP-3) secuencia, humano neurotactin quimiocina como dominio, humano no-ELR CXC quimiocina H174, humano no-ELR CXC quimiocina IP10, humano no-ELR CXC quimiocina MIG, mutantes humanos PAI-1, proteína humana con IL-16 actividad, quimiocina linfoide secundaria humana, (SLC) proteína humana SISD, humano STCP-1, quimiocina derivada de célula estromal humana, SDF-1, quimiocina expresada de reacción de linfocito mezclado de célula T humana (TMEC), timo humano y citocina regulada de activación (TARC), timo humano expresado, TNF-alpha humano, beta TNF humano (LT-alfa), tipo

humano CC secuencia de proteína de eotaxina de quimiocina 3, tipo II humano interleuquin-1 receptor, proteína tipo salvaje humano interleuquin-4 (hIL-4), proteína humana ZCHEMO-8, anticuerpos Anti-VEGF humanizado y fragmentos del mismo, anticuerpos Anti-VEGF humanizados, y fragmentos del mismo, hialuronidasa, subunidad hielo 10 kD, subunidad hielo 20 kD, subunidad hielo 22 kD, Iduronate-2-sulfatase, Iduronidase, IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-1 inhibidor (IL-1i), IL-1 maduración, IL-10 receptor, IL-11, IL-12 p40 subunidad, IL-13, IL-14, IL-15, IL-15 receptor, IL-17, IL-17 receptor, IL-17 receptor, IL-19, IL-11 fragmentos, antagonista de IL1-receptor, IL-21 (TIF), IL-3 que contiene proteína de fusión, IL-3 proteínas mutantes, IL-3 variantes, IL-4, IL-4 muteína, IL-4 muteína Y124G, IL-4 muteína Y124X, IL-4 muteínas, IL-5 receptor, IL-6, IL-6 receptor, IL-7 clon receptor, IL-8 receptor, IL-9 variante de proteína madura (Met117 versión), inmunoglobulinas o moléculas basadas en inmunoglobulina o fragmento de (por ejemplo un ImmunoPharmaceutical™ Modular pequeño ("SMIP") o dAb, Fab fragmentos, F(ab')₂, trabajar como esquiro, scFv o fragmento de scFv), incluyendo pero no de forma limitada a plasminógeno, vacuna de gripe, alfa de inhibina, inhibina, beta insulina, factor de crecimiento de tipo insulina, integrina, mab inhibidor de tripsina de interalfa, proteína inducible de gama de interferón (IP-10), interferones (tales como especies de alfa de interferón y sub-especies, especies beta de interferón y sub-especies, especies de gama de interferón y sub-especies), interleucina 6, interleucina 8 (IL-8) receptor, receptor de interleucina 8 B, interleuquin-1 alfa, proteína Interleuquin-2 asociada receptora p43, interleuquin-3, interleuquin-4 muteínas, proteína Interleuquin-8 (IL-8), interleucina-9, interleucina-9 (IL-9) proteína madura (Thr117 versión), interleuquinas (tal como IL10, IL11 e IL2), vacuna de encefalitis japoné, Kalikrein inhibidor, factor de crecimiento de queratinocito, Kunitz proteína de dominio (tal como aprotinina, proteína amiloide precursora y aquellas descritas en la WO 03/066824, con o sin fusiones de albúmina), LACI, lactoferrina, proteína de unión TGF-beta latente II, leptina, hígado expresado chemoquina-1 (LVEC-1), hígado expresado chemoquina-2 (LVEC-2), alfa de LT, beta de LT, Luteinization hormona, Lyme vacuna, Lymphotactin, análogo de quimiocina derivada macrófaga MDC (n+1), análogo de quimiocina derivada macrófaga MDC-eifi, MDC-ilo de análogo de quimiocina derivada macrófaga, quimiocina derivada de macrófago (MDC), Maspin, inhibidor de proteasa 5, MCP-1 receptor, MCP-1 un, MCP-1 b, MCP-3, MCP-4 receptor, m-CSF proteína de inhibición de Melanoma, proteínas unidas a la membrana, Met117 interleucina humana 9, MIP-3 alfa, MIP-3, beta gamma de MIP, MIRAP, lenguaje retumbantes modificados, anticuerpo monodonal, MP52, interleucina mutante 6 S176R, troponina de proteína contráctil miofibrilar yo, péptido natriurético, factor beta de crecimiento de nervio, crecimiento de nervio Factor-beta2, Neuropilin-1, Neuropilin-2, neurotactin, Neurotrophin-3, Neurotrophin-4, Neurotrophin-4a, Neurotrophin-4b, Neurotrophin-4c, Neurotrophin-4d, activación neutrofílica péptido-2 (NAP-2), NOGO-66 Receptor, NOGO-A, NOGO-B, NOGO-C, quimiocina beta nueva designada PTEC, quimiocina modificada N-terminal GroHEK/hSDF-1alpha, quimiocina modificada N-terminal GroHEK/hSDF-1beta, quimiocina modificada N-terminal met-hSDF-1 alfa, quimiocina modificada N-terminal met-hSDF-1 beta, OPGL, osteogénico Protein-1, OP-1, BMP-7, osteogénico Proteína-2, OX40, ACT-4, OX40L, oxtocina (Neurophysin I), hormona paratiroidea, parcheado, Patched-2, d PDGF, toxoide de tos ferina, quimiocina expresada de glándula pituitaria (PGEA), factor de crecimiento de placenta, crecimiento de placenta Factor-2, activador plasminógeno Inhibidor-1, activador plasminógeno Inhibidor-2, factor de crecimiento derivado de plaqueta, factor de crecimiento derivado de plaqueta Bv-sis, precursor de factor de crecimiento derivado de plaqueta A, precursor de factor de crecimiento derivado de plaqueta B, plaqueta Mab, factor de crecimiento de la célula endotelial derivado de las plaquetas (PD-ECGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas una cadena, cadena B de factor de crecimiento derivado de las plaquetas, polipéptido usado para tratar sepsis, variante Preproapolipoprotein "Milán", Preproapolipoprotein variante de "París", pre-trombina, Primate CC quimiocina "ILINCK", Primate CXC quimiocina "IBICK", proinsulina, prolactina, Prolactin2, prosaptide, péptidos de inhibidor de proteasa, proteína C, proteína C, pro-trombina, prourokinase it, lenguaje retumbantes, lenguaje retumbantes 8-68, lenguaje retumbantes 9-68, péptido de lenguaje retumbantes, receptor de lenguaje retumbantes, recombinante interleuquin-16, resistina, restrictocin, inhibidores de proteasa retroviral, ricina, vacuna de rotavirus, RSV Mab, saporin, sardin, segregado y polipéptidos de transmembrana, colinesterasa de suero, proteína sérica (tal como un factor de coagulación de sangre), receptor de quinasa BMP Soluble Proteína-3, Receptor VEGF Soluble, Factor inhibitorio de célula madre, vacuna Straphylococcus, derivado estromal Factor-1 alfa, derivado estromal Factor-1, beta sustancia P (taquiquinina), T1249 péptido, T20 péptido, T4 endonucleasa, TACI, Tarc, TGF-beta 1, TGF-beta 2, Thr117 interleucina humana 9, trombina, trombosoyetina, trombosoyetina derivativo1, trombosoyetina derivativo2, trombosoyetina derivativo3, trombosoyetina derivativo4, trombosoyetina derivativo5, trombosoyetina derivativo6, trombosoyetina derivativo7, quimiocina expresada de timo (TECK), hormona estimulante de la tiroides, proteína péptido de anticoagulante de garrapata, Tim-1, precursor de TNF-alfa, R TNF, TNF-RII, TNF p75 Receptor, Receptor de muerte, tPA, transferrina, factor de crecimiento transformante beta, péptidos de troponina, proteína quimiotáctica de monocito truncado 2 (6-76), proteína de lenguaje retumbantes truncados (3-68), factor de necrosis tumoral, urato-oxidasa, uroquinasa, vasopresina (Neurophysin II), VEGF R-3, flt-4, Receptor VEGF, KDR, flk-1, VEGF-110, VEGF-121, VEGF-138, VEGF-145, VEGF-162, VEGF-165, VEGF-182, VEGF-189, VEGF-206, VEGF-D y de VEGF, X de VEGF, de factor Willebrand, proteína quimiotáctica de monocito tipo salvaje 2, ZTGF-beta 9.

[0223] 13- ácido retinoico cis, 2-CdA, 2-Clorodeoxiadenosina, 5-Azacitidina, 5-Fluorouracil, 5-FU, 6-Mercaptopurina, 6-MP, 6-TG, 6-Tioguanina, Abraxane, Accutane®, actinomicina d, Adriamycin®, Adrucil®, Agrylin®, Ala-Cort®, Aldesleukin, Alemtuzumab, ALIMTA, Alitretinoin, Alkaban-AQ®, Alkeran®, ácido todo-trans retinoico, interferón alfa, Altretamine, Amethopterin, Amifostine, aminoglutetimida, Anagrelide, Anandron®, anastrozol, Arabinosilcitosina, Ara-C, Aranesp®, Aredia®, Arimidex®, Aromasin®, Arranon®, trióxido arsénico,

asparaginasa, ATRA, Avastin®, Azacitidine, BCG, BCNU, Bevacizumab, Bexarotene, BEXXAR®, bicalutamida, BiCNU, Bleomoxane®, bleomicina, Bortezomib, busulfano, Busulfex®, C225, leucovorina de calcio, Campath®, Camptosar®, Camptothecin-11, capecitabina, Carac™, carboplatina, camustina, oblea de camustina, Casodex®, CC-5013, CCNU, CDDP, CeeNU, Cerubidine®, Cetuximab, dorambucil, cisplatina, Citrovorum Factor, cladribina, cortisona, Cosmegen®, CPT-11, ciclofosfamida, Cytadren®, citarabina, citarabina, liposómico Cytosar-U®, Cytoxan®, dacarbazina, Dacogen, dactinomomicina, Darbepoetin Alfa, Dasatinib, daunomicina, daunorubicina, hidrodoruro de daunorubicina, daunorubicina, liposómico DaunoXome®, Decadron, Decitabine, Delta-Cortef®, Deltasone®, Denileukin diftotox, DepoCyt™, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, Dexasone, Dexrazoxane, DHAD, DIC, Diodes, Docetaxel, Doxil®, doxorubicina, doxorubicina, liposómico Droxia™, DTIC, DTIC-Dome®, Duralone®, Efudex®, Eligard™, Ellence™, Eloxatin™, Elspar®, Emcyt®, epirubicina, Epoetin alfa, Erbitux™, Erlotinib, Erwinia L-asparaginasa, Estramustine, Etyol, Etopophos®, Etoposida, Fosfato de etoposida, Eulexin®, Evista®, Exemestane, Fareston®, Faslodex®, Femara®, Filgrastim, Floxuridina, Fludara®, fludarabina, Fluoroplex®, Fluorouracil, Fluorouracil (crema), fluoximesterona, flutamida, Folinic ácido, FUDR®, Fulvestrant, G-CSF, Gefitinib, gemcitabina, Gemtuzumab ozogamicin, Gemzar®, Gleevec™, oblea de Gliadel®, GM-CSF, goserelina, granulocito - factor estimulador de colonias, factor estimulador de colonias de macrófago de granulocito, Halotestin®, Herceptin®, Hexadrol, Hexalen®, hexametilmelamina, HMM, Hycamtin®, Hydrea®, Hydrocort Acetate®, hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato de sodio de hidrocortisona, Hidrocortona fosfato, hidroxurea, Ibritumomab, Ibritumomab Tiuxetan, Idamycin®, idarubicina, Ifex®, iFN-alfa ifosfamida, IL-11, IL-2, Imatinib mesilato, carboxamida de imidazol, alfa de interferón, interferón Alfa-2b (conjugado PEG), interleucina - 2, Interleuquin-11, A® de intrón (interferón alfa-2b), Iressa®, irinotecán, Isotretinoin, Kidrolase®, Lanacort®, Lapatib, L-asparaginasa, LCR, Lenalidomide, letrozol, leucovorina, Leukeran, Leukine™, Leuprolide, Leurocristine, Leustatin™, liposómico Ara-C, Pred® líquido, lomustina, L-PAM, L-Sarcolisin, Lupron®, Lupron Depot®, Matulane®, Maxidex, mecloretamina, hidrocloreto de mecloretamina, Medralone®, Medrol®, Megace®, Megestrol, acetato de Megestrol, melfalán, mercaptopurina, Mesna, Mesnex™, metotrexato, sodio de metotrexato, Methylprednisolone, Meticorten®, mitomicina, Mitomycin-C, mitoxantrona, M-Prednisol®, MTC, MTX, Mustargen®, Mustine, Mutamycin®, Myleran®, Mylocel™, Mylotarg®, Navelbine®, Nelarabine, Neosar®, Neulasta™, Neumega®, Neupogen®, Nexavar®, Nilandron®, nilutamida, Nipent®, mostaza de nitrógeno, Novaldex®, Novantrone®, Octreotide, Octreotide acetato, Oncospar®, Oncovin®, Ontak®, Onxal™, Oprevelkin, Orapred®, Orasone®, oxaliplatino, Paclitaxel, Paditaxel Protein-bound, Pamidronate, Panitumumab, Panretin®, Paraplatin®, Pediapred®, interferón PEG, Pegaspargase, Pegfilgrastim, PEG-INTRON™, PEG-L-asparaginase it, PEMETREXED, pentostatina, mostaza de fenilalanina, Platinol®, Platinol-AQ®, prednisolona, prednisona, Prelone®, procarbazona, PROCRIT®, Proleukin®, Prolifeprospar 20 con implante de camustina, Purinethol®, raloxifeno, Revlimid®, Rheumatrex®, Rituxan®, Rituximab, Roferon-A® (interferón Alfa-2a), Rubex®, Rubidomycin hidrodoruro, Sandostatín®, Sandostatín LAR®, Sargramostim, Solu-Cortef®, Solu-Medrol®, Sorafenib, SPRYCEL™, STI-571, estreptozocina, SU11248, Sunitinib, Sutent®, tamoxifeno, Tarceva®, Targretin®, Taxol®, Taxotere®, Temodar®, temozolomida, Teniposida, TESPAs, Talidomida, Thalomid®, TheraCys®, tioguanina, Tabloid® de tioguanina, Tiofosfoamida, Thioplex®, tiotepa, TICE®, Toposar®, Topotecan, toremifeno, Tositumomab, Trastuzumab, tretinoína, Trexall™, Trisenox®, TSPA, TYKERB®, VCR, Vectibix™, Velban®, Velcade®, VePesid®, Vesanoide®, Viadur™, Vidaza®, vinblastina, sulfato de vinblastina, Vincasar Pfs®, vincristina, vinorelbina, tartrato de vinorelbina, VLB, VM-26, Vorinostat, VP-16, Vumon®, Xeloda®, Zanosar®, Zevalin™, Zinecard®, Zoladex®, zoledronato, Zolinza, Zometa®.

Radiofármacos

45 [0224] Carbón-11; Carbón-14; Cromo-51; Cobalto-57; Cobalto-58; Erblio-169; Fluorina-18; Galio-67; oro-198; Indio-111; Indio-113m, Iodina-123; Iodina-125; Iodina-131; hierro-59; Kriptón-81m, Nitrógeno-13; Oxígeno-15; fósforo-32; renio-186; Rubidio-82; Samario-153; Selenio-75; estroncio-89; Tecnecio-99m, Talio-201, tritio, Xenón-127; Xenón-133; itrio-90.

Agentes de formación de imágenes

50 [0225] Gadolinio, magnetita, manganeso, tecnecio, I125; I131; P32; TI201, Iopamidol, PET-FDG.

Etiquetas de purificación

55 [0226] La albúmina también se puede fusionar para una o más etiquetas de purificación tal como (Ala-Trp-Trp-Pro)n, etiqueta avidina/estreptavidina/Strep, BCCP, etiqueta b (VP7 región de proteína de bluetongue, viral) proteína de unión de calmodulina (CBP), dominios de enlace de celulosa (CBD), dominio de unión de quitina, acetiltransferasa de cloranfenicol, c-mico dihidrofolato reductasa (DHFR), péptido de FLAG™ (DYKDDDDK), proteína de unión de galactosa, glutatona-S-transferasa (GST), proteína fluorescente verde (GFP), hormona del crecimiento, N-terminal, virus de gripe de hemaglutinina (HA), His-patch tiorredoxina, etiqueta HIS, etiqueta HSB, KSI, (β-galactosidasa) lacZ, proteína de unión de maltosa (MBP), NusA, ompT/OmpA/peIB/DsbA/DsbC, poliarginina, ácido poliaspartico, policisteína, polifenilalanina, etiqueta S, proteína estafilocócica A, proteína estreptococal G, T4 gp55; T7gen10, etiqueta T7, tiorredoxina, trpE, ubiquitina.

Unión de ligandos

[0227] HSA tiene unión de ligandos y actividades de esterasa, como se describe en "todo sobre albúmina", T. Peters Jr., Academic Press N. Y.

5 Las propiedades de unión de ligandos incluyen unión a ligandos aniónicos y neutrales tales como ácidos grasos de cadena larga, bilirrubina y otros ligandos agrupados.

Los ácidos grasos de cadena larga, oleico (C18:1), palmítico (C16:0), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0), araquidónico (C20:4) y palmitoleico (C16:1) se conocen por enlazar HSA.

10 [0228] El polipéptido puede incluir inserciones, deleciones y sustituciones, bien conservadoras o no conservadoras, donde tales cambios no reducen sustancialmente el enlace de ligandos útil, propiedades de unión al receptor o inmunológicas de albúmina, por ejemplo a FcRn, bilirrubina y/o un ácido graso.

El polipéptido puede tener al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 %, 60 %, 70 %, al menos 80 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105 % o más de actividad de unión al receptor de la albúmina de suero humano, mol para mol.

15 El polipéptido puede tener un afinidad aumentada con un receptor de albúmina.

[0229] Los estudios de unión de ligandos se pueden realizar en tio albúminas y HSA que utilizan un método de calorimetría de titulación isotérmica que ha sido adecuadamente cualificado para este propósito.

20 Las muestras se pueden pretratar por desengrasado (Sogami, M. and J. F. Adoptivo (1968). Bioquímica 7(6): 2172-82) seguido por thiol blocking (Sogami, M., H. A. Petersen, et al. (1969). Biochemistry 8(1): 49-58) y la cromatografía de permeación en gel posterior.

Las curvas de unión generadas para tio albúminas y HSA con octanoato, por ejemplo, posteriormente se pueden comparar y establecerse funcionalmente similares.

25 Métodos de conjugación

[0230] La muteína de albúmina (tio albúmina) de la invención se puede enlazar de manera covalente a uno o más socios de conjugación tales como compuestos bioactivos por métodos conocidos en la técnica (por ejemplo aquellos proporcionados por Pierce, Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA: <http://www.piercenet.com/files/1601361Crosslink.pdf>).

30 Estos incluyen, pero de forma no limitativa la incorporación o ingeniería de un grupo reactivo de tiol en o sobre la pareja de conjugación, por ejemplo, por la incorporación o ingeniería de otro tiol libre presente en la pareja de conjugación; o por incorporación o ingeniería de un grupo de disulfuro de piridilo en la pareja de conjugación; o por la incorporación o ingeniería de un grupo de iodoacetilo en el compuesto bioactivo o por incorporación o ingeniería de un grupo de maleimida en la pareja de conjugación.

35 Por ejemplo, N-Etilmaleimida (NEM; Pierce), 2-amino-2'-aminoetanetiosulfonato (Pierce), ácido N-beta-maleimido propiónico (BMPA, Pierce) tiosulfonato de metano de metilo (MMTS; Pierce), fluoresceína-5-maleimida (Pierce), 5-iodoacetamido-fluoresceína (5-IAF; Pierce) o N-[6-7-amino-4-metilcoumarin-3-acetamido] hexil]-3'-[2'-piridilditio] propionamida (AMCA-HPDP, Pierce).

40 [0231] Si la pareja de conjugación contiene al menos un grupo tiol, luego la pareja de conjugación se puede reticular a la muteína de albúmina de la invención por los métodos conocidos por la técnica tales como, pero no limitados a, oxidación o por el uso de la reticulación de reactivos tales como, pero no limitados a, 1,4-Bis-maleimidibutano (BMB, Pierce); 1,4-Bis-maleimidil-2,3-dihidroxi-butano (BMDB, Pierce); Bis-maleimido-hexano (BMH; Pierce), Bis-maleimido-etano (BMOE, Pierce); 1,8-Bis-Maleimidotri-etilenglicol (BM[PEO]3 Pierce); 1,11-Bis-Maleimidotetra-etilenglicol (BM[PEO]4 Pierce); 1,4-Di-[3'-(2'-piridilditio)-propionamido]butano (DPDPB, Pierce); ditio-bis-maleimido-etano (DTME Pierce); 1,6-Hexane-bis-vinilsulfona (HBVS; Pierce) y Tris-[2-maleimimidoetil]amina (TMEA, Pierce).

50 [0232] Si la pareja de conjugación no contiene un grupo reactivo de tiol luego se puede modificar para incorporar uno o más tales grupos bien por modificación química o ingeniería genética por métodos conocidos en la técnica (Chapman, A.P. (2002) Adv. Drug Deliv. Rev., 54 531-545; Humphreys, D.P. et al. Protein Engineering, Design & Selection vol. 20 no. 5 pp. 227-234, 2007).

55 Mientras estas dos referencias describen metodologías para reticulación PEG a un tiol libre diseñado dentro de un anticuerpo o fragmento de anticuerpos, las técnicas se pueden utilizar para la reticulación de una pareja de conjugación para un tiol libre diseñado en la muteína de albúmina de la invención.

Alternativamente, se puede utilizar la tecnología de complejo de afinidad farmacológica (DAC™) desarrollada por ConjuChem Inc. (Montreal, Quebec, Canada, H2X 3Y8), por ejemplo, como se describe en la WO200069902.

60 Hay tres partes de cada constructo DAC™: 1) el componente farmacológico (la porción responsable de actividad biológica); 2) un enlazador fijado al componente farmacológico y 3) un grupo de química reactivo en el extremo opuesto del enlazador, normalmente un electrófilo blando selectivo para tioles; una maleimida es la forma de realización más útil.

Otros métodos de conjugación aplicables se describen en la WO2007/071068.

65 [0233] Si la pareja de conjugación no contiene un grupo reactivo de tiol pero contiene uno o más grupos amino luego se puede modificar para incorporar uno o más grupos reactivos de tiol por modificación química por

métodos conocidos en la técnica tal como el uso de la reticulación de reactivos tales como, pero no limitados a, N-5-azido-2-nitrobenzoiloxisuccinimida (AMAS; Pierce), N-[beta-maleimidopropiloxi] éster de succinimida (BMPS; Pierce), ácido N-etamaleimida caproico (EMCA; Pierce), éster N-[eta-maleimidacaproiloxi]succinimide (EMCS; Pierce), éster N-[eta-maleimidocaproiloxi]sulfosuccinimida (sulfo-EMCS; Pierce), éster N-[gamma-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS; Pierce), éster N-[gamma-maleimidobutiriloxi]sulfosuccinimida (sulfo-GMBS; Pierce), ácido N-kappa-maleimidoundecanoico (KMUA; Pierce) N-[kappa -maleimidoundecanoiloxi]éster sulfosuccinimida (sulfo-KMUS; Pierce) N-[kappa -maleimidoundecanoiloxi]éster sulfosuccinimida (sulfo-KMUS; Pierce) m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS; Pierce), éster m-maleimidobenzoil-N-hidroxisulfosuccinimida (sulfo-MBS; Pierce) n-succinimidilo S-acetiltioacetato (SA-TA; Pierce) n-succinimidilo S-acetiltiopropionato (SATP; Pierce), succinimidil 3-[bromoacetamido]propionato (SBAP; Pierce) n-succinimidilo iodoacetate (SIA; Pierce), N-succinimidil[4-iodoacetil]aminobenzoato (SIAB; Pierce), sulfosuccinimidil[4-iodoacetil]aminobenzoato (sulfo-SIAB; Pierce), succinimidil [4-[N-maleimidometil]ciclohexano-1-carboxilato (SMCC; Pierce) sulfosuccinimidilo [4-[N-maleimidometil]ciclohexano-1-carboxilato (sulfo-SMCC; Pierce), succinimidil-[4-[N-maleimidometil]ciclohexano-1-carboxi]-[6-amidocaproate (SMCC LC; Pierce), 4-succinimidiloxicarbonil-metil-alfa[2-piridilditio]toluene (SMPT; Pierce) sulfosuccinimidil-6-[alfa-metil-alfa-2-piridilditio]toluamido]hexanoato (sulfo-LC-SMPT; Pierce), succinimidil 4-[p-maleimidofenil]-butirato (SMPB; Pierce) sulfosuccinimidilo 4-[p-maleimidofenil]-butirato (sulfo-SMPB; Pierce), succinimidil-6-[(beta-maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH; Pierce) n-succinimidilo 3-[2-pyridylditio]propionato (SPDP; Pierce), succinimidil [3-(2-piridilditio)propionamido]hexanoato (SPDP LC; Pierce) sulfosuccinimidilo [3'-(2-piridilditio)propionamido]hexanoato (sulfo-LC-SPDP; Pierce) y N-succinimidil-[4-vinilsulfonil]benzoato (SVSB Pierce).

Puede ser ventajoso bloquear determinado residuo de amina como se describe por Kavimandan et al., (2006) Bioconjugate Chem. 17,1376-1384.

[0234] Si el socio de conjugación no contiene un grupo reactivo de tiol pero contiene uno o más grupos de carbonilo (carbohidrato oxidado) luego esto se puede modificar para incorporar uno o más grupos reactivos de tiol por modificación química por métodos conocidos en la técnica tal como el uso de la reticulación de reactivos tal como, pero no limitado a, N-[ácido eta-maleimidocaproico]hidrazide (EMCH; Pierce), 4-[N-maleimidometil]ciclohexano-1-carboxilhidrazida·HCl·1/2 dioxano (M2C2H; Pierce), 3-maleimidofenil ácido borónico (MPBH; Pierce) y 3-[2-piridilditio]propionil hidrazida (PDPH, Pierce).

[0235] Si la pareja de conjugación no contiene un grupo reactivo de tiol pero contiene uno o más grupos hidroxilo luego se puede modificar para incorporar uno o más grupos reactivos de tiol por modificación química por métodos conocidos en la técnica tal como el uso de la reticulación de reactivos tal como, pero no limitados a, N-[p-maleimidofenil]isocianato (PMPI, Pierce).

Competencia de conjugación de variante de albúmina

[0236] La competencia de conjugación de polipéptidos de la invención se puede evaluar por el etiquetado fluorescente y absorción celular, como se describe en McGraw et al., (1987), The Journal of Cell Biology, 105, 207-214 y Presley et al., (1993), The Journal of Cell Biology, 122, 1231-1241.

Otros métodos de prueba de la competencia de conjugación incluyen la conjugación de la albúmina a otra molécula tal como HRP.

Posteriormente, la masa del conjugado resultante y/o la actividad del compuesto conjugado se puede ensayar, por ejemplo, por espectrometría de masas o por ensayo enzimático.

Microorganismo.

[0237] Una cepa huésped adecuada para usar en la presente invención incluye una versión de DXY1 hsp150-deficiente, descrita en S. M. Kerri-Williams et al. (1998) Yeast 14:161-169.

La WO 95/33833 muestra a la persona experta cómo preparar levadura hsp150-deficiente.

Esta cepa huésped se puede referir como 'cepa 1'.

[0238] La invención se describe por medio de ejemplo solo con referencia a los ejemplos siguientes:

Ejemplos

Ejemplo 1: construcción de plásmidos de expresión de mutéina de albúmina

[0239] La secuencia de codificación HSA se obtiene por métodos conocidos para el aislamiento de ADNc que corresponde con genes humanos y está también descrito en, por ejemplo, EP 0 073 646 y EP 0 286 424.

Los plásmidos de expresión para variantes de albúmina de esta invención se pueden construir de una manera similar a pDB2244 descrita en la WO 00/44772 o pDB2305 descrita en la WO/2006/013859 para la expresión de albúmina de suero de humano de *S. cerevisiae*.

El plásmido pDB2305 contiene la secuencia HSA optimizada de codón para la expresión en el *S. cerevisiae*.

Los métodos de optimización de codón alternativos se pueden utilizar para el organismo huésped particular

seleccionado para la producción de tío albúmina.

Los plásmidos de expresión para variantes de albúmina de esta invención también pueden ser construidos de una manera similar a los descritos en la WO 2005/061719 A1 para expresión mejorada de albúmina de suero de humano de *S. cerevisiae*.

5

[0240] Las muteínas de tío albúmina se pueden hacer siguiendo la modificación de plásmido pDB2244 (Fig. 7) o pDB2305 por mutagénesis dirigida al sitio.

Las secuencias oligonucleótidas mutagénicas de superposición pueden utilizarse para modificar el codón del residuo(s) seleccionado para cualquier secuencia de ADN que codifica un residuo de cisteína (TGT o TGC) utilizando los procedimientos indicados por un equipo disponible comercialmente (tal como el equipo Stratagene Quikchange™).

10

Alternativamente, los fragmentos de ADN sintéticos se pueden fabricar con las modificaciones deseadas a la secuencia de polinucleótidos.

15

Construcción de unos plásmidos de expresión de mutante de tío albúmina

[0241] Los plásmidos de subclonación que se pueden usar para crear el plásmido pDB2244 (Fig. 7) son plásmido pDB2243 (Fig. 8) (descritos en la WO 00/44772) y pSAC35 (descritos en la EP 286424).

Los plásmidos pDB2243 y pDB2244 contienen el gen HSA nativo.

20

Una persona experta apreciará que el casete de expresión puede o no puede ser codón optimizado; los métodos para la construcción de los plásmidos de expresión que contienen codón HSA optimizado para la expresión en *S. cere-visiae* se describen en la WO/2006/013859.

La secuencia de nucleótidos nativa que codifica HSA se proporciona en la SEQ ID n° 2.

Una secuencia de nucleótidos HSA optimizada de codón para la expresión en el *S. cerevisiae* se proporciona como la SEQ ID n° 3.

25

[0242] El plásmido pDB2243 (6.203kb) fue digerido para la finalización utilizando endonucleasas de restricción NotI para liberar el casete de expresión de albúmina de suero humano 2.992 kb.

30

[0243] El plásmido pSAC35 se deriva de pSAC3 por Chinery and Hinchliffe (1989) Curr. Genet. 16,21-25 y en la EP 286424.

El plásmido pSAC35 (11.037 kb) fue digerido para la finalización con restricción de endonucleasa NotI y defosforilada utilizando fosfatasa intestinal alcalina de ternero y ligada con el 2.992kb casete de expresión de albúmina de suero de humano NotI para producir 14.037 kb pDB2244 que tiene el casete de expresión de albúmina de suero humano orientado en la misma dirección que el gen LEU2 (Fig. 7).

35

Un experto en la técnica apreciará que el casete de expresión puede o no puede ser codón optimizado y que el casete de expresión se puede o no donar en la orientación en el vector de expresión como parte de esta invención.

40

[0244] Alternativamente, se puede utilizar el plásmido pDB2690. La construcción de plásmido pDB2690 se describe en la WO/2005061719 A1.

El plásmido pDB2690 (13.018kb) fue digerido para finalización con restricción de endonucleasa NotI y defosforilada utilizando fosfatasa intestinal alcalina de ternero y ligada con el 2.992kb casete de expresión de albúmina de suero de humano NotI para producir un 16.039 kb plásmido pDB2713 que tiene el casete de expresión de albúmina de suero humano orientado en la misma dirección que el gen LEU2 (Fig. 9).

45

Un experto en la técnica apreciará que el casete de expresión puede o no puede ser codón optimizado y que el casete de expresión se puede clonar o no en orientación en el vector de expresión como parte de esta invención.

50

[0245] Como una alternativa para mutagénesis dirigida al sitio, los plásmidos de expresión para tío albúmina (es decir, albúmina competente de conjugación) variantes de esta invención podrían realizarse por los fragmentos de ADN sintetizados de subclonación en el plásmido pDB2243 (Fig. 8) antes de la clonación en pSAC35 o pDB2690.

Para la construcción de un plásmido de subclonación de tío albúmina que contiene una cisteína competente de conjugación extra (con respecto a la SEQ ID n° 1), se describe un método solo como medio de ejemplo, abajo

55

[0246] La secuencia de ADN de albúmina de pDB2243 incluye dos sitios de endonucleasa de restricción HindIII.

[0247] El ADN sintético se puede modificar de manera que la secuencia de codificación de proteína de albúmina de suero humano se modifica en un codón seleccionado a un codón de cisteína o un codón de cisteína existente se elimina o modifica a un codón para otro aminoácido.

60

Alternativamente, la secuencia de codificación para la tío albúmina madura se puede extender en el extremo(s) 5' o 3' o inserciones hechas en el polipéptido para añadir la secuencia(s) nueva codificante para cisteína o polipéptidos que contienen una cisteína o más.

65

[0248] El ADN sintético alternativamente se puede modificar de manera que la secuencia de codificación de proteína de albúmina de suero humano se modifica en un codón de cisteína seleccionado a un codón alternativo

para crear una cisteína desparejada.

El ADN sintético alternativamente se puede modificar de manera que la secuencia de codificación de proteína de albúmina de suero humano se modifica por sustitución de dos codones en un sitio específico a un codón de cisteína (la longitud de cadena de aminoácidos se reduce).

5 El ADN sintético alternativamente se puede modificar de manera que la secuencia de codificación de proteína de albúmina de suero humano (por ejemplo la SEQ ID n° 2 o SEQ ID n° 3 en relación con HSA) se modifica por inserción de un codón de cisteína en un sitio específico (la longitud de cadena de aminoácidos aumenta).

10 El plásmido pDB2243 se puede digerir para la finalización con endonucleasa de restricción HindIII y se recupera el fragmento (aproximadamente 4.383kb) y defosforilada, el ADN sintético con la modificación apropiada a la secuencia de codificación de albúmina de suero humano puede luego ser clonado para producir el plásmido de subclonación de tío albúmina requerido.

15 El plásmido de subclonación de tío albúmina puede luego ser digerido para producir un casete de expresión, que se puede clonar en un plásmido de expresión adecuado de una manera similar a la construcción de pDB2244; pDB2305 o pDB2713.

20 [0249] Los expertos en la técnica apreciarán que un casete de expresión para variantes de tío albúmina con modificaciones adicionales a la secuencia de proteína de albúmina podrían ser producidos utilizando un método similar para este descrito para la construcción de un plásmido de subclonación de tío albúmina que contiene una cisteína competente de conjugación extra (con respecto a la SEQ ID n° 1).

[0250] Una cepa de *S. cerevisiae*, por ejemplo, cepa 1 se puede transformar para leucina prototrofia con pDB2244 (WO 00/44772) o pDB2305 (WO/2006/013859) para la expresión de albúmina de suero de humano o los plásmidos de expresión de tío albúmina apropiados.

25 La levadura se puede transformar utilizando un método de acetato de litio modificado (equipo de transformación de levadura Sigma, YEAST-1, protocolo 2; Ito et al., 1983, J. Bacteriol., 153,16; Elble, 1992, Biotechniques, 13, 18).

Los transformantes se pueden seleccionar en placas BMMD-agar y posteriormente extraer en las placas BMMD-agar. La composición de BMMD se describe en Sleep et al., 2002, Yeast, 18, 403.

30 Las existencias crioconservadas se pueden preparar en 20 % trehalosa de (p/v) de 10mL BMMD cultivos del frasco de agitación (24 horas, 30 °C, 200 rpm).

Ejemplo 2: expresión de muteínas de albúmina con cambios aminoácidos únicos en comparación con HSA

35 [0251] Las variantes de tío albúmina con cambios aminoácidos únicos fueron seleccionadas de tablas 5A, 5B y 6A.

Estas variantes fueron identificadas como las mutaciones preferidas según los métodos anteriormente descritos. Los detalles de cada variante se dan en la figura 11, que proporciona un constructo de referencia (por ejemplo TA1 para rHA A2C), el nombre del plásmido que codifica cada constructo de expresión variante de tío albúmina y secuencias flanqueantes requeridas para la recombinación *in vivo* por reparación de espacio y el número dado a una materia prima de levadura crioconservada (el número de materia prima de levadura) produce cada una de las variantes de tío albúmina.

40 Los detalles de los codones mutantes en comparación con la SEQ ID n° 2 también se proporcionan, como son los números de SEQ ID para cada variante de tío albúmina (ADN y proteína).

45 [0252] Para modificar los aminoácidos en las albúminas de suero no-humano, las posiciones equivalentes a una posición particular en HSA se pueden determinar a partir de un alineamiento que incluye albúmina de suero humano (SEQ ID n° 1) tales como figuras 2 y 3.

La persona experta está familiarizada con alineamientos y puede determinar prontamente si un aminoácido en una secuencia es equivalente o no a un aminoácido en otra secuencia.

50 Por ejemplo, la posición del aminoácido en la albúmina no-humana no es necesariamente el mismo extremo N-terminal relativo de HSA.

Por ejemplo, de la figura 2 posición 239 de HSA es un residuo de alanina, mientras que el residuo correspondiente de la secuencia bovina es serina-238.

De forma similar, valina-479 de HSA corresponde a leucina-478 de albúmina de oveja.

55 El plásmido pDB3927 (figura 12) fue construido de plásmido pDB2244 (figura 7, WO 0044772A, 'FL': secuencia de líder de fusión). PDB2244 fue digerido con enzimas de restricción SwaI y HpaI (ambas producen extremos romos) y autoligado a formar pDB3927.

Para crear plásmido pDB3964 los sitios de enzima de restricción (figura 13) fueron modificados en la secuencia de ADN de albúmina (SEQ ID n° 2) de pDB3927 sin modificación de la secuencia de proteína, como perfilados abajo.

60 La secuencia de ADN resultante es la secuencia ID n° 4.

1) Sitios de enzima introducidos: (posiciones de par de base en abrazaderas se refieren a posiciones en la SEQ ID n° 4) SEQ ID n° 4

65 [0253]

	Sitio de restricción	de SEQ ID n.º.		SEQ ID nº 4	Posición
a	<i>SacI</i> :	GAGTCAGCTGAAAA	<input type="checkbox"/> (to)	GAGTCCGCGGAAAA	(bp 173-178)
B	<i>NheI/BmtI</i> :	AAGGCTTCGTCTGC	<input type="checkbox"/> (to)	AAGGCTAGCTCTGC	(bp 571-576)
C	<i>XhoI</i> :	TCTGCTTGAATGTGC	<input type="checkbox"/> (to)	TCTGCTCGAGTGTGC	(bp 751-756)
D	<i>BamHI</i> :	GTGGGCAGCAAAT	<input type="checkbox"/> (to)	GTGGGATCCAAAT	(bp 751-756)
E	<i>Sall</i> :	GGAAGTCGATGAAA	<input type="checkbox"/> (to)	GGAAGTCGACGAAA	(bp 1477-1482)

5 [0254] La secuencia de codificación de HSA en pDB3964 se proporciona como la SEQ ID nº 4. Síntesis de ADN y clonación fue usada para generar pDB3964 de pDB3927 (DNA2.0 Inc, USA). Los fragmentos de ADN sintéticos fueron diseñados para alterar codones de aminoácido específicos en el gen de albúmina de pDB3964 o con combinaciones de modificaciones (véase ejemplo 3 de abajo).

Los fragmentos de ADN que contienen estas modificaciones fueron sintetizados (ADN 2.0 Inc, EE.UU) y clonados en pDB3964 para producir plásmidos con las secuencias de tío albúmina (figura 11).

10 Estos genes sintéticos y regiones flanqueantes fueron extirpados con enzimas de restricción BstEII y BsrBI de los plásmidos nombrados en la figura 11 para cada una de las variantes de tío albúmina y los controles pDB3927; pDB3964 y pDB2244, antes de la purificación de los fragmentos de ADN resultantes (equipo de purificación PCR, Qiagen). Los fragmentos de ADN fueron usados en el procedimiento de transformación de levadura descrito abajo para permitir la reparación de espacio *in vivo* con linealizado pDB3936.

15 [0255] El plásmido pDB3853 (no mostrado) fue construido de vector de base pDB2690 (WO2005/061719A1) y el enlazador sintético descrito abajo. El enlazador sintético fue construido de dos oligonucleótidos (Sigma-Genosis) anillados en el agua destilada utilizando un gradiente de temperatura de 96 °C para cámara de temperatura (1 min por 1 °C). PDB2690 fue digerido utilizando KpnI y NotI, y purificado por extracción de gel (Qiagen), antes del ligamiento del enlazador anillado:

20

	'KpnI	(enlazador)	BamHI NotI'	
5'	- CGCTAGCCTCGAGGTTTAAACGCTAGCGAGCTCGGATCC			-3'
3'	- CATGGCGATCGGAGCTCCAAATTTGCGATCGCTCGAGCCTAGGCCGG			-5'

25 [0256] Después de la construcción de pDB3853, el enlazador fue extirpado utilizando PstI y Scal (3787bp fragmento) antes del ligamiento en el gel extraído PstI/Scal corte pSAC35 plásmido (WO 0044772A y WO2005/061719A1)), para formar pDB3936 (figura 14).

30 [0257] PDB3936 fue linealizado con enzimas de restricción Acc65I y BamHI antes de la purificación del 9721 fragmento bp seguido de la separación por electroforesis en gel de agarosa. Para el procedimiento de transformación de levadura para permitir la reparación de espacio *in vivo* (descrita abajo), las concentraciones del linealizado pDB3936 y cada uno de los fragmentos BsrBI-BstEII que codifican las secuencias codificantes de tío albúmina se calculó y 100ng de cada uso para cada reacción de transformación de levadura.

35 [0258] La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* BXP10 se usó como en todo el huésped de expresión (So-low, S. P., J. Sengbusch, et al. (2005). "Heterologous protein production from the inducible MET25 promoter in *Saccharomyces cerevisiae*." Biotechnol Prog 21(2): 617-20.), aunque también son adecuados huéspedes de expresión alternativos.

40 [0259] Las materias primas crioconservadas de *S. cerevisiae* BXP10 fueron preparadas a partir de 10mL YEPPD (1 % de extracto de levadura de p/v, 2 % de peptona de planta de p/v, 2 % de dextrosa de p/v) cultivos del frasco de agitación (crecidos durante 24 horas, 30 °C, 200 rpm) mezclados con un volumen igual de 40 % de solución de trehalosa estéril p/v y dispensados en 1mL partes alícuotas para almacenamiento a -80 °C. 10mL BMMD, YEPPD y LB (1 % de triptona bacteriológica de p/v, 0,5 % de extracto de levadura de p/v, 0,5 % NaCl de p/v) los frascos de agitación fueron inoculados con 100µL materia prima de levadura crioconservada e incubados durante cuatro días a 30 °C, 200rpm como arriba antes de ser observados microscópicamente para confirmar que eran axénicos.

45 [0260] Las células *S. cerevisiae* competentes congeladas BXP10 fueron preparadas por inoculación de 100µL de materia prima de levadura crioconservada en 10mL YEPPD que se incubaron durante dos días a 30 °C, 200 r.p.m., antes de ser usadas para inocular 300mL YEPPD a un OD600 = 0,3.

50 Las células se incubaron como arriba durante aproximadamente 4 horas o hasta que se haya conseguido una multiplicación de OD600.

Las células se cosecharon por centrifugación (3000xg, 5min, a temperatura ambiente) antes de la resuspensión en 120mL agua destilada seguida de otro paso de centrifugación.

55 El granulado fue resuspendido en 3mL TE/LiAc (10mM Tris, 1mM EDTA, pH7, 500mM acetato de litio) y glicerol añadido a una concentración final de 15 % (v/v), antes del almacenamiento en partes alícuotas a -80 °C.

[0261] Las células *S. cerevisiae* BXP10 se transformaron a leucina prototrofia utilizando un método de acetato de litio modificado (Elble, R. "A simple and efficient procedure for transformation of yeasts." *Biotechniques* 13.1 (1992): 18-20. Ito, H., et al. "Transformation of intact yeast cells treated with alkali cations." *J.Bacteriol.* 153.1 (1983): 163-68.). 50µl de células competentes descongeladas fueron divididas en partes alícuotas en una placa de microtitulación de 48-pocillos (NUNC) antes la adición de fragmentos de ADN para la reparación de espacio, como se ha descrito anteriormente.

La placa se mezcló por el flujo de la placa mientras está situado en una mesa de trabajo. 300µl de PEG/LiAc (40 % PEG de p/v 3350, 100mM acetato de litio) se añadió a cada pocillo y se mezcló de nuevo. La placa fue incubada a 30 °C con la agitación a 200 r.p.m. durante 1 hora antes de transferir a incubación estática a 42 °C durante 30 min.

Después de 1 min de incubación en el hielo, la placa fue centrifugada (2000xg, 5min, a temperatura ambiente) seguida de eliminación del sobrenadante y resuspensión del granulado en 200µl 1 M de sorbitol.

El volumen completo fue inoculado sobre placas de agar BMMD con CSM-Leu suplemento nutricional (pm Biomedicals, Bio 101) e incubado durante 4 días a 30 °C.

[0262] Los transformantes de colonia individuales fueron escogidos y parcheados sobre placas de agar BMMD frescas para almacenamiento a corto plazo. Estos parches crecieron a 30 °C y las células luego fueron inoculadas en cultivos del frasco de agitación 10mL BMMD y criopreservadas como se describe anteriormente. 10µl de materia prima de levadura fue inoculada en una placa de 48-pocillos que contiene 0,5 mL BMMD por pocillo.

El crecimiento de cultivos en las placas de microtitulación se consiguió en una cámara de humedad que fue una caja de Perspex sellada que contenía toallas de papel mojado para proporcionar <100 % de humedad y pérdida por vaporización por debajo de 0,25 % más de 5 días bajo condiciones de crecimiento.

Las placas fueron incubadas en la cámara de humedad de agitación (30 °C, 200rpm,) durante 5 días a 30 °C.

La placa de 48-pocillos fue centrifugada para células granuladas (2000xg, 10 min, a temperatura ambiente) y el sobrenadante fue cosechado.

[0263] La concentración de las variantes de tio albúmina en los sobrenadantes de cultivo fue determinada por cromatografía en fase líquida de alta presión de permeación de Gel (GP-HPLC).

Las concentraciones de proteína fueron determinadas usando un sistema LC2010 de HPLC (SHIMADZU) equipado con detección UV bajo control de software de servidor de cliente Shimadzu VP7.3.

Las inyecciones de 25µL se hicieron sobre un 7,8 mm de diámetro interno x 300 mm de longitud TSK G3000SWXL columna (Tosoh Biocience), con un 6,0 mm de diámetro interno x 40 mm de longitud TSK SW columna de protección (Tosoh Biocience). Las muestras fueron cromatografiadas en 25mM fosfato sódico, 100mM sulfato de sodio, 0,05 % azida sódica de (p/v), pH 7,0 a 1mL.min⁻¹, con un tiempo de pasada de 15 minutos.

Las muestras fueron cuantificadas por detección UV a 280nm, por altura de valor máximo, con respecto a un estándar de albúmina de humano recombinante de concentración conocido (10mg/mL).

[0264] Un análisis SDS-PAGE no-reducido y las valoraciones de expresión (por GP-HPLC) para cada una de las variantes de tio albúmina con mutaciones únicas se comparan contra los controles en la figura 15.

Es evidente que todas las variantes de tio albúmina han sido exitosamente segregadas de *S. cerevisiae* BXP10.

Las mutaciones preferidas tienen altas valoraciones de expresión y muestran una banda teñida *Coomassie* intensa equivalente a controles rHA por análisis SDS-PAGE no-reducido.

Ejemplo 3: expresión de variantes de tio albúmina adicionales

[0265] La Figura 16 describe una selección adicional de variantes de tio albúmina con dos o más grupos de tiol libre.

Las mutaciones mostradas que se deben expresar en el ejemplo 2 de arriba fueron combinadas para generar secuencias diseñadas para tener grupos de tiol libre múltiples disponibles para conjugación.

Esta selección incluye variantes de tio albúmina diseñadas para tener hasta cinco grupos de tiol libre, variantes de tio albúmina diseñadas para tener grupos de tiol libre de dentro de un grupo de selección o de más de un grupo de selección, variantes de tio albúmina diseñadas para tener grupos de tiol libres con y sin el tiol libre de origen natural a C34 de HSA variantes de tio albúmina diseñadas para tener grupos de tiol libres a partir de una gama de grupos de proximidad y variantes de tio albúmina diseñadas para tener grupos de tiol libre derivados de inserciones, extensiones, adiciones y/o deleciones. Representa un subconjunto de tio albúminas con residuos de cisteína competentes de conjugación múltiple. Los detalles de estas variantes de tio albúmina, los plásmidos que codifican estas y la SEQ ID n° para su ADN y secuencias proteínicas se describen en la figura 16, de una manera similar a los de figura 11 para las variantes de tio albúmina con modificaciones únicas. Los métodos para la construcción de plásmido y expresión de *S. cerevisiae* BXP10 son similares a aquellos anteriormente descritos.

[0266] La Figura 17 muestra un análisis SDS-PAGE no-reducido y las valoraciones de expresión (por GP-HPLC) para cada una de estas variantes de tio albúmina adicionales comparadas frente a un control de rHA (secuencia de codificación pDB3927). Nuevamente, es evidente que todas las variantes de tio albúmina han sido

exitosamente segregadas de *S. cerevisiae* BXP10. Por lo tanto, confirma que los criterios de selección permiten variantes de tio albúmina adecuadas que se deben generar y, por lo tanto, indica que no hay problema de un mal plegado o agregación indeseable. Nuevamente, las combinaciones preferidas de mutaciones tienen altas valoraciones de expresión y muestran una banda teñida *Coomassie* intensa equivalente a controles rHA por análisis SDS-PAGE no-reducido.

Ejemplo 4: producción, purificación y conjugación de variantes de tio albúmina

[0267] Cinco materias primas de levadura crioconservada (9116, 9118, 9124, 9125 y 9130; figura 11) cada una en partes alícuotas de 1mL fueron inoculadas en frascos de agitación que contienen 100mL BMMS medio de crecimiento (base nitrogenada de levadura sin aminoácidos y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Difco 1.7g/L; monohidrato de ácido cítrico 6.09g/L; anhidro Na_2HPO_4 20.16g/L; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5.0g/L; pH6.5±0.2 sacarosa añadida a 20g/L). Las células fueron transferidas desde el matraz de agitación al fermentador (10L volumen de trabajo, Sartorius Biostat C 10-3 fermentador) cuando la concentración de células en el matraz de agitación ha alcanzado 0,8-1,2g/L realizando una concentración de inóculos celulares de $\approx 10\text{mg/L}$ (mayor que o igual al 10mg/L) en el fermentador.

[0268] Las proteínas de variantes de tio albúmina fueron producidas por cultivo de axénico de cada una de las cinco cepas de levadura en fermentación de lote alimentado de alta densidad celular (HCD).

El objetivo de la fermentación fue conseguir la máxima biomasa y productividad por el control de la adición de índice de alimentación, de modo que se evitó la formación de productos derivados tales como etanol y acetato.

Los detalles adicionales del proceso de fermentación se describen en la WO96/37515.

La temperatura y pH fueron controladas a 30 °C y pH5,5 respectivamente.

El sobrenadante del cultivo fue cosechado por centrifugación utilizando un Sorvall RC 3C centrifugo (DuPont) y congelado para almacenamiento, antes de ser descongelado para purificación posterior.

Las concentraciones de producto final fueron determinadas por GP HPLC utilizando un sistema LC2010 de HPLC (SHIMADZU) equipado con detección UV bajo control de software de servidor de diente Shimadzu VP7.3, como se ha descrito anteriormente. La Figura 18 proporciona los rendimientos de cada variante de tio albúmina (en g/L sobrenadante del cultivo) y muestra que las valoraciones de producto altas de más de 1g/L de sobrenadante del cultivo fueron obtenidas en cualquier caso.

[0269] Un procedimiento de cromatografía de paso único fue usado para preparar material adecuado para espectrometría de masas.

Este paso de purificación usó una columna (volumen de lecho aproximadamente 200 μL) envasada con matriz de AlbuPure™ (ProMetic BioSciences Ltd, Cambridge UK o Novozymes Biopharma UK Ltd.).

Este fue equilibrado con 50mM fosfato sódico, pH5,3 y cargado con sobrenadantes de cultivo nítido en aproximadamente pH5,5-6,5, para aproximadamente 40mg de proteína/ml matriz.

La columna se lavó con aproximadamente 3 volúmenes de columna cada uno de 50mM fosfato sódico, pH5,3, y 50mM acetato amónico, pH8,0, respectivamente.

La proteína ligada fue eluida utilizando aproximadamente 5 volúmenes de columna de 50mM acetato amónico, 10mM octanoato, pH 7,0. El caudal para la etapa de carga fue 137 $\mu\text{L}/\text{min}$, mientras los pasos de lavado y de elución fueron realizados mediante fuerza centrífuga, utilizando un Heraeus Multifuge 3 centrífugo a 300 r.p.m.

Las concentraciones finales fueron en el rango 1,8-4,0 mg/mL y las muestras fueron aproximadamente un volumen de 2mL. La determinación de tiol libre se realizó inmediatamente después de la elución de muestra siguiendo el procedimiento descrito abajo.

[0270] El número de tiolos libres en una proteína se puede determinar espectrofotométricamente utilizando el reactivo Ellman. El reactivo Ellman (5'5'-dithio-bis(ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB)) es un disulfuro aromático que reacciona con grupos de tiol para formar un disulfuro mezclado de la proteína y un mol de ácido de 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB) (por mol de grupo de proteína sulfhidrilo). Esta reacción también produce un color amarillo de TNB libre siendo liberado en la solución. Alternativamente, el número de tiolos libres en una proteína se pueden determinar usando el análisis espectrométrico de masa de muestra de proteína tratada con reactivo DTNB. Ácido de 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB) tiene un peso molecular de 199 Da, así un aumento en la masa de 197 Da (TNB menos H₂ perdido durante la formación de enlace de disulfuro con el grupo tiol libre en la proteína de prueba) indica la presencia de un grupo tiol libre en la muestra de proteína.

[0271] 700 μL de la muestra de proteína de prueba se añadió a 100 μL de tampón 2 (4 mg/mL DTNB y 500 mM fosfato sódico, pH 7,0) y 900 μL de tampón 1 (0,1M Tris-HCl, 100 mM EDTA, pH 8,0).

Se permitió mezclar la preparación durante 25 minutos a temperatura ambiente (21-25 °C) seguida de filtración a través de un filtro de corte de masa molecular baja (Vivaspin 2 - 10000 MWCO Sartorius Stedim Germany).

El filtro se lavó con dos volúmenes de 0,1 % de ácido trifluoroacético (TFA) y la muestra fue resuspendida en 1 ml de 0,1 % TFA. Las muestras marcadas TNB y no marcadas se prepararon para análisis espectrométrico de masa por desalación/concentración usando la extracción de fase sólida (SPE).

Las columnas SPE se prepararon primero por humidificación con 1mL de 70 % de acetonitrilo (ACN Fisher)/0,1 % TFA y luego equilibración preparada para la carga con 0,1 % TFA. 1 ML de muestra se cargó en las columnas SPE equilibradas permitiendo el tiempo para enlazar con la proteína.

La proteína ligada y columnas SPE se lavaron luego tres veces en 1mL de 0,1 % de ácido fórmico (Merck). Finalmente, la proteína ligada fue eluida en un tubo de microfuga prelavado de 1 mL con 0,5 mL 70 % ACN/0.1%FA.

5 [0272] Para el tiempo de vuelo la espectrometría de masas 30µL de muestra fue introducida en un espectrómetro de masas híbrido cuadrúpolo (QqOaTOF, Applied Biosystems, QSTAR-XL®), equipado con una fuente IonSpray™ en el modo de ión positivo, usando análisis de inyección en flujo (fluoroinmunoanálisis). El único parámetro de instrumento que se sintoniza activamente es el potencial de desacoplamiento (DP), típicamente establecido en 250 V.

10 Típicamente, se calculan 2 minutos de análisis de muestra según el promedio. Para análisis de proteína, el analizador TOF se calibra contra los iones moleculares protonados de mioglobina equina (Sigma) y la resolución es típicamente >14,000. El control de instrumento y toma de datos, y tratamiento fueron realizados utilizando Analyst™ QS v1.1 software (Applied Biosystems).

15 [0273] Los resultados del análisis anterior de las muestras de tio albúmina purificadas se describen abajo. En la adición de DTNB todas las muestras se volvieron amarillas rápidamente, como estaba previsto, debido a la presencia de numerosos tiolos libres.

20 Cuando las muestras se compararon visualmente con una muestra equivalente de rHA, con un tiol libre único, el cambio de color observado para las muestras de tio albúmina fue significativamente más intenso, lo que indica fuertemente la presencia de tiolos libres múltiples en cada molécula de tio albúmina.

Los resultados se resumen en la figura 18, con intensidad de color en aumento el aumento marcado por número aumentado de "+".

25 [0274] Las variantes de tio albúmina producidas a un rendimiento de fermentación más alta fueron preferidas para el análisis por el método de espectroscopia de masas anteriormente descrito.

30 Por lo tanto, las proteínas recombinantes rHA (A2C; L585C) (total de 3 tiolos libres), rHA (D129C, C360S, L585C) (total de 4 tiolos libres) y A2C Cys de RHA (total de 3 tiolos libres) fueron analizadas por ESI TOF (tiempo de ionización de electrospray de vuelo) tratamiento pre- y post-DTNB de espectrometría de masas para determinar los números de tiolos libres presentes en cada molécula.

[0275] Cuando el rHA (A2C; L585C) se analizó el pre-DTNB tratamiento (figura 19) los picos deconvolucionados principales observados fueron a 66633Da y 66807Da lo que corresponde a 172Da y 346Da sobre la masa prevista de 66461 Da. Estas modificaciones fueron posibles debido a especies, de <172Da presentes en los medios de crecimiento de reticulación a los tiolos libres en el rHA (A2C, L585C).

35 El análisis espectrométrico de masa post tratamiento DTNB (figura 20) resultó en un valor máximo un principal deconvolucionado a 67428Da que fue 376Da sobre la masa prevista para la proteína con 3 tiolos libres.

Esta masa extra es muy probable que se deba a un extra TNB enlazado a un tiol libre y otro 179Da, esto sugiere fuertemente la presencia de 4 tiolos libres y otro posible tiol bloqueado con unas especies de < 179Da.

40 Por lo tanto, la variante de tio albúmina rHA (A2C; L585C) es sorprendente particularmente en la medida en que esta proporcione más del número previsto de grupos reactivos disponibles para la conjugación.

También está presente una serie de valores máximos <396Da aparte que se deben al exceso DTNB todavía presente en el momento de la ionización que causa la formación de aducto DTNB con la molécula rHA marcada (A2C; L585C). Esta formación de aducto se conoce por producirse en presencia de exceso DTNB.

45 [0276] Cuando el rHA (D129C, C360S, L585C) (total de 4 tiolos libres) fue analizado pre-DTNB tratamiento (figura 21) los valores máximos deconvolucionados principales observados fueron a 66575Da y 66747Da que corresponde a 172Da y 344Da sobre la masa prevista de 66403Da.

50 Estas modificaciones posiblemente se deban a moléculas de <172Da presentes en los medios de crecimiento que se reticulan a los tiolos libres en el rHA (D129C, C360S, L585C).

El análisis espectrométrico de masa de post DTNB tratamiento (figura 22) resultó en un valor máximo principal deconvolucionado a 67564Da que fue 373Da sobre la masa prevista para la proteína con 4 tiolos libres.

55 Esta masa extra es muy probablemente que se deba a un extra TNB enlazado a un tiol libre y otro 176Da, esto sugiere fervientemente la presencia de un 5 tiolos libres y otro posible tiol bloqueado con unas especies de <176Da.

Por lo tanto, el rHA (D129C, C360S, L585C) variante de tio albúmina es particularmente sorprendente en la medida en que ha proporcionado más del número previsto de grupos disponibles para conjugación.

60 También está presente una serie de valores máximos <396Da aparte estas se deben al exceso DTNB todavía presente en el momento de ionización, causando la formación de aducto DTNB con el rHA marcado D129C, C360S, L585C.

Esta formación de aducto se conoce por producirse en presencia de exceso DTNB.

65 [0277] Finalmente, cuando A2C Cys de RHA (total de 3 tiolos libres) se analizó pre-DTNB tratamiento (figura 23), los principales valores máximos deconvolucionados observados fueron a 66747Da y 66919Da que corresponde a 172Da y 344Da sobre la masa prevista de 66574Da.

Sin embargo, también está presente un valor máximo menor que corresponde con la masa no modificada prevista a 66575Da.

Este espectro de masa indica el bloqueo de algunos tiolos libres mientras una proporción de la molécula está presente con los 3 tiolos libres previstos.

5 El análisis espectrométrico de masa de post DTNB tratamiento (figura 24) resultó en un valor máximo principal deconvolucionado a 67142Da que fue 23Da por debajo de la masa prevista de 67165Da de la proteína marcada con 3 TNB moléculas, esto posiblemente fue debido a la presencia de dos TNB moléculas y una 175Da modificación, sugiriendo la presencia de 3 tiolos, uno de lo cuales fue bloqueado por las especies desconocidas <175Da.

10 Sin embargo, en la inspección más cerca de la figura 24, se puede ver la presencia de valores máximos secundarios 23Da arriba de cada especie.

Estos valores secundarios corresponden a pequeños soportes en los datos en estado crudo (datos no mostrados) que posiblemente indican la presencia de la molécula modificada con 3 TNB moléculas, que indican 3 tiolos libres.

15 Las otras especies principales presentes se deben al exceso DTNB todavía presente en el momento de la ionización causando la formación de aducto DTNB con el rHA marcado D129C, C360S, L585C.

Esta formación de aducto se conoce por ocurrir en presencia de exceso DTNB.

20 [0278] En conclusión, una gama de variantes de tío albúmina han sido producidas con tres o más residuos de cisteína competente de conjugación.

Las cisteínas competentes de conjugación pueden estar en regiones de esta que puede o no puede tener estructura secundaria y/o puede o no se puede generar de enlaces de disulfuro natural, y/o puede o no puede ser residuos de cisteínas adicionales (tales como residuos de cisteína que se extienden del C-terminal natural de HSA).

25

Ejemplo 5: formación de geles de variantes de tío albúmina

30 [0279] Muestras de TA35 (es decir A2C, A364; D562 además de origen natural C34) y TA33 (es decir A2C, L585C además de origen natural C34) fueron incubadas a temperatura ambiente durante 24 horas y ambos geles formados.

LISTADO DE SECUENCIAS

35 <110> Novozymes Biopharma UK Ltd Novozymes A/S

<120> Albumin variants and conjugates

<130> 11527.400-EP

40 <150> EP09152625.1

<151> 2009-02-11

<150> EP09152686.3

<151> 2009-02-12

45

<160> 108

<170> PatentIn version 3.5

50

<210> 1

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

55

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(585)

<223> Human serum albumin (mature protein)

60

<400> 1

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
	225					230					235					240
5	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
					245					250					255	
10	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
				260					265					270		
15	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
			275					280					285			
20	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
		290					295					300				
25	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
	305					310					315					320
30	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
				325						330					335	
35	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
				340					345					350		
40	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
			355					360					365			
45	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
		370					375					380				
50	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
	385					390					395					400
55	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
					405					410					415	
60	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
				420					425					430		
65	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys
			435					440					445			

ES 2 630 253 T3

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

5 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

10 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

15 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

20 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

25 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

30 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

35 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 2
 <211> 1758
 <212> DNA
 40 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Polynucleotide coding sequence (not codon optimised) for human
 serum albumin

45 <400> 2
 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
 60

50 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa
 180

55 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
 240

ES 2 630 253 T3

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

5 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
420

10 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgctg cctggtgcc
15 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt
600

20 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcaaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
720

25 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctggaatgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
30 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

35 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

40 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
45 1140

gtggaagagc ctcaagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

50 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaacct a gaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat
1320

55 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta
1380

ES 2 630 253 T3

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

5 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

10 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

15 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

20 gctgccttag gcttataa
1758

<210> 3

25 <211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

30 <223> Polynucleotide coding sequence (codon optimised for expression
in
yeast) for human serum albumin

<400> 3

35 gacgctcaca agtccgaagt cgctcacaga ttcaaggact tgggtgaaga aaacttcaag
60

gctttggtct tgatcgcttt cgctcaatac ttgcaacaat gtccattcga agatcacgtc
120

40 aagttggtca acgaagttac cgaattcgct aagacttggtg ttgctgacga atctgctgaa
180

aactgtgaca agtccttgca caccttgttc ggtgataagt tgtgtactgt tgctaccttg
240

45 agagaaacct acggtgaaat ggctgactgt tgtgctaagc aagaaccaga aagaaacgaa
300

50 tgtttcttgc aacacaagga cgacaacca aacttgccaa gattggttag accagaagtt
360

gacgtcatgt gtactgcttt ccacgacaac gaagaaacct tcttgaagaa gtacttgtac
420

55 gaaattgcta gaagacacce atacttctac gctccagaat tgttgttctt cgctaagaga
480

ES 2 630 253 T3

tacaaggctg ctttcaccga atgttgctcaa gctgctgata aggctgcttg tttgttgcca
540

5 aagttggatg aattgagaga cgaaggtaag gcttcttccg ctaagcaaag attgaagtgt
600

gcttccttgc aaaagttcgg tgaaagagct ttcaaggctt gggctgtcgc tagattgtct
660

10 caaagattcc caaaggctga attcgctgaa gtttctaagt tggttactga cttgactaag
720

15 gttcacactg aatgttgctc cggtgacttg ttggaatgtg ctgatgacag agctgacttg
780

gctaagtaca tctgtgaaaa ccaagactct atctcttcca agttgaagga atgttgctgaa
840

20 aagccattgt tggaaaagtc tcaactgtatt gctgaagttg aaaacgatga aatgccagct
900

gacttgccat ctttggctgc tgacttcgctt gaacttaagg acgtttgtaa gaactacgct
960

25 gaagctaagg acgtcttctt gggatggtc ttgtacgaat acgctagaag acaccagac
1020

30 tactccgttg tcttgttggt gagattggct aagacctacg aaactacctt ggaaaagtgt
1080

tgtgctgctg ctgaccacac cgaatgttac gctaaggttt tcgatgaatt caagccattg
1140

35 gtcgaagaac cacaaaactt gatcaagcaa aactgtgaat tgttcgaaca attgggtgaa
1200

tacaagttcc aaaacgcttt gttggttaga tacactaaga aggtcccaca agtctccacc
1260

40 ccaactttgg ttgaagtctc tagaaacttg ggtaaggctc gttctaagtg ttgtaagcac
1320

45 ccagaagcta agagaatgcc atgtgctgaa gattacttgt ccgtcgtttt gaaccaattg
1380

tgtgttttgc acgaaaagac cccagtctct gatagagtca ccaagtgttg tactgaatct
1440

50 ttggttaaca gaagaccatg tttctctgct ttggaagctc acgaaactta cgttccaaag
1500

55 gaattcaacg ctgaaacttt caccttccac gctgatattc gtaccttgtc cgaaaaggaa
1560

agacaaatta agaagcaaac tgctttgggt gaattggctc agcacaagcc aaaggctact
1620

ES 2 630 253 T3

aaggaacaat tgaaggctgt catggatgat ttcgctgctt tcggtgaaaa gtggtgtaag
1680

5 gctgatgata aggaaacttg tttcgctgaa gaaggtaaga agttggctgc tgcttcccaa
1740

gctgctttgg gtttgtaa
1758

10

<210> 4
<211> 1758
<212> DNA
15 <213> Artificial Sequence

<220>
<223> HA mutated to introduce restriction enzyme sites

20 <400> 4
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

25 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

30 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

35 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

40 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

45 tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

50 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtage tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
55 720

ES 2 630 253 T3

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtggt ctgatgacag ggcggacctt
780

5 gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

10 gacttgccctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

15 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

20 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaatth aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

25 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctg gaaaagtgg gatccaatg thgtaaacat
1320

30 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

35 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

thgtgaaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgtthccaaa
1500

40 gagthtaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcactthtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

45 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
1680

50 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gagggtaaaa aactthttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

55 <210> 5
<211> 1758

ES 2 630 253 T3

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

5 <223> TA1: HA with A2C

<400> 5

gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

10

gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

15

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

20

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

25

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
420

30

gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcc
540

35

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

40

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

45

gtccacacgg aatgctgcc a tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

50

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

55

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

ES 2 630 253 T3

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

5 tgtgccgctg ctgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagagag
1200

10 tacaaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctc ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

15 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

20 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

25 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
30 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

35 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

40

<210> 6
<211> 1758
<212> DNA

45 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA2: HA with D1C

50 <400> 6
tgtgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
55 120

ES 2 630 253 T3

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

5 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

10 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagagggt
360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

15 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

20 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

25 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

30 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

35 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

40 gacttgcctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

45 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

50 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

55 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ES 2 630 253 T3

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

5 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

10 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

15 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

20 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

25 gctgccttag gcttataa
1758

30 <210> 7
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

35 <220>
<223> TA3: HA with C75S

<400> 7

40 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

45 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcgaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatctacagt tgcaactctt
240

50 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

55 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

ES 2 630 253 T3

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

5 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

10 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

15 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

20 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

25 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

30 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

35 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

40 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

45 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

50 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

55 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

ES 2 630 253 T3

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

5 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

10 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
15 1758

<210> 8
<211> 1758
20 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA4: HA with T79C

25 <400> 8
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

30 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcgga
180

35 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcattgtctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa
40 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

45 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

50 tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgctg cctggtgcca
540

aagctcogatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
55 600

ES 2 630 253 T3

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

5 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctgagtggtg ctgatgacag ggcggacctt
780

10 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

15 gacttgcctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

20 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

25 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcaaattht aatcaaaaa aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

30 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagthaccca agthtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaagtgtg gatccaatg thgtaaacat
1320

35 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat cctggtctt gaaccagtta
1380

40 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagthagt gacagagthc caaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagthc acgaaacata cgtthccaaa
1500

45 gagththaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagatatht gcacactthc thgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac thgactthgt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

50 aaagagcaac thgaaagctgt thtgatgat thcgcagctt thgtagagaa gthctgcaag
1680

55 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gaggthaaaa aactthgtgct thgcaagthc
1740

ES 2 630 253 T3

gctgccttag gcttataa
1758

5 <210> 9
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

10 <220>
<223> TA5: HA with E82C

<400> 9
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
15 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

20 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

25 cgttgtacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

30 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

35 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

40 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

45 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

50 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

55 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

ES 2 630 253 T3

gacttgccctt cattagctgc tgatthttgth gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

5 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatath aaaccactct agagaagtgc
1080

10 tgtgcccgtg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcaaaattt aatcaaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
15 1200

tacaaattcc agaatgctct attagthctg tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

20 ccaactcttg tagaggthct aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggthct gaaccagtha
1380

25 tgtgtgthtg atgagaaaac gccagthaat gacagagthc caaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagthc acgaaacata cgtthccaaa
30 1500

gagththaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagathath gcacactthc tgagaaggag
1560

35 agacaaatca agaaacaaac thcactthgt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
1680

40 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gaggghaaaa aactthgtgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gctthataa
45 1758

<210> 10
<211> 1758
50 <212> DNA
<213> Artificial thquence

<220>
<223> TA6: HA with E86C

55 <400> 10

ES 2 630 253 T3

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
5 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
10 240

cgtgaaacct atggttgtat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt
15 360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
20 420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
25 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
30 660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
35 720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
40 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgatthtgtt gaaagtaagg atgthtgcaa aaactatgct
45 960

gaggcaaagg atgtcttccct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
50 1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
55 1140

ES 2 630 253 T3

gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

5 taciaaattcc agaatgagct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

10 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

15 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
20 1560

agacaaatca agaaaciaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

25 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

30 gctgccttag gcttataa
1758

35 <210> 11
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

40 <220>
<223> TA7: HA with C124S

<400> 11

45 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

50 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgagaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

55 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

ES 2 630 253 T3

tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
 360
 5 gatgtgatgt ctactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
 420
 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480
 10 tataaagctg cttttacaga atggttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggttgcca
 540
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 15 600
 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
 660
 20 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
 720
 gtccacacgg aatgctgcc a tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780
 25 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840
 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 30 900
 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960
 35 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
 1020
 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080
 40 tgtgcccgtg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140
 gtggaagagc ctcaagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 45 1200
 tacaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
 1260
 50 ccaactcttg tagaggtctc aagaaacct a gaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
 1320
 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta
 1380
 55 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
 1440

ES 2 630 253 T3

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

5 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

10 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

15 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

20

<210> 12
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

25

<220>
<223> TA8: HA with C168S

<400> 12

30 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

35 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcgga
180

40 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

45 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

50 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atcttgccaa gctgctgata aagctgctg cctggtgcca
55 540

ES 2 630 253 T3

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

5 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

10 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctgagtggtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

15 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgccctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

20 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

25 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

30 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

35 ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctg gaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

40 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaatgctg cacagaatcc
1440

45 ttggtgaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagthtaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
1560

50 agacaaatca agaaacaaac tgcacttgth gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

55 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
1680

ES 2 630 253 T3

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

5 gctgccttag gcttataa
1758

10 <210> 13
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

15 <220>
<223> TA9: HA with C169S

20 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

25 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

30 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

35 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

40 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

45 tataaagctg cttttacaga atgttctcaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

50 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

55 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

ES 2 630 253 T3

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

5 gacttgccctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctc gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

10 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

15 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctgagaatth aatcaaacia aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

20 taciaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggctc aagaaacctc ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

25 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

30 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cthtttcagct ctggaagctg acgaaacata cgttcccaaa
1500

35 gagthtaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaaciaac tgcactgtt gagctcgtga aacaciaagcc caaggcaaca
1620

40 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat thcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg cthttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
45 1740

gctgccttag gcttataa
1758

50

<210> 14
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

55

<220>
<223> TA10: HA with C91S

ES 2 630 253 T3

<400> 14
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

5
gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

10
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

15
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tctgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

20
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
420

25
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgctg cctgttgcca
540

30
aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

35
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
720

40
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

45
gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

50
aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

55
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

ES 2 630 253 T3

tgtgccgctg ctgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140

5 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagagag
 1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
 1260

10 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
 1380

15 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
 1440

20 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
 1560

25 agacaaatca agaaaciaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
 1680

30 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
 1740

35 gctgccttag gcttataa
 1758

<210> 15
 <211> 1758
 40 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> TA11: HA with D121C

45 <400> 15
 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
 60

50 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
 180

55 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
 240

ES 2 630 253 T3

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

5 tgccttctgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

tgtgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

10 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

15 tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgctg cctggtgcc
540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

20 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

25 cagagatttc ccaaagctga gtttgcaaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
720

gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

30 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

35 gacttgccctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

40 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

45 tgtgccgctg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcaaatatc aatcaaaaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

50 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

55 ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctg gaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

ES 2 630 253 T3

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

5 tgtgtggtgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

10 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

15 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
20 1740

gctgccttag gcttataa
1758

25

<210> 16
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

30

<220>
<223> TA12: HA with D129C

<400> 16

35 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
40 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
45 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

50 tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gactgcttt tcattgtaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

55 gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

ES 2 630 253 T3

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

5 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

10 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
15 780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

20 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgccctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

25 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
30 1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

35 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

40 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
45 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

50 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacacttct tgagaaggag
1560

55 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

ES 2 630 253 T3

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

5 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

10

<210> 17
<211> 1758
<212> DNA
15 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA13: HA with S270C

20 <400> 17
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

25 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

30 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

35 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

40 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

45 tataaagctg cttttacaga atggtgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

50 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtage tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
55 720

ES 2 630 253 T3

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtggt ctgatgacag ggcggacctt
780

5 gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattgt atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

10 gacttgccctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

15 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

20 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

25 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctg gaaaagtgg gatccaatg thgtaaacat
1320

30 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

35 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagthc ccaaatgctg cacagaatcc
1440

thgtgaaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagthc acgaaacata cgtthccaaa
1500

40 gagthtaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagatatat gcacactthc thgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac thcactthgt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

45 aaagagcaac thaaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa thgctgcaag
1680

50 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gagggtaaaa aactthgtgc thcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

55 <210> 18
<211> 1758

ES 2 630 253 T3

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

5 <223> TA14:HA with C316A

<400> 18

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

10

gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

15

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

20

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

25

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
420

30

gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcc
540

35

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

40

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcc a tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

45

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

50

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgttgctaa aaactatgct
960

55

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

ES 2 630 253 T3

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

5 tgtgccgctg ctgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagagag
1200

10 tacaaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
1320

15 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

20 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

25 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
30 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

35 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
40 1758

<210> 19
<211> 1758
<212> DNA
45 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA16: HA with C360S

50 <400> 19
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
55 120

ES 2 630 253 T3

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

5 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

10 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

15 gaaattgccca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgccca
540

20 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

25 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

30 gtccacacgg aatgctgccca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

35 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

40 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

45 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtct
1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

50 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

55 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ES 2 630 253 T3

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
1320

5 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

10 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

15 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
20 1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

25 gctgccttag gcttataa
1758

<210> 20
30 <211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
35 <223> TA17: HA with C361A

<400> 20
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
40 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
45 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

50 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

55 gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

ES 2 630 253 T3

gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

5 tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

10 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

15 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcc a tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

20 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

25 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

30 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

35 gctgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

40 taaaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

50 tgtgtgttgc atgagaaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

55 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

ES 2 630 253 T3

agacaaatca agaaacaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

5 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa
1740

10 gctgccttag gcttataa
1758

15 <210> 21
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

20 <220>
<223> TA18: HA with C361S

<400> 21

25 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

30 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

35 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
40 360

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaa atacttatat
420

45 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

50 aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
55 660

ES 2 630 253 T3

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

5 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

10 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgccctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

15 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
20 1080

tctgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

25 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

30 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
35 1380

tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaatgctg cacagaatcc
1440

40 ttggtgaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagthtaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
1560

45 agacaaatca agaaacaaac tgcacttht gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
50 1680

gctgacgata aggagacctg cthttgccgag gagggtaaaa aactthtgc tgcaagtcaa
1740

55 gctgccttag gcttataa
1758

ES 2 630 253 T3

```

<210> 22
<211> 1758
<212> DNA
5 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA19: HA with A364C

10 <400> 22
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
15 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

20 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300
25

tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
30 420

gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

35 tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgcctg cctggtgcc
540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600
40

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
45 720

gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

50 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900
55

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

```

ES 2 630 253 T3

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

5 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctt gtgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

10 gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

15 tacaaattcc agaatgctgt attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggctctc aagaaacctc ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

20 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

25 ttggtgaaca ggcgacctg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

30 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

35 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

40 gctgccttag gcttataa
1758

45 <210> 23
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

50 <220>
<223> TA20: HA with Q397C

<400> 23
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
55 60

ES 2 630 253 T3

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

5 aaattagtgatga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

10 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

15 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

20 gaaattgccca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atggtgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgccca
540

25 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

30 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

35 gtccacacgg aatgctgccca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

40 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

45 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

50 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

55 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagtg tcttgagag
1200

ES 2 630 253 T3

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

5 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

10 tgtgtggttc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

15 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

20 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

25 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

30

<210> 24
<211> 1758
<212> DNA
35 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA21: HA with A504C

40 <400> 24
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

45 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcgga
180

50 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

55 tgctttcttc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

ES 2 630 253 T3

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

5 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

10 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

15 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

20 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

25 aaacctctgt tgaaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

30 gacttgccctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

35 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

40 gtggaagagc ctcaaatat aatcaaaaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

45 ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctg gaaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

50 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtggttc atgagaaaa gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

55 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

ES 2 630 253 T3

gagtttaatt gtgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

5 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

10 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
15 1758

<210> 25
<211> 1758
20 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA22: HA with A578C
25

<400> 25
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

30 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

35 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
40 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

45 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

50 tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgctg cctggtgcca
540

aagctcogatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
55 600

ES 2 630 253 T3

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

5 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

10 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

15 gacttgcctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

20 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

25 tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcaaattht aatcaaaaa aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

30 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagthaccca agthtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccth ggaaaagtgg gatccaaatg thgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggthct gaaccagthh
1380

40 tgtgtgthtc atgagaaaa gccagthagt gacagagthc caaatgctg cacagaatcc
1440

thgtgthaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagthc acgaaacata cgtthccaaa
1500

45 gagththaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagathat gcacactthc thgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac thgactthgt gagctcgtga aacacagcc caaggcaaca
1620

50 aaagagcaac thaaagctgt thtgatgat thcgcagctt thgtagagaa gthctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg cththccgag gaggghaaaa aactththtc thgtagthca
1740

ES 2 630 253 T3

gctgccttag gcttataa
1758

5 <210> 26
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

10 <220>
<223> TA23: HA with A581C

<400> 26

15 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

20 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

25 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

30 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

35 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

40 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

45 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

50 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

55 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

ES 2 630 253 T3

gacttgcctt cattagctgc tgatthttggtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

5 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

10 tgtgccgctg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcaagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagagag
1200

15 taaaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

20 ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

25 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
30 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

35 agacaaatca agaaaciaac tgcacttggt gagctcgtga aacaciaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

40 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

tgtgccttag gcttataa
45 1758

<210> 27
<211> 1758
50 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA24: HA with C558S

55 <400> 27

ES 2 630 253 T3

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
5 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
10 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
15 360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
20 420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgctg cctggtgcca
25 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
30 660

cagagatttc ccaaagctga gtttgagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
35 720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
40 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgatthtgtt gaaagtaagg atgthtgcaa aaactatgct
45 960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
50 1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
55 1140

ES 2 630 253 T3

gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

5 taciaaattcc agaatgagct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

10 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

15 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgg acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
20 1560

agacaaatca agaaaciaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

25 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtcttgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

30 gctgccttag gcttataa
1758

35 <210> 28
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

40 <220>
<223> TA25: HA with C567S

<400> 28

45 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

50 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgagaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

55 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

ES 2 630 253 T3

tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
 360
 5 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
 420
 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480
 10 tataaagctg cttttacaga atggtgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcc
 540
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 15 600
 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
 660
 20 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
 720
 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780
 25 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840
 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 30 900
 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960
 35 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
 1020
 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080
 40 tgtgcccgtg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140
 gtggaagagc ctcaaatctt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 45 1200
 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
 1260
 50 ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctt ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
 1320
 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta
 1380
 55 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
 1440

ES 2 630 253 T3

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

5 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

10 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

15 gctgacgata aggagacctc ttttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

20

<210> 29
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

25

<220>
<223> TA26: HA with D549C

<400> 29

30 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

35 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

40 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

45 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

50 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
55 540

ES 2 630 253 T3

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600

5 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
 660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
 720

10 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780

15 gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900

20 gacttgcctt cattagctgc tgatthttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
 1020

25 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080

tgtgccgctg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140

30 gtggaagagc ctcaagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 1200

35 taaaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
 1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
 1320

40 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
 1440

45 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
 1500

50 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
 1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
 1620

55 aaagagcaac tgaagctgt tatgtgtgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
 1680

ES 2 630 253 T3

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
5 1758

<210> 30
<211> 1758
10 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA27: HA with D562C
15

<400> 30
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
20 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
25 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
30 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaaccaaac aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
35 420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
40 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
45 600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
50 720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
55 840

ES 2 630 253 T3

aaacctctgt tggaaaaatc cactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

5 gacttgccctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

10 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

15 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctgagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

20 taaaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

25 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

30 tgtgtggtgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaa
1500

35 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

40 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gcttgtgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
45 1740

gctgccttag gcttataa
1758

50

<210> 31
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

55

<220>
<223> TA28: HA with E505C

ES 2 630 253 T3

<400> 31
 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
 60

5
 gccttgggtg tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
 120

10
 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
 240

15
 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
 360

20
 gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
 420

25
 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480

tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgctg cctggtgcca
 540

30
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
 660

35
 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
 720

40
 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840

45
 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960

50
 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
 1020

55
 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080

ES 2 630 253 T3

tgtgccgctg ctgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

5 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttggagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

10 ccaactcttg tagaggctctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

15 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

20 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg cttgtacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

25 agacaaatca agaaaciaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

30 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

35 gctgccttag gcttataa
1758

<210> 32
<211> 1758
40 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA29: HA with L585C
45

<400> 32
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

50 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

55 aaattagtgat atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

ES 2 630 253 T3

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
 240
 5 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
 300
 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
 360
 10 gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
 420
 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480
 15 tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgcctg cctgttgcc
 540
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600
 20 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
 660
 25 cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
 720
 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780
 30 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840
 aaacctctgt tgaaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900
 35 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960
 40 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
 1020
 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080
 45 tgtgccgctg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140
 gtggaagagc ctcaaatcc aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 1200
 50 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
 1260
 55 ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctg gaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
 1320

ES 2 630 253 T3

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

5 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

10 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatata gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

15 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
20 1740

gctgccttag gctgttaa
1758

25

<210> 33
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

30

<220>
<223> TA33: HA with A2C and L585C

<400> 33

35 gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
40 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
45 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

50 tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

55 gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

ES 2 630 253 T3

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

5 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

10 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
15 780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

20 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgccctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

25 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
30 1080

tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

35 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

40 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
45 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

50 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

55 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

ES 2 630 253 T3

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

5 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gctgttaa
1758

10

<210> 34
<211> 1758
<212> DNA
15 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA34: HA with A2C and A504C

20 <400> 34
gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

25 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

30 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

35 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

40 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

45 tataaagctg cttttacaga atggtgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

50 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtage togcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
55 720

ES 2 630 253 T3

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

5 gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

10 gacttgccctt cattagctgc tgatthttgth gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

15 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

20 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

25 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg thgtaaacat
1320

30 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

35 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

thgtggaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgtthccaaa
1500

40 gagthtaatt gtgaaacatt cacctthcat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcactgtht gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

45 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
1680

50 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gagggtaaaa aactgthtc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

55 <210> 35
<211> 1758

ES 2 630 253 T3

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

5 <223> TA35: HA with A2C, A364C and D562C

<400> 35

gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

10

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

15

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

20

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

25

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
420

30

gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

35

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

40

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

45

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

50

aaacctctgt tggaaaaate ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

55

gacttgcctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

ES 2 630 253 T3

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

5 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

tgtgccgctt gtgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

10 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

15 ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctc ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
20 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

25 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

30 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
35 1680

gcttgtgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

40 gctgccttag gcttataa
1758

<210> 36
45 <211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
50 <223> TA36: HA with A2C, C34A, A364C and D562C

<400> 36
gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

55 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagg ctccatttga agatcatgta
120

ES 2 630 253 T3

aaattagtgatga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
 180
 5 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
 240
 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
 300
 10 tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
 360
 gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
 420
 15 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480
 20 tataaagctg cttttacaga atggtgcca gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
 540
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600
 25 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
 660
 30 cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
 720
 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780
 35 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840
 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900
 40 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960
 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
 1020
 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080
 50 tgtgcccgtt gtgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140
 gtggaagagc ctcaagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 1200
 55 tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
 1260

ES 2 630 253 T3

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
1320

5 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

10 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

15 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacacttcc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

20 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

gcttgtgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

25 gctgccttag gcttataa
1758

30 <210> 37
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

35 <220>
<223> TA38: HA withA2C, A364C, D562C and L585C

<400> 37

40 gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

45 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

50 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

55 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

ES 2 630 253 T3

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

5 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

10 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

15 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

20 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

25 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgccctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

30 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

35 tgtgccgctt gtgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

40 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

45 ccaactcttg tagaggcttc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

50 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

tgtgtgttgc atgagaaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

55 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

ES 2 630 253 T3

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

5 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

10 gcttgtgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gctgttaa
15 1758

<210> 38
<211> 1758
20 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA39: HA with C34A, A504C and E505C.
25

<400> 38
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

30 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagg ctccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

35 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
40 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

45 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

50 tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgctg cctggtgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
55 600

ES 2 630 253 T3

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

5 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

10 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

15 gacttgcctt cattagctgc tgatthttggt gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

20 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

25 tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcaaattht aatcaaaaa aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

30 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagthaccca agthtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccth ggaaaagtgg gatccaaatg thgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggthct gaaccagthh
1380

40 tgtgtgthtc atgagaaaa gccagthagt gacagagthc caaatgctg cacagaatcc
1440

thgtgaaaca ggcgacctg cthtttcagct ctggaagthc acgaaacata cgtthccaaa
1500

45 gagththaat gthgtacatt cacctthcat gcagathat gcacactthc thgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac thgactthgt gagctcgtga aacacagcc caaggcaaca
1620

50 aaagagcaac thaaagctgt thtgatgat thcgcagctt thgtagagaa gthctgcaag
1680

55 gctgacgata aggagacctg cththccgag gaggghaaaa aactthgtgc thcaagthca
1740

ES 2 630 253 T3

gctgccttag gcttataa
1758

5 <210> 39
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

10 <220>
<223> TA41: HA with S270C and A581C

<400> 39
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
15 60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
20 180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240
25 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
30 360
gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420
35 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540
40 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
45 660
cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720
50 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780
gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattgt atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840
55 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

ES 2 630 253 T3

gacttgccctt cattagctgc tgatthttgth gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

5 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatath aaaccactct agagaagtgc
1080

10 tgtgcccgtg ctgacccca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
15 1200

tacaaattcc agaatgctct attagthctg tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

20 ccaactcttg tagaggthct aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg thgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggthct gaaccagtha
1380

25 tgtgtgthtg atgagaaaac gccagthaat gacagagtha ccaaatgctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtct acgaaacata cgtthccaaa
30 1500

gagththaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagathath gcacactthc tgagaaggag
1560

35 agacaaatca agaaacaaac tgcactgtht gagctctgta aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
1680

40 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gaggghaaaa aactgthtgct tgcaagtcaa
1740

tgtgccttag gcttataa
45 1758

<210> 40
<211> 1758
50 <212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TA43: HA with D129C, S270C and A581C
55 <400> 40

ES 2 630 253 T3

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

5 gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

10 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

15 tgctttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcattgtaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
420

20 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

25 tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

30 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

35 cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

40 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattgt atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

50 gaggcaaagg atgtcttccct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

55 tgtgocgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

ES 2 630 253 T3

gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

5 taciaaattcc agaatgagct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
1320

10 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

15 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgg acgaaacata cgttcccaaa
1500

20 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaaciaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

25 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

30 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

tgtgccttag gcttataa
1758

35

<210> 41
<211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

40

<220>
<223> TA46: HA with C169S

<400> 41

45 gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

50 aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgagaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
55 240

ES 2 630 253 T3

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
 300
 5 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
 360
 gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat
 420
 10 gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480
 15 tataaagctg cttttacaga atgttctcaa gctgctgata aagctgctg cctggtgcc
 540
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600
 20 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
 660
 cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa
 720
 25 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780
 30 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840
 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900
 35 gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgttgctaa aaactatgct
 960
 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
 1020
 40 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080
 45 tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140
 gtggaagagc ctcagaatth aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 1200
 50 tacaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
 1260
 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
 1320
 55 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta
 1380

ES 2 630 253 T3

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc
1440

5 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaaa
1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

10 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

15 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
20 1758

<210> 42
25 <211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
30 <223> TA47: HA with D129C, C360S and L585C

<400> 42
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

35 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
40 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

45 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
50 360

gatgtgatgt gactgcttt tcattgtaat gaagagacat tttgaaaaa atacttatat
420

gaaattgccca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
55 480

ES 2 630 253 T3

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
 540

5 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
 660

10 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
 720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780

15 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840

20 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
 960

25 gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
 1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtct
 1080

30 tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140

35 gtggaagagc ctcagaatth aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
 1200

taaaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
 1260

40 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacat
 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta
 1380

45 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
 1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
 1560

55 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
 1620

ES 2 630 253 T3

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

5 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gctgttaa
1758

10 <210> 43
<211> 1761
<212> DNA
<213> Artificial sequence

15 <220>
<223> TA51: HA with A2C and a cysteine immediately before the stop
codon

20 <400> 43
gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

25 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

30 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

35 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

40 gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaa atacttatat
420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

45 tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctggtgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

50 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtage tcgcctgagc
660

55 cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

ES 2 630 253 T3

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

5 gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

10 gacttgccctt cattagctgc tgatthttgth gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
1020

15 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

20 tgtgccgctg ctgacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcatgaatt taaacctct
1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
1200

25 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctg gaaaagtgg gatccaatg thgtaaacat
1320

30 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat cctgggtctt gaaccagtta
1380

35 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaatgctg cacagaatcc
1440

thgtgaaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtcg acgaaacata cgttcccaa
1500

40 gagthtaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcactgtht gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

45 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
1680

50 gctgacgata aggagacctg cthtgccgag gagggtaaaa aactgthtc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttatgtht a
1761

55 <210> 44
<211> 1761

ES 2 630 253 T3

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

5 <223> TA57: HA with A2C and a Cys insertion between G584 and L585

<400> 44

gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

10

gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

15

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

20

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

25

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

30

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

35

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

40

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
780

45

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

50

aaacctctgt tggaaaaate ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgcctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

55

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat
1020

ES 2 630 253 T3

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

5 tgtgccgctg ctgacacctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

gtggaagagc ctcagaattht aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagagag
1200

10 tacaaaattcc agaatgctgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtcaact
1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaaatg ttgtaaacad
1320

15 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

20 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc
1440

ttggtgaaca ggcgacctg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

25 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
30 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

35 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gctgtttata a
1761

40

<210> 45
<211> 1755
<212> DNA

45 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA60: HA with A2C deltion of C316

50 <400> 45
gattgtcaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
55 120

ES 2 630 253 T3

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
 180

5 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa
 300

10 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagagggt
 360

gatgtgatgt gcaactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
 420

15 gaaattgccca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
 480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgccca
 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
 600

25 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
 660

cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
 720

30 gtccacacgg aatgctgccca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780

gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900

40 gacttgcctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgttaaaaa ctatgctgag
 960

gcaaaggatg tcttcctggg catgtttttg tatgaatatg caagaaggca tcctgattac
 1020

45 tctgtcgtgc tgctgctgag acttgccaag acatatgaaa ccaactctaga gaagtgctgt
 1080

gccgctgctg atcctcatga atgctatgcc aaagtgttcg atgaatttaa acctcttgtg
 1140

gaagagcctc agaatttaat caaacaaaat tgtgagcttt ttgagcagct tggagagtac
 1200

55 aaattccaga atgcgctatt agttcgttac accaagaaag taccccaagt gtcaactcca
 1260

ES 2 630 253 T3

actctttag aggtctcaag aaacctagga aaagtgggat ccaaatgttg taaacatcct
1320

5 gaagcaaaaa gaatgccctg tgcagaagac tatctatccg tggcctgaa ccagttatgt
1380

gtgttgcatg agaaaacgcc agtaagtgac agagtcacca aatgctgcac agaatccttg
1440

10 gtgaacaggc gaccatgctt ttcagctctg gaagtgcacg aaacatacgt tcccaaagag
1500

tttaatgctg aacattcac cttccatgca gatatatgca cactttctga gaaggagaga
1560

15 caaatcaaga aacaaactgc acttggtgag ctcgtgaaac acaagcccaa ggcaacaaaa
1620

gagcaactga aagctgttat ggatgatttc gcagcttttg tagagaagtg ctgcaaggct
20 1680

gacgataagg agacctgctt tgccgaggag ggtaaaaaac ttgttgctgc aagtcaagct
1740

25 gccttaggct tataa
1755

<210> 46
30 <211> 1758
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
35 <223> TA63: HA with H39C and C253P

<400> 46
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
40 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagat cttcagcagt gtccatttga agattgtgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
45 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

50 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

55 gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
420

ES 2 630 253 T3

gaaattgcc a gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

5 tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca
540

aagctcgatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

10 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tgcctgagc
660

15 cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
720

gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctcgagccag ctgatgacag ggcggacctt
780

20 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
840

25 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
900

gacttgccctt cattagctgc tgattttggt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct
960

30 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccctgat
1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
1080

35 tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
1140

40 gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacia aattgtgagc tttttgagca gcttgagag
1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
1260

45 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg ttgtaaacat
1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
1380

50 tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc
1440

55 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgttcccaaa
1500

ES 2 630 253 T3

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag
1560

5 agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag
1680

10 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa
1740

gctgccttag gcttataa
1758

15

<210> 47
<211> 1758
<212> DNA
20 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA64: HA with C177F

25 <400> 47
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa
60

30 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta
120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtccgcggaa
180

35 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt
240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa
300

40 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt
360

gatgtgatgt gactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat
45 420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg
480

50 tataaagctg cttttacaga atgttgcca gctgctgata aagctgcctt tctggtgcca
540

aagctcogatg aacttcggga tgaaggaag gctagctctg ccaaacagag actcaagtgt
600

55 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc
660

ES 2 630 253 T3

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa
 720
 5 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctcgagtgtg ctgatgacag ggcggacctt
 780
 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa
 840
 10 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct
 900
 15 gacttgccctt cattagctgc tgatthttgth gaaagtaagg atgthttgcaa aaactatgct
 960
 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgtht ttgtatgaa atgcaagaag gcatcctgat
 1020
 20 tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc
 1080
 tgtgccgctg ctgatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt
 1140
 25 gtggaagagc ctcaaattht aatcaaaca aattgtgagc thtttgagca gcttgagag
 1200
 30 taaaaattcc agaatgcgct attagthctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact
 1260
 ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gatccaatg thgtaaacat
 1320
 35 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta
 1380
 tgtgtgthtc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaatgctg cacagaatcc
 1440
 40 thggtgaaca ggcgacctg cthttcagct ctggaagtgc acgaaacata cgtthccaaa
 1500
 45 gagthtaatg ctgaaacatt cacctthcat gcagatatat gcacactthc tgagaaggag
 1560
 agacaaatca agaaacaaac tgcactgtht gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca
 1620
 50 aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat thcgcagctt thgtagagaa gtgctgcaag
 1680
 gctgacgata aggagacctg cthttgccgag gagggtaaaa aactgthtc tgcaagtcaa
 1740
 55 gctgccttag gcttataa
 1758

ES 2 630 253 T3

```

5  <210> 48
   <211> 1767
   <212> DNA
   <213> Artificial sequence

   <220>
10  <223> TA65: HA with a Cys at the N-terminus and an Ala-Cys extension
   at
       the C-terminus

   <400> 48
15  tgtgatgcac acaagagtga ggttgctcat cggtttaaag atttgggaga agaaaatttc
   60

   aaagccttgg tgttgattgc ctttgctcag tatcttcagc agtgtccatt tgaagatcat
120

20  gtaaaattag tgaatgaagt aactgaattt gcaaaaacat gtggtgctga tgagtccgcg
   180

   gaaaattgtg acaaatcact tcataccctt tttggagaca aattatgcac agttgcaact
240
25  cttcgtgaaa cctatgggtga aatggctgac tgctgtgcaa aacaagaacc tgagagaaat
   300

   gaatgcttct tgcaacacaa agatgacaac ccaaacctcc cccgattggg gagaccagag
30  360

   gttgatgtga tgtgcaactgc ttttcatgac aatgaagaga ctttttgaa aaaatactta
420

35  tatgaaattg ccagaagaca tccttacttt tatgccccgg aactcctttt ctttgctaaa
   480

   aggtataaag ctgcttttac agaatgttgc caagctgctg ataaagctgc ctgcctgttg
40  540

   ccaaagctcg atgaacttcg ggatgaaggg aaggctagct ctgccaaaca gagactcaag
600

45  tgtgccagtc tccaaaaatt tggagaaaga gctttcaaag catgggcagt agctcgcctg
   660

   agccagagat ttcccaaagc tgagtttgca gaagtttcca agttagtgc agatcttacc
720

50  aaagtccaca cggaatgctg ccatggagat ctgctcgagt gtgctgatga cagggcggac
   780

   cttgccaaagt atatctgtga aatcaagat tcgatctcca gtaaactgaa ggaatgctgt
840
55  gaaaaacctc tgttgaaaaa atcccactgc attgcccgaag tggaaaatga tgagatgcct
   900

```

ES 2 630 253 T3

gctgacttgc cttcattagc tgctgatttt gttgaaagta aggatgtttg caaaaactat
 960

5 gctgaggcaa aggatgtctt cctgggcatg tttttgtatg aatatgcaag aaggcatcct
 1020

gattactctg tcgtgctgct gctgagactt gccaagacat atgaaaccac tctagagaag
 1080

10 tgctgtgccg ctgctgatcc tcatgaatgc tatgccaag tgttcgatga atttaaact
 1140

cttgtggaag agcctcagaa tttaatcaaa caaaattgtg agctttttga gcagcttga
15 1200

gagtacaaat tccagaatgc gctattagtt cgttacacca agaaagtacc ccaagtgtca
 1260

20 actccaactc ttgtagaggt ctcaagaaac ctaggaaaag tgggatccaa atgttgtaaa
 1320

catcctgaag caaaaagaat gccctgtgca gaagactatc tatccgtggg cctgaaccag
 1380

25 ttatgtgtgt tgcattgagaa aacgccagta agtgacagag tcaccaaag ctgcacagaa
 1440

tccttggtga acagggcacc atgcttttca gctctggaag tcgacgaaac atacgttccc
30 1500

aaagagttta atgctgaaac attcacctc catgcagata tatgcacact ttctgagaag
 1560

35 gagagacaaa tcaagaaaca aactgcactt gttgagctcg tgaacacaa gcccaaggca
 1620

acaaaagagc aactgaaagc tggtatggat gatttcgcag cttttgtaga gaagtgctgc
 1680

40 aaggctgacg ataaggagac ctgctttgcc gaggagggtg aaaaacttgt tgctgcaagt
 1740

caagctgcct taggcttagc ttgttaa
45 1767

<210> 49

50 <211> 609
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

55 <223> HA with fusion leader sequence

<400> 49

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val
	225					230					235					240
5	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser
					245					250					255	
10	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly
				260					265					270		
15	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
			275					280					285			
20	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
		290					295					300				
25	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
	305					310					315					320
30	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
					325					330					335	
35	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
				340					345					350		
40	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
			355					360					365			
45	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
		370					375					380				
50	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
	385					390					395					400
55	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
					405					410					415	
60	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
				420					425					430		
65	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
			435					440					445			
70	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 10 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 15 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 20 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 25 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 30 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 51
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 35 <220>
 <223> TA2: HA with D1C
 <400> 51
 40 Cys Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 45 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 50 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 55 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

ES 2 630 253 T3

5 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 10 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 15 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 20 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 25 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 30 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 35 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 40 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 45 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 50 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 55 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

ES 2 630 253 T3

5 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 10 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 15 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 20 <210> 52
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 25 <223> TA3: HA with C75S
 <400> 52
 30 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 35 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 40 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 45 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Ser Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 50 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 55 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 5
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 10
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 15
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 20
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 25
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 30
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 35
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 40
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 45
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 50
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 55
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

ES 2 630 253 T3

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

5

<210> 53
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

10

<220>
 <223> TA4: HA with T79C

<400> 53

15

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

20

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

25

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

30

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

35

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Cys Leu
 65 70 75 80

40

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

45

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

50

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

55

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

ES 2 630 253 T3

5 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 10 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 15 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 20 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 25 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 30 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 35 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 40 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 45 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 50 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 55 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

ES 2 630 253 T3

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 5
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 10
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 15
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 20
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 25
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 30
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 35
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 40
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 45
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 50
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 55
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 54
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> TA5: HA with E82C

ES 2 630 253 T3

<400> 54

5 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

10 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

15 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

20 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

25 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

30 Arg Cys Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

35 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

40 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

45 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

50 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

55 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

60 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

65 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

70 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

ES 2 630 253 T3

5 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 10 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 15 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 20 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 25 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 30 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 35 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 40 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 45 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 50 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 55 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

ES 2 630 253 T3

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

5
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

10
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

15
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

20
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

25
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

30
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

35
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

40
<210> 55
<211> 585
<212> PRT
<213> Artificial sequence

45
<220>
<223> TA6: HA with E86C

50
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

55
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

60
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

5
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

10
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

15
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

20
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

25
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

30
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

35
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

40
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

45
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

50
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

55
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

60
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

65
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

ES 2 630 253 T3

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 5
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 10
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 15
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 20
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 25
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 30
 <210> 56
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> TA7: HA with C124S
 35
 <400> 56
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 40
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 45
 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 50
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 55
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

	305				310					315					320	
5	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
					325					330					335	
10	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
				340					345					350		
15	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
			355					360					365			
20	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
		370					375					380				
25	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
	385					390					395					400
30	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
					405					410					415	
35	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
				420					425					430		
40	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys
			435					440					445			
45	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His
		450					455					460				
50	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser
	465					470					475					480
55	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr
					485					490					495	
60	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp
				500					505					510		
65	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
			515					520					525			
70	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu
		530					535					540				

ES 2 630 253 T3

5 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

10 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

15 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 57
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

20 <220>
 <223> TA8: HA with C168S

25 <400> 57

30 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

35 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

40 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

45 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

50 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

55 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

60 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

65 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

ES 2 630 253 T3

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

5

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

10

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Ser Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

15

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

20

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

25

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

30

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240

35

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255

40

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

45

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

50

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

55

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

ES 2 630 253 T3

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 5 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 10 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 15 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 20 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 25 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 30 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 35 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 40 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 45 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 50 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 55 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 60 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 65 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 70 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

ES 2 630 253 T3

580

585

5 <210> 58
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

 <220>
 10 <223> TA9: HA with C169S

 <400> 58

 15 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 20 25 30

 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 25 35 40 45

 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

 30 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 35 85 90 95

 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 40 100 105 110

 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 45 115 120 125

 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

 50 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Ser Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 55 165 170 175

ES 2 630 253 T3

	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser
				180					185					190		
5	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu
			195					200					205			
10	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro
		210					215					220				
15	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
	225					230					235					240
20	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
					245					250					255	
25	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
				260					265					270		
30	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
			275					280					285			
35	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
		290					295					300				
40	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
	305					310					315					320
45	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
				325						330					335	
50	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
				340					345					350		
55	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
			355					360					365			
60	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
		370					375					380				
65	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
	385					390					395					400

ES 2 630 253 T3

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 5 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 10 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 15 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 20 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 25 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 30 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 35 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 40 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 45 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 50 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 55 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 59
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> TA10: HA with C91S
 <400> 59

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 5 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 10 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 15 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 20 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 25 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 30 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 35 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 40 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 45 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 50 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 55 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 60 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 65 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 70 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

ES 2 630 253 T3

	450		455		460												
5	Glu 465	Lys	Thr	Pro	Val	Ser 470	Asp	Arg	Val	Thr	Lys 475	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser 480	
10	Leu	Val	Asn	Arg	Arg 485	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala 490	Leu	Glu	Val	Asp	Glu 495	Thr	
15	Tyr	Val	Pro	Lys 500	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu 505	Thr	Phe	Thr	Phe	His 510	Ala	Asp	
20	Ile	Cys	Thr 515	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu 520	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys 525	Gln	Thr	Ala	
25	Leu	Val 530	Glu	Leu	Val	Lys	His 535	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr 540	Lys	Glu	Gln	Leu	
30	Lys 545	Ala	Val	Met	Asp	Asp 550	Phe	Ala	Ala	Phe	Val 555	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys 560	
35	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu 565	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu 570	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu 575	Val	
40	Ala	Ala	Ser	Gln 580	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu 585								
	<210>	60															
	<211>	585															
	<212>	PRT															
40	<213>	Artificial sequence															
	<220>																
	<223>	TA11: HA with D121C															
45	<400>	60															
50	Asp 1	Ala	His	Lys	Ser 5	Glu	Val	Ala	His	Arg 10	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly 15	Glu	
55	Glu	Asn	Phe	Lys 20	Ala	Leu	Val	Leu	Ile 25	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr 30	Leu	Gln	
60	Gln	Cys	Pro 35	Phe	Glu	Asp	His	Val 40	Lys	Leu	Val	Asn	Glu 45	Val	Thr	Glu	

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

5 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

10 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

15 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

20 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

25 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

30 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

35 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

40 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

45 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

50 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

55 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

ES 2 630 253 T3

			500					505					510			
5	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
			515					520					525			
10	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu
		530					535					540				
15	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys
	545					550					555					560
20	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val
					565					570					575	
25	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu							
			580					585								
	<210>	61														
	<211>	585														
	<212>	PRT														
	<213>	Artificial sequence														
	<220>															
30	<223>	TA12: HA with D129C														
	<400>	61														
35	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu
	1			5						10					15	
40	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln
			20						25					30		
45	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu
			35					40					45			
50	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
	50						55					60				
55	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu
	65					70					75					80
60	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro
					85					90					95	

ES 2 630 253 T3

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

5 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

10 Cys Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

15 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

20 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

25 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

30 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

35 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240

40 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255

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

45 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

50 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

55 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

ES 2 630 253 T3

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 5 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 10 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 15 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 20 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 25 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 30 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 35 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 40 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 45 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 50 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 55 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

	370		375		380												
5	Gln 385	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln 390	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe 395	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu 400	
10	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn 405	Ala	Leu	Leu	Val	Arg 410	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val 415	Pro	
15	Gln	Val	Ser	Thr 420	Pro	Thr	Leu	Val	Glu 425	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	
20	Val	Gly	Ser 435	Lys	Cys	Cys	Lys	His 440	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	
25	Ala	Glu 450	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val 455	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	
30	Glu 465	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp 470	Arg	Val	Thr	Lys 475	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser 480	
35	Leu	Val	Asn	Arg	Arg 485	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala 490	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr 495	
40	Tyr	Val	Pro	Lys 500	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu 505	Thr	Phe	Thr	Phe	His 510	Ala	Asp	
45	Ile	Cys	Thr 515	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu 520	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys 525	Gln	Thr	Ala	
50	Leu	Val 530	Glu	Leu	Val	Lys	His 535	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr 540	Lys	Glu	Gln	Leu	
55	Lys 545	Ala	Val	Met	Asp	Asp 550	Phe	Ala	Ala	Phe	Val 555	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys 560	
60	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu 565	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu 570	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu 575	Val	
65	Ala	Ala	Ser	Gln 580	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu 585								
70	<210>	63															
75	<211>	585															

ES 2 630 253 T3

<212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 5 <223> TA14: HA with C316A

<400> 63

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

ES 2 630 253 T3

	195		200		205											
5	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro
	210						215					220				
10	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
	225					230					235					240
15	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
					245					250					255	
20	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
				260					265					270		
25	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
	290						295					300				
30	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Ala	Lys	Asn	Tyr	Ala
	305					310					315					320
35	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
					325					330					335	
40	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
				340					345					350		
45	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
			355					360					365			
50	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
	370						375					380				
55	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
	385					390					395					400
60	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
					405					410					415	
65	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
				420					425					430		

ES 2 630 253 T3

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 5
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 10
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 15
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 20
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 25
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 30
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 35
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 40
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 45
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 64
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> TA16: HA with C360S
 <400> 64
 55
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

				245					250					255		
5	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
				260					265					270		
10	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
			275					280					285			
15	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
		290					295					300				
20	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
	305					310					315					320
25	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
				340					345					350		
30	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Ser	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
			355					360					365			
35	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
		370					375					380				
40	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
	385					390					395					400
45	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
					405					410					415	
50	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
				420					425					430		
55	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys
			435					440					445			
60	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His
		450					455					460				
65	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser
	465					470					475					480

ES 2 630 253 T3

5 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 10 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 15 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 20 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 25 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 30 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 65
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 35 <220>
 <223> TA17: HA with C361A
 <400> 65
 40 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 45 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 50 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 55 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

ES 2 630 253 T3

5 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 10 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 15 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 20 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Ala Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 25 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 30 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 35 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 40 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 45 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 50 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 55 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 60 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 65 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 70 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

ES 2 630 253 T3

5 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 10 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 15 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 20 <210> 66
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 25 <223> TA18: HA with C361S
 <400> 66
 30 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 35 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 40 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 45 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 50 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 55 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Ser Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 5
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 10
 Gln Asn Leu Ile Lys Glu Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 15
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 20
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 25
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 30
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 35
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 40
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 45
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 50
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 55
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

ES 2 630 253 T3

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

5

<210> 67
<211> 585
<212> PRT
<213> Artificial sequence

10

<220>
<223> TA19: HA with A364C

<400> 67

15

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

20

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

25

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

30

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

35

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

40

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

45

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

50

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

55

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

ES 2 630 253 T3

5 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

10 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

15 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

20 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

25 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

30 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

35 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

40 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

45 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

50 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Cys Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

55 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

ES 2 630 253 T3

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 5
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 10
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 15
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 20
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 25
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 30
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 35
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 40
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 45
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 50
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 55
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 68
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> TA20: HA with Q397C

ES 2 630 253 T3

<400> 68

5 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

10 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

15 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

20 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

25 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

30 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

35 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

40 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

45 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

50 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

55 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

ES 2 630 253 T3

5 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 10 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 15 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 20 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 25 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 30 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 35 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 40 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 45 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Cys Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 50 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 55 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

ES 2 630 253 T3

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

5
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

10
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

15
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

20
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

25
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

30
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

35
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

40
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 69
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> TA21: HA with A504C

45
 <400> 69

50
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

55
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

5
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

10
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

15
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

20
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

25
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

30
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

35
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

40
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

45
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

50
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

55
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

60
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

65
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

ES 2 630 253 T3

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Cys Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 5
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 10
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 15
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 20
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 25
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 30
 <210> 70
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 35
 <220>
 <223> TA22: HA with A578C
 40
 <400> 70
 35
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 40
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 45
 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 50
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 55
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 60
 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

ES 2 630 253 T3

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 5
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 10
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 15
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 20
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 25
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 30
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 35
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 40
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 45
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 50
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 55
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

ES 2 630 253 T3

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

5 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

10 Ala Cys Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

15 <210> 71
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

20 <220>
 <223> TA23: HA with A581C
 <400> 71

25 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

30 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

35 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

40 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

45 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

50 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

55 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 5
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 10 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 15 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 20 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 25 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 30 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 35 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 40 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 45 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 50 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 55 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 60 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 65 Ala Ala Ser Gln Cys Ala Leu Gly Leu
 580 585

ES 2 630 253 T3

<210> 72
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

5

<220>
 <223> TA24: HA with C558S

<400> 72

10

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

20

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

25

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

30

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

35

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

40

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

45

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

50

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

55

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

ES 2 630 253 T3

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

5
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

10
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

15
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

20
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

25
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

30
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

35
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

40
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

45
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

50
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

55
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

60
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

65
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

ES 2 630 253 T3

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

5 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

10 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

15 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

20 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

25 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

30 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

35 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Ser Cys Lys
545 550 555 560

40 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

45 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

45 <210> 73
<211> 585
<212> PRT
<213> Artificial sequence

50 <220>
<223> TA25: HA with C567S

<400> 73

55 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

ES 2 630 253 T3

5 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

10 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

15 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

20 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

25 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

30 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

35 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

40 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

45 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

50 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

55 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

60 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

65 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

70 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

ES 2 630 253 T3

5 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 10 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 15 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 20 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 25 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 30 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 35 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 40 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 45 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 50 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 55 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

ES 2 630 253 T3

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 5
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 10 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 15 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 20 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 25 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 30 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Ser Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 35 <210> 74
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 40 <220>
 <223> TA26: HA with D549C
 <400> 74
 45 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 50 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 55 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 10 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 15 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 20 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 25 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 30 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 35 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 40 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 45 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 50 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 55 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 60 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 65 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

ES 2 630 253 T3

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

5
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

10
Lys Ala Val Met Cys Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

15
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

20
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 75
<211> 585
<212> PRT
25 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA27: HA with D562C

30 <400> 75

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

35
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

40
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

50
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

55
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

60
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

5
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

10
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

15
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

20
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

25
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

30
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

35
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

40
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

45
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

50
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

55
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

60
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

65
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

ES 2 630 253 T3

Ala Cys Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

5
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

10 <210> 76
<211> 585
<212> PRT
<213> Artificial sequence

15 <220>
<223> TA28: HA with E505C
<400> 76

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

25 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

30 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

35 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

40 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

45 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

50 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

55 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

60 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

65 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

ES 2 630 253 T3

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 5
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 10
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 15
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 20
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 25
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 30
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 35
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 40
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 45
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 50
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 55
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

ES 2 630 253 T3

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 5
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 10
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 15
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 20
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 25
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 30
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 35
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Cys Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 40
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 45
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 50
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 55
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 60
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 <210> 77
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

ES 2 630 253 T3

<220>

<223> TA29: HA with L585C

5 <400> 77

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

10

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

15

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

20

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

25

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

30

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

35

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

40

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

45

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

50

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

55

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

ES 2 630 253 T3

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 5
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 10
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 15
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 20
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 25
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 30
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 35
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 40
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 45
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 50
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 55
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 55
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

ES 2 630 253 T3

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

5
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

10
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

15
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

20
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

25
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

30
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

35
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

40
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

45
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Cys
 580 585

<210> 78
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> TA33: HA with A2C and L585C

50
 <400> 78

Asp Cys His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

55
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 5
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 10
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 15
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 20
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 25
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 30
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 35
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 40
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 45
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 50
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 55
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

ES 2 630 253 T3

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 5 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 10 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 15 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 20 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 25 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 30 <210> 79
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 35 <223> TA34: HA with A2C and A504C
 <400> 79
 40 Asp Cys His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 45 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 50 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 55 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 65 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 70 75 80

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 5 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 10 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 15 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 20 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 25 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 30 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 35 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 40 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 45 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 50 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 55 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 60 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Cys Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 65 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

ES 2 630 253 T3

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

5 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

10 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

15 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

20 <210> 80
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

25 <220>
 <223> TA35: HA with A2C, A364C and D562C
 <400> 80

Asp Cys His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

30 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

35 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

40 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

45 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

50 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

55 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

55 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

ES 2 630 253 T3

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

5

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

10

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

15

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

20

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

25

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

30

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240

35

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255

40

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

45

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

50

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

55

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

ES 2 630 253 T3

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Cys Asp Pro His Glu
 355 360 365

5 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

10 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

15 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

20 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

25 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

30 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

35 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

40 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

45 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

50 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

55 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

60 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

65 Ala Cys Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

ES 2 630 253 T3

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

5 <210> 81
<211> 585
<212> PRT
<213> Artificial sequence

10 <220>
<223> TA36: HA with A2C, A364C and D562C

<400> 81

15 Asp Cys His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

20 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

25 Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

30 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

35 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

40 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

45 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

50 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

55 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

ES 2 630 253 T3

5 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 10 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 15 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 20 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 25 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 30 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 35 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 40 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 45 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Cys Asp Pro His Glu
 355 360 365
 50 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 55 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

ES 2 630 253 T3

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 5
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 10 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 15 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 20 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 25 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 30 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 35 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 40 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Cys Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 45 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 50 <210> 82
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 55 <220>
 <223> TA38: HA with A2C, A364C, D562C and L585C

ES 2 630 253 T3

<400> 82

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

ES 2 630 253 T3

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 5
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 10
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 15
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 20
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 25
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 30
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 35
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 40
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Cys Asp Pro His Glu
 355 360 365
 45
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 50
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 55
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

ES 2 630 253 T3

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

5 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

10 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

15 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

20 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

25 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

30 Ala Cys Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

35 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Cys
580 585

<210> 83
<211> 585
<212> PRT
40 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA39: HA with C34A, A504C and E505C.

45 <400> 83

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

50 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

55 Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

5 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

10 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

15 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

20 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

25 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

30 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

35 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

40 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

45 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

50 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

55 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Cys Cys Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

ES 2 630 253 T3

				500					505						510	
5	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
			515					520					525			
10	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu
		530					535					540				
15	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys
	545					550					555					560
20	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val
					565					570					575	
25	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu							
			580					585								
	<210>	84														
	<211>	585														
	<212>	PRT														
	<213>	Artificial sequence														
	<220>															
30	<223>	TA41: HA with S270C and A581C														
	<400>	84														
35	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu
	1			5						10					15	
40	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln
			20						25					30		
45	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu
			35					40					45			
50	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
	50						55					60				
55	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu
	65					70					75					80
60	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro
					85					90					95	

ES 2 630 253 T3

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

5 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

10 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

15 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

20 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

25 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

30 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240

35 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255

40 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Cys Ile Ser
 260 265 270

45 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

50 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

55 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

5 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

10 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

15 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

20 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

25 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

30 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

35 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

40 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

45 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

50 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

55 Ala Ala Ser Gln Cys Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 86

ES 2 630 253 T3

<211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

5 <220>
 <223> TA46: HA with C169S
 <400> 86

10 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

15 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

20 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

25 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

30 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

35 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

40 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

45 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

50 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Ser Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

55 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

ES 2 630 253 T3

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

5 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

10 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

15 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

20 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

25 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

30 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Ala Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

35 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

40 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

45 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

50 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

55 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

ES 2 630 253 T3

				420					425						430		
5	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	
			435					440					445				
10	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	
		450					455					460					
15	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	
	465					470					475					480	
20	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	
				500					505					510			
25	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	
			515					520					525				
30	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	
		530					535					540					
35	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	
	545					550					555					560	
40	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu								
				580					585								
45	<210>	87															
	<211>	585															
	<212>	PRT															
	<213>	Artificial sequence															
50	<220>																
	<223>	TA47: HA with D129C and L585C															
	<400>	87															
55	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	
	1				5					10					15		

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

5 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

10 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

15 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

20 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

25 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

30 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Ser Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

35 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

40 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

45 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

50 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

55 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

ES 2 630 253 T3

	465				470						475					480
5	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr
					485					490					495	
10	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp
				500					505					510		
15	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
			515					520					525			
20	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu
		530					535					540				
25	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys
	545				550						555					560
30	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val
				565						570					575	
	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys							
			580						585							
35	<210>	88														
	<211>	586														
	<212>	PRT														
	<213>	Artificial sequence														
40	<220>															
	<223>	TA51: HA with A2C and a cysteine immediately before the stop codon														
45	<400>	88														
50	Asp	Cys	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu
	1				5					10					15	
55	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln
			20						25					30		
60	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu
			35					40					45			
65	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
	50						55					60				

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

5 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

10 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

15 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

20 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

25 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

30 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

35 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

40 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

45 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

50 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

55 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

60 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

65 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

70 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

ES 2 630 253 T3

	515		520		525												
5	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	
	530						535					540					
10	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	
	545					550					555					560	
15	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	
					565					570					575		
20	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Cys							
				580					585								
25	<210>	89															
	<211>	586															
	<212>	PRT															
	<213>	Artificial sequence															
30	<220>																
	<223>	TA57: HA with A2C and an insertion between G584 and L585															
	<400>	89															
35	Asp	Cys	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	
	1				5					10					15		
40	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	
				20					25					30			
45	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	
			35					40					45				
50	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	
	50						55					60					
55	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	
	65					70					75					80	
60	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	
					85					90					95		
65	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	
				100					105					110			

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Cys Leu
580 585

5

<210> 90
<211> 584
<212> PRT
10 <213> Artificial sequence

<220>
<223> TA60: HA with A2C and deletion of C316

15 <400> 90

Asp Cys His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

20 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

25 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

30 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

35 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

40 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

45 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

50 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

55 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln
 405 410 415
 Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val
 420 425 430
 10 Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala
 435 440 445
 15 Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu
 450 455 460
 20 Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu
 465 470 475 480
 Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr
 485 490 495
 25 Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile
 500 505 510
 30 Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu
 515 520 525
 35 Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys
 530 535 540
 40 Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala
 545 550 555 560
 Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala
 565 570 575
 45 Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580
 50 <210> 91
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 55 <220>
 <223> TA63: HA with H39C and C253P

ES 2 630 253 T3

<400> 91

5 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

10 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

15 Gln Cys Pro Phe Glu Asp Cys Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

20 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

25 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

30 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

35 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

40 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

45 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

50 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

55 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

60 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

65 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

70 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

ES 2 630 253 T3

5 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Pro Ala Asp Asp
 245 250 255
 10 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 15 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 20 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 25 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 30 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 35 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 40 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 45 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 50 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 55 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

ES 2 630 253 T3

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

5
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

10
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

15
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

20
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

25
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

30
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

35
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

40
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 92
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

45
 <220>
 <223> TA64: HA with C177F

<400> 92

50
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

55
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 5
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 10
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 15
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 20
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 25
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 30
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 35
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 40
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 45
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 50
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 55
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 60
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 65
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

ES 2 630 253 T3

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 5
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 10
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 15
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 20
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 25
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585
 30
 <210> 93
 <211> 588
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 35
 <220>
 <223> TA65: HA with a Cys at the N-terminus and an Ala-Cys extension
 at
 the C-terminus of HA
 40
 Cys Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly
 1 5 10 15
 45
 Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
 20 25 30
 50
 Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
 35 40 45
 55
 Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
 50 55 60
 65
 Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
 65 70 75 80

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr
	305					310					315					320
5	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala
					325					330						335
10	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys
				340					345					350		
15	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His
			355					360						365		
20	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu
		370					375					380				
25	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly
	385					390					395					400
30	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val
				405						410					415	
35	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly
				420					425					430		
40	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro
			435					440					445			
45	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu
	450						455					460				
50	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu
	465					470					475					480
55	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu
				485						490					495	
60	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala
				500					505					510		
65	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr
			515					520					525			

ES 2 630 253 T3

Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
530 535 540

5 Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
545 550 555 560

10 Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
565 570 575

15 Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Cys
580 585

<210> 94
<211> 607
20 <212> PRT
<213> Bos taurus
<400> 94

25 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Leu Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15

30 Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Thr His Lys Ser Glu Ile Ala
20 25 30

35 His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu His Phe Lys Gly Leu Val Leu
35 40 45

Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Asp Glu His Val
50 55 60

40 Lys Leu Val Asn Glu Leu Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
65 70 75 80

45 Glu Ser His Ala Gly Cys Glu Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
85 90 95

50 Glu Leu Cys Lys Val Ala Ser Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Asp Met Ala
100 105 110

55 Asp Cys Cys Glu Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Ser
115 120 125

His Lys Asp Asp Ser Pro Asp Leu Pro Lys Leu Lys Pro Asp Pro Asn

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Leu Leu Arg Leu Ala Lys Glu Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Glu Cys Cys
 370 375 380
 10 Ala Lys Asp Asp Pro His Ala Cys Tyr Ser Thr Val Phe Asp Lys Leu
 385 390 395 400
 15 Lys His Leu Val Asp Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Asp
 405 410 415
 20 Gln Phe Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Leu Ile Val
 420 425 430
 25 Arg Tyr Thr Arg Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
 435 440 445
 30 Val Ser Arg Ser Leu Gly Lys Val Gly Thr Arg Cys Cys Thr Lys Pro
 450 455 460
 35 Glu Ser Glu Arg Met Pro Cys Thr Glu Asp Tyr Leu Ser Leu Ile Leu
 465 470 475 480
 40 Asn Arg Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu Lys Val
 485 490 495
 45 Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
 500 505 510
 50 Ala Leu Thr Pro Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Ala Phe Asp Glu Lys
 515 520 525
 55 Leu Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Pro Asp Thr Glu Lys
 530 535 540
 60 Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Leu Lys His Lys Pro
 545 550 555 560
 65 Lys Ala Thr Glu Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Glu Asn Phe Val Ala
 565 570 575
 70 Phe Val Asp Lys Cys Cys Ala Ala Asp Asp Lys Glu Ala Cys Phe Ala
 580 585 590

ES 2 630 253 T3

Val Glu Gly Pro Lys Leu Val Val Ser Thr Gln Thr Ala Leu Ala
595 600 605

5
<210> 95
<211> 608
<212> PRT
<213> Felis catus

10
<400> 95

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Leu Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15

15
Tyr Ser Arg Gly Val Thr Arg Arg Glu Ala His Gln Ser Glu Ile Ala
20 25 30

20
His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu Glu His Phe Arg Gly Leu Val Leu
35 40 45

25
Val Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
50 55 60

30
Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Gly Cys Val Ala Asp
65 70 75 80

35
Gln Ser Ala Ala Asn Cys Glu Lys Ser Leu His Glu Leu Leu Gly Asp
85 90 95

40
Lys Leu Cys Thr Val Ala Ser Leu Arg Asp Lys Tyr Gly Glu Met Ala
100 105 110

45
Asp Cys Cys Glu Lys Lys Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
115 120 125

50
His Lys Asp Asp Asn Pro Gly Phe Gly Gln Leu Val Thr Pro Glu Ala
130 135 140

55
Asp Ala Met Cys Thr Ala Phe His Glu Asn Glu Gln Arg Phe Leu Gly
145 150 155 160

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
165 170 175

Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu Glu Tyr Lys Gly Val Phe Thr Glu Cys

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Pro Glu Ser Glu Arg Met Ser Cys Ala Glu Asp Phe Leu Ser Val Val
 465 470 475 480
 Leu Asn Arg Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu Arg
 485 490 495
 10 Val Thr Lys Cys Cys Ser Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
 500 505 510
 15 Ser Gly Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
 515 520 525
 20 Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Leu Cys Thr Leu Pro Glu Ala Glu
 530 535 540
 25 Lys Gln Val Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Leu Lys His Lys
 545 550 555 560
 30 Pro Lys Ala Thr Asp Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Gly Asp Phe Gly
 565 570 575
 Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Ala Ala Glu Asn Lys Glu Gly Cys Phe
 580 585 590
 35 Ser Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val Ala Ala Ala Gln Ala Ala Leu Val
 595 600 605
 40 <210> 97
 <211> 607
 <212> PRT
 <213> Equus asinus
 <400> 97
 45 Met Lys Trp Val Thr Phe Val Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15
 50 Tyr Phe Arg Gly Val Leu Arg Arg Asp Thr His Lys Ser Glu Ile Ala
 20 25 30
 55 His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu Lys His Phe Lys Gly Leu Val Leu
 35 40 45

ES 2 630 253 T3

Val Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
50 55 60

5
Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Lys Cys Ala Ala Asp
65 70 75 80

10
Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
85 90 95

15
Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Ala Thr Tyr Gly Glu Leu Ala
100 105 110

20
Asp Cys Cys Glu Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Thr
115 120 125

25
His Lys Asp Asp His Pro Asn Leu Pro Lys Leu Lys Pro Glu Pro Asp
130 135 140

30
Ala Gln Cys Ala Ala Phe Gln Glu Asp Pro Asp Lys Phe Leu Gly Lys
145 150 155 160

35
Tyr Leu Tyr Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Gly Pro Glu
165 170 175

40
Leu Leu Phe His Ala Glu Glu Tyr Lys Ala Asp Phe Thr Glu Cys Cys
180 185 190

45
Pro Ala Asp Asp Lys Ala Gly Cys Leu Ile Pro Lys Leu Asp Ala Leu
195 200 205

50
Lys Glu Arg Ile Leu Leu Ser Ser Ala Lys Glu Arg Leu Lys Cys Ser
210 215 220

55
Ser Phe Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ser Val Ala
225 230 235 240

60
Arg Leu Ser Gln Lys Phe Pro Lys Ala Asp Phe Ala Glu Val Ser Lys
245 250 255

65
Ile Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Lys Glu Cys Cys His Gly Asp
260 265 270

ES 2 630 253 T3

Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Thr Lys Tyr Ile Cys
 275 280 285

5 Glu His Gln Asp Ser Ile Ser Gly Lys Leu Lys Ala Cys Cys Asp Lys
 290 295 300

10 Pro Leu Leu Gln Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Lys Glu Asp Asp
 305 310 315 320

15 Leu Pro Ser Asp Leu Pro Ala Leu Ala Ala Asp Phe Ala Glu Asp Lys
 325 330 335

20 Glu Ile Cys Lys His Tyr Lys Asp Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr
 340 345 350

25 Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu
 355 360 365

30 Ala Glu Ala Asp Pro Pro Ala Cys Tyr Ala Thr Val Phe Asp Gln Phe
 385 390 395 400

35 Thr Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Ser Leu Val Lys Lys Asn Cys Asp
 405 410 415

40 Leu Phe Glu Glu Val Gly Glu Tyr Asp Phe Gln Asn Ala Leu Ile Val
 420 425 430

45 Arg Tyr Thr Lys Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
 435 440 445

50 Ile Gly Arg Thr Leu Gly Lys Val Gly Ser Arg Cys Cys Lys Leu Pro
 450 455 460

55 Asn Arg Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu Lys Ile
 485 490 495

Thr Lys Cys Cys Thr Asp Ser Leu Ala Glu Arg Arg Pro Cys Phe Ser

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Asp Asp Met Pro Ala Asp Leu Pro Ala Leu Thr Ala Asp Phe Val Glu
 325 330 335
 5
 Asp Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu
 340 345 350
 10
 Gly Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Glu Tyr Ser Val
 355 360 365
 15
 Ser Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys
 370 375 380
 20
 Cys Cys Ala Glu Ala Asp Pro His Ala Cys Tyr Gly His Val Phe Asp
 385 390 395 400
 25
 Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Val Lys Ser Asn
 405 410 415
 30
 Cys Glu Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Val
 420 425 430
 35
 Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
 435 440 445
 40
 Val Glu Ala Ala Arg Ser Leu Gly Arg Val Gly Thr His Cys Cys Ala
 450 455 460
 45
 Leu Pro Glu Lys Lys Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala
 465 470 475 480
 50
 Ile Leu Asn Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu
 485 490 495
 55
 Gln Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys
 500 505 510
 Phe Ser Ala Leu Pro Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys
 515 520 525
 Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asn Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys
 530 535 540

ES 2 630 253 T3

Glu Lys Gln Met Glu Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His
 545 550 555 560
 5
 Lys Pro Gln Ala Thr Glu Glu Gln Leu Lys Lys Val Met Gly Asp Phe
 565 570 575
 10
 Ala Glu Phe Leu Glu Lys Cys Cys Lys Gln Glu Asp Lys Glu Ala Cys
 580 585 590
 15
 Phe Ser Thr Glu Gly Pro Lys Leu Val Ala Glu Ser Gln Lys Ala Leu
 595 600 605
 20
 Ala
 <210> 99
 <211> 583
 25
 <212> PRT
 <213> Capra hircus
 <400> 99
 30
 Asp Thr His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 35
 Glu Asn Phe Gln Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 40
 Gln Cys Pro Phe Asp Glu His Val Lys Leu Val Lys Glu Leu Thr Glu
 35 40 45
 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser His Ala Gly Cys Asp Lys
 50 55 60
 50
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Glu Leu Cys Lys Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 55
 Arg Glu Thr Tyr Gly Asp Met Ala Asp Cys Cys Glu Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 55
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Lys His Lys Asp Asp Ser Pro Asp Leu
 100 105 110

ES 2 630 253 T3

Pro Lys Leu Lys Pro Glu Pro Asp Thr Leu Cys Ala Glu Phe Lys Ala
 115 120 125

5 Asp Glu Lys Lys Phe Trp Gly Lys Tyr Leu Tyr Glu Val Ala Arg Arg
 130 135 140

10 His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Asn Lys Tyr
 145 150 155 160

15 Asn Gly Val Phe Gln Glu Cys Cys Gln Ala Glu Asp Lys Gly Ala Cys
 165 170 175

Leu Leu Pro Lys Ile Glu Thr Met Arg Glu Lys Val Leu Ala Ser Ser
 180 185 190

20 Ala Arg Gln Arg Leu Arg Cys Ala Ser Ile Gln Lys Phe Gly Glu Arg
 195 200 205

25 Ala Leu Lys Ala Trp Ser Val Ala Arg Leu Ser Gln Lys Phe Pro Lys
 210 215 220

30 Ala Asp Phe Thr Asp Val Thr Lys Ile Val Thr Asp Leu Thr Lys Val
 225 230 235 240

35 His Lys Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg
 245 250 255

Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Asp His Gln Asp Thr Leu Ser Ser
 260 265 270

40 Lys Leu Lys Glu Cys Cys Asp Lys Pro Val Leu Glu Lys Ser His Cys
 275 280 285

45 Ile Ala Glu Ile Asp Lys Asp Ala Val Pro Glu Asn Leu Pro Pro Leu
 290 295 300

50 Thr Ala Asp Phe Ala Glu Asp Lys Glu Val Cys Lys Asn Tyr Gln Glu
 305 310 315 320

Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Ser Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg
 325 330 335

55 His Pro Glu Tyr Ala Val Ser Val Leu Leu Arg Leu Ala Lys Glu Tyr

ES 2 630 253 T3

				340					345							350
5	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Glu	Asp	Pro	His	Ala	Cys
			355					360					365			
10	Tyr	Ala	Thr	Val	Phe	Asp	Lys	Leu	Lys	His	Leu	Val	Asp	Glu	Pro	Gln
		370					375					380				
15	Asn	Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Lys	His	Gly	Glu	Tyr
	385					390					395					400
20	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Ile	Val	Arg	Tyr	Thr	Arg	Lys	Ala	Pro	Gln
					405					410					415	
25	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ile	Ser	Arg	Ser	Leu	Gly	Lys	Val
				420					425					430		
30	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Ala	Lys	Pro	Glu	Ser	Glu	Arg	Met	Pro	Cys	Thr
			435					440					445			
35	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Leu	Ile	Leu	Asn	Arg	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu
		450					455					460				
40	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	Lys	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu
	465					470					475					480
45	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Asp	Leu	Thr	Leu	Asp	Glu	Thr	Tyr
					485					490					495	
50	Val	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Gly	Glu	Ser	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile
				500					505					510		
55	Cys	Thr	Leu	Pro	Asp	Thr	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu
			515					520					525			
60	Val	Glu	Leu	Leu	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys
		530					535					540				
65	Thr	Val	Met	Glu	Asn	Phe	Val	Ala	Phe	Val	Asp	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala
	545					550					555					560
70	Asp	Asp	Lys	Glu	Gly	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Gly	Pro	Lys	Leu	Val	Ala
					565					570					575	

ES 2 630 253 T3

Ser Thr Gln Ala Ala Leu Ala
580

5

<210> 100
<211> 608
<212> PRT
10 <213> *Cavia porcellus*

<400> 100

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Val
15 1 5 10 15

Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala
20 20 25 30

His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu Gly His Phe Lys Gly Leu Val Leu
35 40 45

25

Ile Thr Leu Ser Gln His Leu Gln Lys Ser Pro Phe Glu Glu His Val
50 55 60

30

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Ala Cys Val Ala Asp
65 70 75 80

35

Glu Ser Ala Gln Asn Cys Gly Lys Ala Ile Ala Thr Leu Phe Gly Asp
85 90 95

40

Lys Val Cys Ala Ile Pro Ser Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Ala
100 105 110

45

Asp Cys Cys Ala Lys Glu Asp Pro Asp Arg Val Glu Cys Phe Leu Gln
115 120 125

50

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Pro
130 135 140

55

Glu Ala Leu Cys Thr Ala Phe Lys Glu Asn Asn Asp Arg Phe Ile Gly
145 150 155 160

His Tyr Leu Tyr Glu Val Ser Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
165 170 175

ES 2 630 253 T3

Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu Lys Tyr Lys Asn Ala Leu Thr Glu Cys
 180 185 190
 5 Cys Glu Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Ala
 195 200 205
 10 Ile Lys Glu Lys Ala Leu Val Ser Ser Ala Gln Gln Arg Leu Lys Cys
 210 215 220
 15 Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ser Val
 225 230 235 240
 Ala Arg Leu Ser Gln Lys Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Ile Ser
 245 250 255
 20 Thr Ile Val Thr Ser Leu Thr Lys Val Thr Lys Glu Cys Cys His Gly
 260 265 270
 25 Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Gln Glu Leu Ala Lys Tyr Met
 275 280 285
 30 Cys Glu His Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Val
 290 295 300
 35 Lys Pro Thr Leu Gln Lys Ala His Cys Ile Leu Glu Ile Gln Arg Asp
 305 310 315 320
 Glu Leu Pro Thr Glu Leu Pro Asp Leu Ala Val Asp Phe Val Glu Asp
 325 330 335
 40 Lys Glu Val Cys Lys Asn Phe Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
 340 345 350
 45 Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Glu Tyr Ser Ile Gly
 355 360 365
 50 Met Leu Leu Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Glu Ala Lys Leu Glu Lys Cys
 370 375 380
 55 Cys Ala Glu Ala Asp Pro His Ala Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
 385 390 395 400
 Leu Gln Pro Leu Ile Asp Glu Pro Lys Lys Leu Val Gln Gln Asn Cys

ES 2 630 253 T3

				405					410					415		
5	Glu	Leu	Phe	Asp 420	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr 425	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala 430	Leu	Ala
10	Val	Arg	Tyr 435	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr 445	Leu	Val
15	Glu	Tyr 450	Ala	Arg	Lys	Leu	Gly 455	Ser	Val	Gly	Thr	Lys 460	Cys	Cys	Ser	Leu
20	Pro	Glu	Thr	Glu	Arg	Leu	Ser 470	Cys	Thr	Glu	Asn 475	Tyr	Leu	Ala	Leu	Ile 480
25	Leu	Asn	Arg	Leu	Cys 485	Ile	Leu	His	Glu	Lys 490	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	Arg 495
30	Val	Thr	Lys	Cys 500	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val 505	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe 510
35	Ser	Ala	Leu	His 515	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val 520	Pro	Lys	Pro	Phe 525	His	Ala
40	Asp	Ser	Phe	Thr	Phe	His	Ala 535	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu 540
45	Lys	Gln	Val	Lys	Lys	Gln	Met 550	Ala	Leu	Val	Glu 555	Leu	Val	Lys	His	Lys 560
50	Pro	Lys	Ala	Ser	Glu	Glu	Gln	Met	Lys	Thr 570	Val	Met	Gly	Asp	Phe	Ala 575
55	Ala	Phe	Leu	Lys 580	Lys	Cys	Cys	Asp	Ala 585	Asp	Asn	Lys	Glu	Ala 590	Cys	Phe
60	Thr	Glu	Asp 595	Gly	Pro	Lys	Leu	Val 600	Ala	Lys	Cys	Gln	Ala 605	Thr	Leu	Ala
	<210>	101														
	<211>	607														
	<212>	PRT														
55	<213>	Equus caballus														
	<400>	101														

ES 2 630 253 T3

Met Lys Trp Val Thr Phe Val Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15

5 Tyr Ser Arg Gly Val Leu Arg Arg Asp Thr His Lys Ser Glu Ile Ala
 20 25 30

10 His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu Lys His Phe Lys Gly Leu Val Leu
 35 40 45

15 Val Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
 50 55 60

20 Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Lys Cys Ala Ala Asp
 65 70 75 80

25 Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
 85 90 95

30 Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Ala Thr Tyr Gly Glu Leu Ala
 100 105 110

35 Asp Cys Cys Glu Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Thr
 115 120 125

40 His Lys Asp Asp His Pro Asn Leu Pro Lys Leu Lys Pro Glu Pro Asp
 130 135 140

45 Ala Gln Cys Ala Ala Phe Gln Glu Asp Pro Asp Lys Phe Leu Gly Lys
 145 150 155 160

50 Tyr Leu Tyr Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Gly Pro Glu
 165 170 175

55 Leu Leu Phe His Ala Glu Glu Tyr Lys Ala Asp Phe Thr Glu Cys Cys
 180 185 190

60 Pro Ala Asp Asp Lys Leu Ala Cys Leu Ile Pro Lys Leu Asp Ala Leu
 195 200 205

65 Lys Glu Arg Ile Leu Leu Ser Ser Ala Lys Glu Arg Leu Lys Cys Ser
 210 215 220

ES 2 630 253 T3

Ser Phe Gln Asn Phe Gly Glu Arg Ala Val Lys Ala Trp Ser Val Ala
 225 230 235 240
 5
 Arg Leu Ser Gln Lys Phe Pro Lys Ala Asp Phe Ala Glu Val Ser Lys
 245 250 255
 10
 Ile Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Lys Glu Cys Cys His Gly Asp
 260 265 270
 15
 Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
 275 280 285
 20
 Glu His Gln Asp Ser Ile Ser Gly Lys Leu Lys Ala Cys Cys Asp Lys
 290 295 300
 25
 Pro Leu Leu Gln Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Lys Glu Asp Asp
 305 310 315 320
 30
 Leu Pro Ser Asp Leu Pro Ala Leu Ala Ala Asp Phe Ala Glu Asp Lys
 325 330 335
 35
 Glu Ile Cys Lys His Tyr Lys Asp Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr
 340 345 350
 40
 Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu
 355 360 365
 45
 Leu Leu Arg Ile Ala Lys Thr Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys
 370 375 380
 50
 Ala Glu Ala Asp Pro Pro Ala Cys Tyr Arg Thr Val Phe Asp Gln Phe
 385 390 395 400
 55
 Thr Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Ser Leu Val Lys Lys Asn Cys Asp
 405 410 415
 60
 Leu Phe Glu Glu Val Gly Glu Tyr Asp Phe Gln Asn Ala Leu Ile Val
 420 425 430
 65
 Arg Tyr Thr Lys Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
 435 440 445

ES 2 630 253 T3

Ile Gly Arg Thr Leu Gly Lys Val Gly Ser Arg Cys Cys Lys Leu Pro
 450 455 460

5 Glu Ser Glu Arg Leu Pro Cys Ser Glu Asn His Leu Ala Leu Ala Leu
 465 470 475 480

10 Asn Arg Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu Lys Ile
 485 490 495

15 Thr Lys Cys Cys Thr Asp Ser Leu Ala Glu Arg Arg Pro Cys Phe Ser
 500 505 510

20 Ala Leu Glu Leu Asp Glu Gly Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala Glu
 515 520 525

25 Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Asp Glu Lys
 530 535 540

30 Gln Ile Lys Lys Gln Ser Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro
 545 550 555 560

35 Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Thr Val Leu Gly Asn Phe Ser Ala
 565 570 575

40 Phe Val Ala Lys Cys Cys Gly Arg Glu Asp Lys Glu Ala Cys Phe Ala
 580 585 590

45 Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val Ala Ser Ser Gln Leu Ala Leu Ala
 595 600 605

<210> 102
 <211> 609
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15

55 Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
 20 25 30

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
 35 40 45

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
 275 280 285
 5
 Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
 290 295 300
 10
 Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
 305 310 315 320
 15
 Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
 325 330 335
 20
 Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
 340 345 350
 25
 Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
 355 360 365
 30
 Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
 370 375 380
 35
 Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
 385 390 395 400
 40
 Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
 405 410 415
 45
 Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
 420 425 430
 50
 Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
 435 440 445
 55
 Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
 450 455 460
 60
 Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
 465 470 475 480
 65
 Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
 485 490 495

ES 2 630 253 T3

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
500 505 510

5 Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
515 520 525

10 Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
530 535 540

15 Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
545 550 555 560

20 Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
565 570 575

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
580 585 590

25 Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
595 600 605

30 Leu

35 <210> 103
<211> 600
<212> PRT
<213> Macca mulatta

<400> 103

40 Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg
1 5 10 15

45 Asp Thr His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
20 25 30

50 Glu His Phe Lys Gly Leu Val Leu Val Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln
35 40 45

Gln Cys Pro Phe Glu Glu His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
50 55 60

55 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
65 70 75 80

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Cys Leu Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 305 310 315 320
 5
 Leu Ala Ala Asp Tyr Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 325 330 335
 10
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 340 345 350
 15
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Met Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Ala
 355 360 365
 20
 Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 370 375 380
 25
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro
 385 390 395 400
 30
 Gln Asn Leu Val Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 405 410 415
 35
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 420 425 430
 40
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 435 440 445
 45
 Val Gly Ala Lys Cys Cys Lys Leu Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 450 455 460
 50
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Arg Leu Cys Val Leu His
 465 470 475 480
 55
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu Lys Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 485 490 495
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Leu Asp Glu Ala
 500 505 510
 Tyr Val Pro Lys Ala Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 515 520 525

ES 2 630 253 T3

Met Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Lys Gln Val Lys Lys Gln Thr Ala
530 535 540

5 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
545 550 555 560

10 Lys Gly Val Met Asp Asn Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
565 570 575

15 Ala Asp Asp Lys Glu Ala Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Phe Val
580 585 590

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Ala
595 600

20
<210> 104
<211> 608
<212> PRT
<213> Mus musculus

25
<400> 104

30 Met Lys Trp Val Thr Phe Leu Leu Leu Leu Phe Val Ser Gly Ser Ala
1 5 10 15

Phe Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala
20 25 30

35 His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu
35 40 45

40 Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Ser Tyr Asp Glu His Ala
50 55 60

45 Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
65 70 75 80

Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
85 90 95

50 Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala
100 105 110

55 Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
115 120 125

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser
 355 360 365
 5
 Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys
 370 375 380
 10
 Cys Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu
 385 390 395 400
 15
 Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys
 405 410 415
 20
 Asp Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu
 420 425 430
 25
 Val Arg Tyr Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
 435 440 445
 30
 Glu Ala Ala Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu
 450 455 460
 35
 Pro Glu Asp Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile
 465 470 475 480
 40
 Leu Asn Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His
 485 490 495
 45
 Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe
 500 505 510
 50
 Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala
 515 520 525
 55
 Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu
 530 535 540
 60
 Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys
 545 550 555 560
 65
 Pro Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala
 565 570 575

ES 2 630 253 T3

Gln Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe
580 585 590

5
Ser Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Cys Lys Asp Ala Leu Ala
595 600 605

10 <210> 105
<211> 607
<212> PRT
<213> Sus scrofa

15 <400> 105

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15

20 Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Thr Tyr Lys Ser Glu Ile Ala
20 25 30

25 His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Gln Tyr Phe Lys Gly Leu Val Leu
35 40 45

30 Ile Ala Phe Ser Gln His Leu Gln Gln Cys Pro Tyr Glu Glu His Val
50 55 60

Lys Leu Val Arg Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
65 70 75 80

35
Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Ile His Thr Leu Phe Gly Asp
85 90 95

40
Lys Leu Cys Ala Ile Pro Ser Leu Arg Glu His Tyr Gly Asp Leu Ala
100 105 110

45 Asp Cys Cys Glu Lys Glu Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
115 120 125

50 His Lys Asn Asp Asn Pro Asp Ile Pro Lys Leu Lys Pro Asp Pro Val
130 135 140

Ala Leu Cys Ala Asp Phe Gln Glu Asp Glu Gln Lys Phe Trp Gly Lys
145 150 155 160

55
Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Gln Pro Leu Val Asp Glu Pro Lys Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
 405 410 415
 Leu Phe Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Leu Ile Val
 420 425 430
 10 Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
 435 440 445
 15 Val Ala Arg Lys Leu Gly Leu Val Gly Ser Arg Cys Cys Lys Arg Pro
 450 455 460
 20 Glu Glu Glu Arg Leu Ser Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Leu Val Leu
 465 470 475 480
 25 Asn Arg Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu Lys Val
 485 490 495
 Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
 500 505 510
 30 Ala Leu Thr Pro Asp Glu Thr Tyr Lys Pro Lys Glu Phe Val Glu Gly
 515 520 525
 35 Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Leu Cys Thr Leu Pro Glu Asp Glu Lys
 530 535 540
 40 Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Leu Lys His Lys Pro
 545 550 555 560
 45 His Ala Thr Glu Glu Gln Leu Arg Thr Val Leu Gly Asn Phe Ala Ala
 565 570 575
 Phe Val Gln Lys Cys Cys Ala Ala Pro Asp His Glu Ala Cys Phe Ala
 580 585 590
 50 Val Glu Gly Pro Lys Phe Val Ile Glu Ile Arg Gly Ile Leu Ala
 595 600 605
 55 <210> 106
 <211> 608
 <212> PRT

ES 2 630 253 T3

<213> Oryctolagus cuniculus

<400> 106

5 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15

10 Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala
 20 25 30

15 His Arg Phe Asn Asp Val Gly Glu Glu His Phe Ile Gly Leu Val Leu
 35 40 45

Ile Thr Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Cys Pro Tyr Glu Glu His Ala
 50 55 60

20 Lys Leu Val Lys Glu Val Thr Asp Leu Ala Lys Ala Cys Val Ala Asp
 65 70 75 80

25 Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Asp Ile Phe Gly Asp
 85 90 95

30 Lys Ile Cys Ala Leu Pro Ser Leu Arg Asp Thr Tyr Gly Asp Val Ala
 100 105 110

35 Asp Cys Cys Glu Lys Lys Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu His
 115 120 125

40 His Lys Asp Asp Lys Pro Asp Leu Pro Pro Phe Ala Arg Pro Glu Ala
 130 135 140

45 Asp Val Leu Cys Lys Ala Phe His Asp Asp Glu Lys Ala Phe Phe Gly
 145 150 155 160

50 His Tyr Leu Tyr Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
 165 170 175

Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Gln Lys Tyr Lys Ala Ile Leu Thr Glu Cys
 180 185 190

55 Cys Glu Ala Ala Asp Lys Gly Ala Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Ala
 195 200 205

Leu Glu Gly Lys Ser Leu Ile Ser Ala Ala Gln Glu Arg Leu Arg Cys

ES 2 630 253 T3

	210		215		220												
5	Ala 225	Ser	Ile	Gln	Lys	Phe 230	Gly	Asp	Arg	Ala	Tyr 235	Lys	Ala	Trp	Ala	Leu 240	
10	Val	Arg	Leu	Ser	Gln 245	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala 250	Asp	Phe	Thr	Asp	Ile	Ser 255	
15	Lys	Ile	Val	Thr 260	Asp	Leu	Thr	Lys	Val 265	His	Lys	Glu	Cys	Cys 270	His	Gly	
20	Asp	Leu	Leu 275	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp 280	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met	
25	Cys	Glu 290	His	Gln	Glu	Thr	Ile 295	Ser	Ser	His	Leu	Lys 300	Glu	Cys	Cys	Asp	
30	Lys	Pro	Ile	Leu	Glu	Lys 310	Ala	His	Cys	Ile	Tyr 315	Gly	Leu	His	Asn	Asp 320	
35	Glu	Thr	Pro	Ala	Gly 325	Leu	Pro	Ala	Val	Ala 330	Glu	Glu	Phe	Val	Glu 335	Asp	
40	Lys	Asp	Val	Cys 340	Lys	Asn	Tyr	Glu	Glu 345	Ala	Lys	Asp	Leu	Phe	Leu	Gly 350	
45	Lys	Phe	Leu 355	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg 360	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val 365	
50	Leu	Leu 370	Leu	Arg	Leu	Gly	Lys 375	Ala	Tyr	Glu	Ala	Thr 380	Leu	Lys	Lys	Cys	
55	Cys	Ala	Thr	Asp	Asp	Pro 390	His	Ala	Cys	Tyr	Ala 395	Lys	Val	Leu	Asp	Glu 400	
60	Phe	Gln	Pro	Leu	Val 405	Asp	Glu	Pro	Lys	Asn 410	Leu	Val	Lys	Gln	Asn	Cys 415	
65	Glu	Leu	Tyr	Glu 420	Gln	Leu	Gly	Asp	Tyr 425	Asn	Phe	Gln	Asn	Ala 430	Leu	Leu	
70	Val	Arg	Tyr 435	Thr	Lys	Lys	Val	Pro 440	Gln	Val	Ser	Thr	Pro 445	Thr	Leu	Val	

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

5 Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe
500 505 510

10 Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala
515 520 525

15 Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Asp Lys Glu
530 535 540

20 Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys
545 550 555 560

25 Pro Lys Ala Thr Glu Asp Gln Leu Lys Thr Val Met Gly Asp Phe Ala
565 570 575

30 Gln Phe Val Asp Lys Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Asn Cys Phe
580 585 590

35 Ala Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Ala Arg Ser Lys Glu Ala Leu Ala
595 600 605

40 <210> 108
<211> 607
<212> PRT
<213> Ovis aries

45 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Leu Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15

50 Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Thr His Lys Ser Glu Ile Ala
20 25 30

55 His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Gln Gly Leu Val Leu
35 40 45

60 Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Asp Glu His Val
50 55 60

65 Lys Leu Val Lys Glu Leu Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
65 70 75 80

ES 2 630 253 T3

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

ES 2 630 253 T3

	305				310					315					320	
5	Val	Pro	Glu	Asn	Leu	Pro	Pro	Leu	Thr	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Asp	Lys
					325					330					335	
10	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Gln	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Ser
				340					345					350		
15	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Glu	Tyr	Ala	Val	Ser	Val
			355					360					365			
20	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Asp	Cys	Cys
		370					375					380				
25	Ala	Lys	Glu	Asp	Pro	His	Ala	Cys	Tyr	Ala	Thr	Val	Phe	Asp	Lys	Leu
	385					390					395					400
30	Lys	His	Leu	Val	Asp	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Cys	Glu
					405					410					415	
35	Leu	Phe	Glu	Lys	His	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Ile	Val
				420					425					430		
40	Arg	Tyr	Thr	Arg	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu
			435					440					445			
45	Ile	Ser	Arg	Ser	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Ala	Lys	Pro
	450						455					460				
50	Glu	Ser	Glu	Arg	Met	Pro	Cys	Thr	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Leu	Ile	Leu
	465					470				475						480
55	Asn	Arg	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	Lys	Val
				485						490					495	
60	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser
				500					505					510		
65	Asp	Leu	Thr	Leu	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Glu	Lys
			515					520					525			
70	Phe	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Asp	Thr	Glu	Lys

ES 2 630 253 T3

	530					535										540
5	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Leu	Lys	His	Lys	Pro
	545					550					555					560
10	Lys	Ala	Thr	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met	Glu	Asn	Phe	Val	Ala
					565					570					575	
15	Phe	Val	Asp	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Gly	Cys	Phe	Val
				580					585					590		
	Leu	Glu	Gly	Pro	Lys	Leu	Val	Ala	Ser	Thr	Gln	Ala	Ala	Leu	Ala	
			595					600					605			

REVINDICACIONES

1. Polipéptido competente de conjugación que comprende:
- 5 (i) una secuencia de aminoácidos que es al menos 60 % idéntica a residuos 1 a 585 de la SEQ ID n.º: 1, donde:
- a) en una posición equivalente a la posición 34 de la SEQ ID n.º: 1, hay un residuo de cisteína competente de conjugación; y
- b) además, en el polipéptido hay dos o más residuos de cisteína competentes de conjugación; o
- 10 (ii) un fragmento que comprende al menos 50 % de la secuencia de aminoácidos de (i) o que comprende un dominio de la secuencia de aminoácidos de (i), donde:
- a) en una posición equivalente a la posición 34 de la SEQ ID n.º: 1, hay un residuo de cisteína competente de conjugación; y
- b) además, en el polipéptido hay dos o más residuos de cisteína competentes de conjugación.
- 15 2. Polipéptido competente de conjugación que comprende:
- (i) una secuencia de aminoácidos que es al menos 60 % idéntica a residuos 1 a 585 de la SEQ ID n.º: 1, donde:
- a) en una posición equivalente a la posición 34 de la SEQ ID n.º: 1, no hay un residuo de cisteína competente de conjugación; y
- 20 b) además, en el polipéptido hay tres o más residuos de cisteína competentes de conjugación; o
- (ii) un fragmento que comprende al menos 50 % de la secuencia de aminoácidos de (i) o que comprende un dominio de la secuencia de aminoácidos de (i)
- a) en una posición equivalente a la posición 34 de la SEQ ID n.º: 1, no hay un residuo de cisteína competente de conjugación; y
- 25 b) además, en el polipéptido hay tres o más residuos de cisteína competentes de conjugación.
3. Polipéptido, según la reivindicación 1 o 2, que comprende residuos de cisteína competentes de conjugación en posiciones equivalentes a posiciones 2 y 585 de la SEQ ID n.º: 1.
- 30 4. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende cuatro o más residuos de cisteína competentes de conjugación.
5. Polipéptido, según la reivindicación 4, que comprende:
- 35 a) residuos de cisteína competentes de conjugación en posiciones equivalentes a posiciones 2 y 585 de la SEQ ID n.º: 1; y
- b) un residuo de cisteína competente de conjugación en una o ambas posiciones equivalentes a posiciones 364 y 562 de la SEQ ID n.º: 1.
- 40 6. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el polipéptido comprende uno o más de:
- a) sustitución de un aminoácido, diferente de la cisteína, con una cisteína en una posición que corresponde con un equivalente a cualquier residuo L585, D1, A2; D562; A364; A504; E505; T79; E86; D129; D549; A581; D121; E82; S270; Q397 y A578 de la SEQ ID n.º: 1;
- 45 b) inserción de una cisteína en una posición adyacente al N- o C- lado de un aminoácido que corresponde con una posición equivalente a cualquiera de los residuos L585, D1, A2; D562; A364; A504; E505; T79; E86; D129; D549; A581; D121; E82; S270; Q397 y A578 de la SEQ ID n.º: 1;
- c) delección de una cisteína en una posición que corresponde con cualquiera de C360; C316; C75; C168; C558; C361; C91; C124; C169 y C567 de la SEQ ID n.º: 1 para generar una cisteína competente de conjugación en cualquiera de C369; C361; C91; C177; C567; C316; C75; C169; C124 y C558;
- 50 d) adición de una cisteína al N- lado del residuo N-terminal de una secuencia de albúmina o al C- lado del residuo C-terminal de una secuencia de albúmina;
- de manera que el resultado neto de la sustitución, delección, adición o eventos de inserción de (a); (b), (c) y (d) es que el número de residuos de cisteína competentes de conjugación de la secuencia polipeptídica aumenta en relación al polipéptido anterior a la sustitución, inserción, delección y eventos de adición.
- 55 7. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde al menos un residuo de cisteína ha sido sustituido por un residuo de aminoácido diferente, particularmente Ser, Thr, Val o Ala.
8. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 residuos de cisteína competentes de conjugación.
- 60 9. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde, cuando el polipéptido comprende tres o más residuos de cisteína competentes de conjugación, cuando el polipéptido es plegado, hay una distancia de al menos 10 Å entre dos o más de los residuos de cisteína competentes de conjugación.
- 65 10. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde una o más de la cisteína competente de conjugación se conjuga con una molécula bioactiva.

11. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde el polipéptido tiene al menos 70, 75, 80, 85, 90 o 95 % de identidad con la SEQ ID n° 1.
- 5 12. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde el polipéptido tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID n.º: 1 y comprende residuos competentes de conjugación localizados en: (a) A2 + L585, (b) A2 + A364 + D562 + L585C, (c) A2 y adyacentes al lado de C del C-terminal de la albúmina (d) T79 + A364 (e) A364 + D1 (f) T79 + D562 + A364 (g) D562 + A364 + D1 (h) T79 + D562 + A364 + A504 (i) T79 + D562 + A364 + L585 (j) T79 + D562 + A364 + D1 (k) T79 + D562 + A364 + L585 + D1 (l) E86 + D562 + A364 + A504 + A2 (m) S270 + A581 (n) S270 + D129 (o) S270 + A581 + E82 (p) S270 + A581 + D129 (q) S270 + A581 + E82 + D129 (r) S270 + A581 + E82 + D129 + Q397 (s) C369 + C177 (t) A364 + A581 (u) T79 + A364 + A581 (v) A364 + A581 + D129 (w) A364 + C177 (x) D562 + C369 (y) D129 + C369 (z) A581 + C369 o (ai) D562 + D129 + C369.
- 10
- 15 13. Polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde el polipéptido comprende además otro enlazador al que un compuesto bioactivo puede ser enlazado.
14. Polipéptido de fusión que comprende un polipéptido competente de conjugación según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 y un polipéptido bioactivo.
- 20 15. Polinucleótido que codifica el polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.
16. Plásmido que comprende el polinucleótido según la reivindicación 15.
- 25 17. Célula huésped que comprende un polinucleótido según la reivindicación 15 y/o un plásmido según la reivindicación 16.
18. Célula huésped, según la reivindicación 17, que es una célula de levadura, particularmente, una célula de *Saccharomyces cerevisiae*.
- 30 19. Conjugado que comprende un compuesto bioactivo y un polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, donde el compuesto bioactivo se enlaza al polipéptido a través de un residuo de cisteína competente de conjugación del polipéptido.
- 35 20. Conjugado, según la reivindicación 19, que comprende además uno o más compuestos bioactivos, cada compuesto bioactivo está enlazado al polipéptido a través de un residuo de cisteína competente de conjugación del polipéptido.
- 40 21. Método para producir un polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que comprende:
a) cultivo de la célula huésped, según la reivindicación 17 o 18, bajo condiciones que permiten la expresión del polipéptido; y
b) recuperación del polipéptido desde la célula huésped y/o del medio de crecimiento de célula huésped.
- 45 22. Método para producir el conjugado, según la reivindicación 19 o 20, que comprende el enlace de un compuesto bioactivo al polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, a través de un residuo de cisteína competente de conjugación del polipéptido.
- 50 23. Método, según la reivindicación 21, donde la célula huésped muestra actividad de chaperona mejorada.
- 55 24. Método, según la reivindicación 21 o 22, que comprende además la determinación de la capacidad de unión al receptor y/o la competencia de conjugación del polipéptido y selección de un polipéptido que tiene capacidad de unión al receptor y/o competencia de conjugación.
25. Composición que comprende un conjugado, según la reivindicación 19 o 20, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable o diluyente.
- 60 26. Conjugado, según la reivindicación 19 o 20, para usar en el tratamiento de trastorno, tratamiento de enfermedad y/o para el diagnóstico.
27. Gel que comprende un polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, y/o un conjugado según cualquiera de las reivindicaciones 19 o 20.
- 65 28. Uso de un polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, y/o de un conjugado según la reivindicación 19 o 20 para la producción de un gel.
29. Conjugado según la reivindicación 19, 20 o un conjugado para usar en el tratamiento de trastorno,

tratamiento de enfermedad y/o para el diagnóstico según 26 o una composición según la reivindicación 25, donde la molécula bioactiva es seleccionada de: 4-1 BB ligando, 5-hélice, un quimiocina C-C humana, una quimiocina humana L105, una quimiocina humana L105 designada huL105 3, una monoquina inducida por gamma-interferón (MIG), una proteína parcial CXCR4B, una proteína básica de plaqueta (PBP), α 1-antitripsina, ACRP-30 homólogo, componente del complemento C1q C, quimiocina expresada en adenoide (ADEC), aFGF, FGF-1, proteína aGF AGF, albúmina, una Etoposida, angiostatin, vacuna de ántrax, anticuerpos específico para collapsin, antistatina, Anti-TGF anticuerpos de familia beta, antitrombina III, APM-1; ACRP-30, Famoxin, especies de ap-lipoproteína, N-acetilgalactosamina-4-sulfatasa, b57 proteína, BCMA, proteína Beta-tromboglobulina (beta-TG), bFGF, FGF2, factores de coagulación sanguínea, tratamiento de enzima furina BMP, BMP-10; BMP-12; BMP-15; BMP-17; BMP-18; BMP-2B, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-9, hueso morfogénico Proteína-2, calcitonina, Calpain-10a, Calpain-10b, Calpain-10c, vacuna cancerosa, carboxipeptidasa, C-C quimiocina, MCP2, CCR5 variante, CCR7, CCR7; CD11a Mab, CD137,4-1 BB proteína receptora, CD20 Mab, CD27; CD27L, CD30; CD30 ligando, CD33 inmunotoxina, CD40; CD40L, CD52 Mab, Cerebus proteína, eotaxina de quimiocina, quimiocina hIL-8, quimiocina hMCP1, quimiocina hMCP1a, quimiocina hMCP1b, quimiocina hMCP2, quimiocina hMCP3, quimiocina hSDF1b, quimiocina MCP-4, quimiocina TECK y TECK variante, proteína tipo quimiocina IL-8M1 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina IL-8M10 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina IL-8M3, proteína tipo quimiocina IL-8M8 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina IL-8M9 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina PF4-414 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina PF4-426 en toda su longitud y maduración, proteína tipo quimiocina PF4-M2 en toda su longitud y maduración, vacuna de cólera, proteína tipo condromodulina, ligando c-kit, SCF, factor de crecimiento de mastocito, MGF, factor de célula madre derivado de fibrosarcoma, CNTF y fragmento del mismo (tal como CNTFAx15'(Axokine™)), factores de coagulación en ambas pre y formas activas, colágenos, complemento C5, activación de tejido mab conjuntivo III de proteína, CTAA16,88 Mab, CTAP-III, CTLA4-Ig, CTLA-8, CXC3, CXC receptor de quimiocina 3, cianovirina-N, Darbepoetin, éxodo designado, designado huL105 7; DIL-40, ADNSa, EDAR, receptor de EGF Mab, ENA-78, Endostatin, eotaxina, activación neutrofílica epitelial proteína-78, receptor EPO, (EPO) de eritropoyetina y simuladores EPO, Eutropin, proteína de éxodo, Factor IX, factor VII, Factor VIII, Factor X y factor XIII, proteína inhibitoria de ligando FAS (DcR3), FasL, FGF, FGF-12, homólogos de factor de crecimiento de fibroblasto factor-1, FGF-15, FGF-16, FGF-18, FGF-3, INT-2, FGF-4, gelonina, HST-1, HBGF-4, FGF-5, FGF-6, unión de heparina segregada transformando factor-2, FGF-8, FGF-9, Glia factor de activación, fibrinógeno, flt-1, flt-3 ligando, subunidad de alfa de hormona folículo-estimulante, subunidad Beta de hormona folículo-estimulante, folitropina, Fractalkine, fragmento. Troponina de proteína Miofibrilar I, FSH, galactosidasa, Galectin-4, G-CSF, GDF-1, terapia genética, factor de crecimiento derivado de glioma, glucagón, péptidos de tipo glucagón, glucocerebrosidasa, glucosa-oxidasa, glucosidasa, glicodelin-A, proteína endométrica asociada a progesterona, GM-CSF, gonadotropina, granulocito proteína-2 quimiotáctica (GCP-2), factor estimulador de colonias de macrófago de granulocito, hormona del crecimiento, alfa de oncogen relacionada de crecimiento (GRO-alfa), beta de oncogen relacionada de crecimiento (GRO-beta), gama de oncogen relacionada de crecimiento (GRO-gamma), hAPO-4, Troya, hCG, antígeno de superficie Hepatitis B, vacuna Hepatitis B, HER2 Mab Receptor, hirudina, VIH gp120, VIH gp41, péptido inhibidor de VIH, péptidos de inhibición de proteasa de VIH, HIV-1 inhibidores de proteasa, vacuna HPV, 6CKine proteína humana, Act-2 proteína humana, factor inhibitorio de adipogénesis humana, célula estimulante humana B factor-2 receptor, quimiocina beta humana H1305 (MCP-2), quimiocina C-C humana DGWCC, humano CC proteína quimiocina CC humana ELC, interleucina tipo quimiocina CC humana C, proteína humana CCC3, CCF18 quimiocina humana, proteína de quimiocina tipo cc humana SLC designada (quimiocina linfoide secundaria), formas cortas de quimiocina humana beta-8, quimiocina humana C10, quimiocina humana CC-2, quimiocina humana CC-3, quimiocina humana CCR-2, quimiocina humana Ckbeta-7, quimiocina humana ENA-78, eotaxina de quimiocina humana, quimiocina humana GROalfa, GRObeta de quimiocina humana, quimiocina humana HCC-1, quimiocina humana HCC-1, quimiocina humana I-309, quimiocina humana IP-10, quimiocina humana L105 3, quimiocina humana L105 7, quimiocina humana MIG, proteína de MIG-beta de quimiocina humana, quimiocina humana MIP-1alfa, quimiocina humana MIP1beta, quimiocina humana MIP-3alfa, quimiocina humana MIP-3beta, quimiocina humana PF4, proteína de quimiocina humana 331D5, proteína de quimiocina humana 61164, receptor de quimiocina humana CXCR3, quimiocina humana SDF1alfa, quimiocina humana SDF1beta, quimiocina humana ZSIG-35, humano Chr19Kine proteína, humano CKbeta-9, humano CX3C 111 quimiocina de aminoácido, DNAX interleukin-40 humana, DVic-1 C-C quimiocina humana, EDIRF I humana secuencia de proteína, EDIRF II secuencia de proteína humana, eosinocite CC eotaxina tipo quimiocina humana, quimiocina expresada de eosinofilo humano (EEC), troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana C, troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana I, subunidad de troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana C, proteína de subunidad de troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana I, subunidad de troponina de músculo esquelético de contracción rápida humana T, quimiocina expresada de bazo fetal humano, FSEC, receptor GM-CSF humano, gro-alfa quimiocina humana, quimiocina de gro-beta humana, quimiocina de grogamma humana, proteína IL-16 humana, IL-1RD10 secuencia de proteína humana, humana IL-1 RD9, cadena de alfa receptor IL-5 humana, receptor IL-6 humano, proteína receptora IL-8 hIL8RA humana, proteína receptora IL-8 humana hIL8RB, proteína receptora IL-9, variante de proteína receptora #3 IL-9 humana, fragmento de variante de proteína receptora IL-9 humano, fragmento de variante de proteína receptora #3 IL-9 humano, interleucina humana 1 delta, interleucina humana 10, interleucina humana 18, derivados de interleucina humana 18, humano precursor beta de interleucina-1, proteína de accesorio de receptor interleucina-1 humano, antagonista receptor interleucina-1 humano, receptor humano

beta interleuquina-1 tipo-3, Interleuquina-10 humana (precursor), receptor humano interleuquina-11, subunidad humana interleuquina-12 40 kD, receptor humano interleuquina-12 beta-1, receptor humano interleuquina-12 beta-2, proteína humana Interleuquina-12 p35, proteína humana Interleuquina-12 p40, receptor humano interleuquin-12, receptor alfa humano interleuquin-13, receptor beta humano interleuquina-13, interleuquina-15 humana, receptor de clon P1 humano interleuquina-15, receptor humano interleuquina-17, proteína humana interleuquina-18 (IL-18), humano interleukin-3, humano interleukin-3 receptor, variante humana interleuquina-3, receptor humano interleuquina-4, interleuquina-5 humana, interleucina-6 humana, interleuquina-7 humana, interleuquina-8 (IL-8) humana, antagonista receptor intracelular humano IL-1, humano IP-10 e HIV-1 gp120 proteína de fusión de región hipervariable, humano IP-10 y humano Muc-1 epítipo de núcleo (VNT) proteína de fusión, hígado humano y quimiocina regulada de activación (LARC), proteína humana Lkn-1 en toda su longitud y maduración, proteína de (Mack) de quimiocina asociada a mama humana, quimiocina madura humana en toda su longitud y maduración Ckbeta-7, gro-alfa madura humana, polipéptido de grogamma madura humana usado para tratar sepsis, MCP-3 humana y proteína de fusión Muc-1 epítipo de núcleo (VNT) humana, proteína humano MI10, proteína humana MI1A, factor quimioatrayente de monocito humano hMCP-1, factor quimioatrayente de monocito humano hMCP-3, secuencia de proproteína quimiotáctica de monocito humano (MCP-3), humano neurotactin quimiocina como dominio, no-ELR CXC quimiocina H174 humana, non-ELR CXC quimiocina IP10 humana, no-ELR CXC quimiocina MIG humana, PAI-1 mutantes humanos, proteína humana con actividad IL-16, quimiocina linfoide secundaria humana, (SLC) proteína humana SISD, humano STCP-1, quimiocina derivada de célula estromal humana, SDF-1, quimiocina expresada de reacción de linfocito mezclado de célula T humana (TMEC), timo humano y citocina regulada de activación (TARC), timo humano expresado, TNF-alpha humano, beta TNF humano (LT-alfa), tipo humano CC secuencia de proteína de eotaxina de quimiocina 3, receptor tipo II humano interleuquina-1, proteína tipo salvaje humano interleucina-4 (hIL-4), proteína humana ZCHEMO-8, anticuerpos Anti-VEGF humanizado, y fragmentos del mismo, hialuronidasa, subunidad hielo 10 kD, subunidad hielo 20 kD, subunidad hielo 22 kD, Iduronato-2-sulfatasa, Iduronidasa, IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-1 inhibidor (IL-1i), IL-1 maduro, IL-10 receptor, IL-11, IL-12 p40 subunidad, IL-13, IL-14, IL-15, IL-15 receptor, IL-17, IL-17 receptor, IL-19, IL-1i fragmentos, antagonista de IL1-receptor, IL-21 (TIF), IL-3 que contiene proteína de fusión, IL-3 proteínas mutantes, IL-3 variantes, IL-4, IL-4 muteína, IL-4 muteína Y124G, IL-4 muteína Y124X, IL-4 muteínas, IL-5 receptor, IL-6, IL-6 receptor, IL-7 clon receptor, IL-8 receptor, IL-9 variante de proteína madura (Met117 versión), inmunoglobulinas o moléculas basadas en inmunoglobulina o fragmento de cualquiera de los dos (por ejemplo un ImmunoPharmaceutical™ Modular pequeño ("SMIP") o dAb, Fab fragmentos, F(ab')₂, scAb, scFv o fragmento de scFv), incluyendo pero no limitándose a plasminógeno, vacuna de gripe, alfa de inhibina, inhibina beta, insulina, factor de crecimiento de tipo insulina, integrina, mab inhibidor de tripsina de interalfa, proteína inducible de gama de interferón (IP-10), interferones (tales como especies de alfa de interferón y sub-especies, especies beta de interferón y sub-especies, especies de gama de interferón y sub-especies), interleucina 6, receptor interleucina 8 (IL-8), receptor de interleucina 8 B, Interleucins-1alfa, Interleucina-2 proteína asociada receptora p43, interleucina-3, muteínas interleucina-4, proteína Interleucina-8 (IL-8), interleucina-9, interleucina-9 (IL-9) proteína madura (Thr117 versión), interleucinas (tal como IL10, IL11 e IL2), vacuna de encefalitis japonesa, Kalikrein inhibidor, factor de crecimiento de queratinocito, Kunitz proteína de dominio (tal como aprotinina, proteína amiloide precursora y aquellas descritas en WO 03/066824, con o sin fusiones de albúmina), LACI, lactoferrina, proteína de unión TGF-beta latente II, leptina, hígado expresado quemocina-1 (LVEC-1), hígado expresado quemocina-2 (LVEC-2), alfa de LT, beta de LT, hormona Luteinización, vacuna Lyme, Lymphotactin, análogo de quimiocina derivada macrófaga MDC (n+1), análogo de quimiocina derivada macrófaga MDC-eifi, MDC-ilo de análogo de quimiocina derivada macrófaga, quimiocina derivada de macrófago (MDC), Maspin, inhibidor de proteasa 5, MCP-1 receptor, MCP-1 un, MCP-1 b, MCP-3, MCP-4 receptor, m-CSF proteína de inhibición de Melanoma, proteínas unidas a la membrana, Met117 interleucina humana 9, MIP-3 alfa, MIP-3, beta gama de MIP, MIRAP, modificado Rantes, anticuerpo monoclonal, MP52, interleucina mutante 6 S176R, troponina de proteína contráctil miofibrilar I, péptido natriurético, factor beta de crecimiento de nervio, crecimiento de nervio Factor-beta2, Neuropilin-1, Neuropilin-2, neurotactin, Neurotrophin-3, Neurotrophin-4, Neurotrophin-4a, Neurotrophin-4b, Neurotrophin-4c, Neurotrophin-4d, péptido-2 activación neutrofílica (NAP-2), NOGO-66 Receptor, NOGO-A, NOGO-B, NOGO-C, quimiocina beta nueva designada PTEC, quimiocina modificada N-terminal GroHEK/hSDF-1alfa, quimiocina modificada N-terminal GroHEK/hSDF-1beta, quimiocina modificada N-terminal met-hSDF-1 alfa, quimiocina modificada N-terminal met-hSDF-1 beta, OPGL, Proteína-1 osteogénica, OP-1, BMP-7, Proteína-2 osteogénica, OX40, ACT-4, OX40L, oxitocina (Neurophysin I), hormona paratiroidea, parcheado, Patched-2, d PDGF, toxoide de tos ferina, quimiocina expresada de glándula pituitaria (PGEC), factor de crecimiento de placenta, crecimiento de placenta Factor-2, activador plasminógeno Inhibidor-1, activador plasminógeno Inhibidor-2, factor de crecimiento derivado de plaqueta, factor de crecimiento derivado de plaqueta Bv-sis, precursor de factor de crecimiento derivado de plaqueta A, precursor de factor de crecimiento derivado de plaqueta B, plaqueta Mab, factor de crecimiento de la célula endotelial derivado de las plaquetas (PD-ECGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas una cadena, cadena B de factor de crecimiento derivado de las plaquetas, polipéptido usado para tratar sepsis, variante Preproapolipoprotein "Milán", Preproapolipoprotein variante de "París", pre-trombina, Primate CC quimiocina "ILINCK", Primate CXC quimiocina "IBICK", proinsulina, prolactina, Prolactin2, prosaptide, péptidos de inhibidor de proteasa, proteína C, proteína S, pro-trombina, prourokinase, lenguaje retumbante, lenguaje retumbante 8-68, lenguaje retumbante 9-68, péptido de lenguaje retumbantes, receptor de lenguaje retumbantes, recombinante interleukin-16, resistina, restrictocin, inhibidores de proteasa retrovírica, ricina, vacuna de rotavirus, RSV Mab, saporin, sarcin, segregado y polipéptidos de transmembrana, colinesterasa de suero, proteína sérica

(tal como un factor de coagulación de sangre), Quinasa de receptor BMP Soluble Protein-3, Receptor VEGF Soluble, Factor inhibitorio de célula madre, vacuna Straphylococcus, derivado estromal Factor-1 alfa, derivado estromal Factor-1, beta sustancia P (taquiquinina), T1249 péptido, T20 péptido, T4 endonucleasa, TACI, Tarc, TGF-beta 1, TGF-beta 2, Thr117 interleucina humana 9, trombina, trombotopoyetina, trombotopoyetina derivativa1, 5 trombotopoyetina derivativa2, trombotopoyetina derivativa3, trombotopoyetina derivativa4, trombotopoyetina derivativa5, trombotopoyetina derivativa6, trombotopoyetina derivativa7, quimiocina expresada por timo (TECK), hormona estimulante de la tiroides, péptido de anticoagulante de garrapata, Tim-1 proteína, precursor de TNF-alfa, R TNF, TNF-RII, TNF p75 Receptor, Receptor de muerte, tPA, transferrina, factor de crecimiento transformante beta, péptidos de troponina, proteína quimiotáctica de monocito truncado 2 (6-76), proteína de lenguaje retumbantes truncados (3-68), factor de necrosis tumoral, urato-oxidasas, uroquinasa, vasopresina (Neurophysin II), VEGF R-3, flt-4, Receptor VEGF, KDR, flk-1, VEGF-110, VEGF-121, VEGF-138, VEGF-145, VEGF-162, VEGF-165, VEGF-182, VEGF-189, VEGF-206, VEGF-D y de VEGF, X de VEGF, factor Willebrand, proteína quimiotáctica de monocito tipo salvaje 2, ZTGF-beta 9,13-cis-Retinoic ácido, 2-CdA, 2-Clorodeoxiadenosina, 5-Azacidina, 5-Fluorouracil, 5-FU, 6-Mercaptopurina, 6-MP, 6-TG, 6-Tioguanina, Abraxane, Accutane®, actinomicina D, Adriamycin®, Aducril®, Agrylin®, Ala-Cort®, Aldesleukin, Alemtuzumab, ALIMTA, Alitretinoína, Alkaban-AQ®, Alkeran®, ácido todo transretinoico, interferón alfa, Altretamina, Amethopterin, Amifostine, aminoglutetimida, Anagrelida, Anandron®, anastrozol, Arabinosildiosina, Ara-C, Aranesp®, Aredia®, Arimidex®, Aromasin®, Arranon®, trióxido arsénico, asparaginasa, ATRA, Avastin®, Azacidina, BCG, BCNU, Bevacizumab, Bexaroteno, BEXXAR®, bicalutamida, BiCNU, Bleomixina®, bleomicina, Bortezomib, busulfano, Busulfex®, C225, leucovorina de calcio, Campath®, Camptosar®, Camptotecina-11, capecitabina, Carat™, carboplatina, carmustina, oblea de carmustina, Casodex®, CC-5013, CCNU, CDDP, CeeNU, Cerubidine®, Cetuximab, clorambucil, cisplatina, Citrovorum Factor, cladribina, cortisona, Cosmegen®, CPT-11, ciclofosfamida, Cytadren®, citarabina, citarabina, liposómico Cytosar-U®, Cytoxan®, dacarbazina, Dacogen, dactinomidina, Darbepoetin Alfa, Dasatinib, daunomicina, daunorubicina, hidrocloreuro de daunorubicina, daunorubicina, liposómico DaunoXome®, Decadron, Decitabine, Delta-Cortef®, Deltasone®, Denileukin difitox, DepoCyt™, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, Dexasone, Dexrazoxane, DHAD, DIC, Diodex, Docetaxel, Doxil®, doxorubicina, doxorubicina, liposómico Droxi™, DTIC, DTIC-Dome®, Duralone®, Efadex®, Eligard™, Ellence™, Eloxatin™, Elspar®, Emcyt®, epirubicina, Epoetin alfa, Erbitux™, Erlotinib, Erwinia L-asparaginasa, Estramustina, Etiol, Etopofos®, Etoposida, Fosfato de etoposida, Eulexin®, Evista®, Exemestano, Fareston®, Faslodex®, Femara®, Filgrastim, Floxuridina, Fludara®, fludarabina, Fluoroplex®, Fluorouracil, Fluorouracil (crema), flouximesterona, flutamida, Folinic ácido, FUDR®, Fulvestrant, G-CSF, Gefitinib, gemcitabina, Gemtuzumab ozogamicina, Gemzar®, Gleevec™, oblea de Gliadel®, goserelina, factor estimulador de colonias de macrófago de granulocito, Halotestin®, Herceptin®, Hexadrol, Hexalen®, hexametilmelamina, HMM, Hycamtin®, Hydrea®, Hydrocort Acetate®, hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato de sodio de hidrocortisona, Hidrocortona fosfato, hidroxurea, Ibritumomab, Ibritumomab Tiuxetan, Idamycin®, idarubicina, Ifex®, iFN-alfa ifosfamida, IL-11, IL-2, Imatinib mesilato, carboxamida de imidazol, alfa de interferón, interferón Alfa-2b (conjugado de clavija), interleucina -2, Interleukin-11, A® de intrón (interferón alfa-2b), Iressa®, irinotecán, Isotretinoína, Kidrolase®, Lanacort®, Lapatinib, L-asparaginasa, LCR, Lenalidomide, letrozol, leucovorina, Leukeran, Leukine™, Leuprolide, Leurocristine, Leustatin™, liposómico Ara-C, Pred® líquido, lomustina, L-PAM, L-Sarcolisin, Lupron®, Lupron Depot®, Matulane®, Maxidex, medoretamina, hidrocloreuro de mecloretamina, Medralone®, Medrol®, Megace®, Megestrol, acetato de Megestrol, melfalán, mercaptopurina, Mesna, Mesnex™, metotrexato, sodio de metotrexato, Metilprednisolona, Meticorten®, mitomicina, Mitomicina-C, mitoxantrona, M-Prednisol®, Mustargen®, Mustine, Mutamycin®, Myleran®, Mylocel™, Mylotarg®, Navelbine®, Nelarabina, Neosar®, Neulasta™, Neumega®, Neupogen®, Nexavar®, Nilandron®, nilutamida, Nipent®, mostaza de nitrógeno, Novaldex®, Novantrone®, Octreotide, Octreotide acetato, Oncospar®, Oncovin®, Ontak®, Onxal™, Oprevelkin, Orapred®, Orasone®, oxaliplatino, Paclitaxel, Paclitaxel Protein-bound, Pamidronate, Panitumumab, Panretin®, Paraplatin®, Pediapred®, interferón de clavija, Pegaspargase, Pegfilgrastim, PEG-INTRON™, PEG-L-asparaginasa, PEMETREXED, pentostatina, mostaza de fenilalanina, Platino®, Platino-AQ®, prednisolona, prednisona, Prelone®, procarbazona, PROCRIT®, Proleukin®, Prolifeprosan 20 con implante de carmustina, Purinethol®, raloxifeno, Revlimid®, Rheumatex®, Rituxan®, Rituximab, Roferon-A® (interferón Alfa-2a), Rubex®, hidrocloreuro Rubidomycin, Sandostatin®, Sandostatin LAR®, Sargramostim, Solu-Cortef®, Solu-Medrol®, Sorafenib, SPRYCEL™, STI-571, estreptozocina, SU11248, Sunitinib, Sutent®, tamoxifeno, Tarceva®, Targretin®, Taxol®, Taxotere®, Temodar®, temozolomida, Teniposide, TESPAs, Thalidomide, Thalomid®, TheraCys®, tioguanina, Tabloid® de tioguanina, Thiophosphoamide, Thioplex®, tiotepa, TICE®, Toposar®, Topotecan, toremifeno, Tositumomab, Trastuzumab, tretinoína, Trexall™, Trisenox®, TSPA, TYKERB®, VCR, Vectibix™, Velban®, Velcade®, VePesid®, Vesanoide®, Viadur™, Vidaza®, vinblastina, sulfato de vinblastina, Vincasar Pfs®, vincristina, vinorelbina, tartrato de vinorelbina, VLb, VM-26, Vorinostat, VP-16, Vumon®, Xeloda®, Zanosar®, Zevalin™, Zinecard®, Zoladex®, zoledronato, Zolinza, Zometa®, carbón-11, carbón-14, cromo-51, cobalto-57, cobalto-58, erbio-169, fluorina-18, galio-67, oro-198, Indio-111, Indio-113m, Iodo-123, Iodo-125, Iodo-131, hierro-59, criptón-81m, nitrógeno-13, oxígeno-15, fósforo-32, renio-186, rubidio-82, samario-153, selenio-75, estroncio-89, Tecnecio-99m, Talio-201, tritio, xenón-127, xenón-133, itrio-90, gadolinio, magnetita, manganeso, tecnecio, I125, I131, P32, TI201, lopamidol, PET-FDG.

Figura 1

posición en 1A06	posición en HSA madura	posición con secuencia líder	amino-ácido	% SASA	factor-B	SS	alineamiento 1 (Mamm. W.)	Adj. (alin. 1) 100 %	alineamiento 2 (var. sps.V)	polimorf.	cambio fenotípico	mutación conservada vs. cisteína
n/a	1	25	D	n/a	n/a	0	40	0	40	D25V	0	3
n/a	2	26	A	n/a	n/a	0	40	0	20			1
n/a	3	27	H	n/a	n/a	0	80	0	60	H27Q, H27Y	0	5
n/a	4	28	K	n/a	n/a	0	80	1	40			4
1	5	29	S	57.8	30.65	0	100	1	60			1
2	6	30	E	41.0	30.41	1	100	1	40			4
3	7	31	V	0.0	27.81	1	60	2	40			3
4	8	32	A	0.0	28.93	1	100	1	40			1
5	9	33	H	57.7	29.05	1	100	2	40			5
6	10	34	R	13.3	28.32	1	100	1	40			5
7	11	35	F	17.1	28.41	1	80	1	40			4
8	12	36	K	72.4	32.91	1	40	1	20			4
9	13	37	D	115.9	29.96	1	100	0	60			3
10	14	38	L	33.0	24.52	1	80	2	60			4
11	15	39	G	62.0	24.74	1	100	1	60			2
12	16	40	E	49.4	27.83	1	100	1	60			4
14	18	42	N	58.8	24.75	1	60	2	20			2
15	19	43	F	0.0	22.59	1	100	0	20			4
16	20	44	K	31.0	19.84	1	60	1	60			4
17	21	45	A	29.0	17.31	1	80	1	40			1
18	22	46	L	1.0	15.93	1	100	1	40			4
19	23	47	V	0.0	17.25	1	100	2	60			3
20	24	48	L	6.2	18.56	1	100	1	40			4

21	25	49	I	0.0	18.85	1	40	1	60			4
22	26	50	A	11.3	18.7	1	80	0	20			1
23	27	51	F	0.8	16.67	1	80	0	40			4
24	28	52	A	0.0	16.49	1	80	1	40			1
25	29	53	Q	3.1	18.47	1	100	0	40			3
26	30	54	Y	10.6	21.52	1	80	2	60			3
27	31	55	L	3.1	22.77	0	100	1	40			4
28	32	56	Q	8.7	19.2	0	100	1	60			3
29	33	57	Q	63.8	23.45	0	60	1	20			3
30	34	58	C	1.1	31.66	0	80	0	20			0
31	35	59	P	76.1	30.42	0	80	0	60			3
32	36	60	F	8.9	29.13	1	60	0	40			4
33	37	61	E	78.8	34.65	1	60	0	20			4
34	38	62	D	87.0	34.73	1	60	1	40			3
35	39	63	H	0.0	31.2	1	100	0	40			5
36	40	64	V	35.8	30.38	1	80	1	40			3
60	40	64	E	101.3	31.14	1	40	1	40			4
37	41	65	K	51.1	31.26	1	100	1	60			4
38	42	66	L	1.0	26.45	1	100	1	60			4
39	43	67	V	7.4	26.21	1	80	1	40			3
40	44	68	N	88.2	29.63	1	40	1	40			2
41	45	69	E	41.0	29.37	1	100	0	60			4
42	46	70	V	7.4	28.93	1	80	2	40			3
43	47	71	T	5.0	28.95	1	100	0	40			1
44	48	72	E	91.0	31.25	1	60	1	40			4
45	49	73	F	39.8	23.4	1	80	1	40	F73Y	0	4
46	50	74	A	0.0	23.04	1	100	0	60			1
47	51	75	K	53.4	28.74	1	80	1	60			4
48	52	76	T	86.3	35.9	1	40	1	20			1

49	53	77	C	0.0	36.73	1	100	0	60				0
50	54	78	V	60.5	39.55	1	60	1	40				3
51	55	79	A	148.4	43.59	1	80	0	40				1
52	56	80	D	117.4	45.92	0	80	0	40				3
53	57	81	E	54.5	48.38	0	80	0	40				4
54	58	82	S	164.1	53.12	0	80	0	40				1
55	59	83	A	54.8	52.13	0	60	0	40				1
56	60	84	E	110.3	53.87	0	40	0	20	E84K	0		4
57	61	85	N	54.1	43.73	0	80	1	40				2
58	62	86	C	1.1	36.08	0	100	0	80				0
59	63	87	D	189.9	35.65	0	80	2	40	D87N	1		3
60	64	88	K	32.2	32.63	0	100	0	60				4
61	65	89	S	93.8	26.67	0	80	1	60				1
62	66	90	L	9.3	23.68	1	80	0	40	L90P	1		4
63	67	91	H	20.0	20.17	1	80	0	40				5
64	68	92	T	45.0	22.6	1	80	0	40				1
65	69	93	L	22.7	18.5	1	80	0	60				4
66	70	94	F	13.0	19.27	1	80	1	60				4
67	71	95	G	4.0	23.14	1	100	1	40				2
68	72	96	D	113.0	24.53	1	100	1	60				3
69	73	97	K	32.2	22.59	1	80	1	40				4
70	74	98	L	1.0	19.05	1	80	1	40				4
71	75	99	C	20.7	24.72	1	100	0	80				0
72	76	100	T	105.0	32.05	1	40	1	20				1
73	77	101	V	27.2	42.97	1	60	0	20				3
74	78	102	A	0.0	53.66	1	60	0	20				1
75	79	103	T	103.8	67.13	0	40	0	20				1
76	80	104	L	106.2	79.71	0	80	0	40				4
77	81	105	R	87.2	90.39	1	80	0	40				5

ES 2 630 253 T3

78	82	106	E	130.1	96.77	1	60	0	40	E106K	0	4
79	83	107	T	113.8	98.21	1	60	1	20			1
80	84	108	Y	20.2	95.72	1	100	0	60			3
81	85	109	G	74.0	93.64	0	80	1	40			2
82	86	110	E	99.4	88.78	0	60	0	20			4
83	87	111	M	28.2	77.89	0	40	1	20			3
84	88	112	A	22.6	66.98	0	100	1	40			1
85	89	113	D	166.7	54.86	0	100	2	40			3
86	90	114	C	0.0	37.61	0	100	2	60			0
87	91	115	C	32.6	33.58	0	100	1	60			0
88	92	116	A	135.5	38.25	0	40	2	20			1
89	93	117	K	52.3	39.06	0	100	0	60			4
90	94	118	Q	121.3	41.84	0	60	1	40			3
91	95	119	E	28.2	35.82	0	80	1	40			4
92	96	120	P	125.4	32.16	0	100	0	60			3
93	97	121	E	63.5	28.49	1	80	2	60	E121G	0	4
94	98	122	R	7.6	26.53	1	100	0	60			5
95	99	123	N	1.2	30.02	1	80	2	40			2
96	100	124	E	71.8	31.84	1	100	1	60			4
97	101	125	C	2.2	28.44	1	100	2	80			0
98	102	126	F	3.3	22.56	1	100	2	60			4
99	103	127	L	22.7	26.39	1	100	1	60			4
100	104	128	Q	111.0	32.1	1	40	2	20			3
101	105	129	H	33.8	31.12	0	100	1	60			5
102	106	130	K	10.9	30.28	0	100	1	60			4
103	107	131	D	60.9	30.16	0	80	2	40			3
104	108	132	D	58.0	32.21	0	100	0	40			3
105	109	133	N	80.0	36.44	0	60	2	20			2
106	110	134	P	28.4	37.95	0	100	0	60			3

107	111	135	N	143.5	49.66	0	40	1	20			2
108	112	136	L	30.9	49.38	0	80	0	40			4
109	113	137	P	141.8	51.5	0	80	0	40			3
110	114	138	R	88.6	56.24	0	40	0	20	R138G	1	5
111	115	139	L	100.0	54.21	0	60	0	20			4
112	116	140	V	139.5	51.82	0	40	0	0			3
113	117	141	R	46.4	49.48	0	40	0	20			5
114	118	142	P	98.5	47.97	0	80	0	60			3
115	119	143	E	88.5	46.63	0	80	0	40	E143K	0	4
116	120	144	V	22.2	40.28	1	40	0	20			3
117	121	145	D	130.4	46.02	1	60	0	40			3
118	122	146	V	87.7	43.96	1	40	0	20	V146E	0	3
119	123	147	M	26.2	39.04	1	40	1	20			3
120	124	148	C	3.3	34.94	1	100	0	60			0
121	125	149	T	115.0	35.32	1	40	1	20			1
122	126	150	A	74.2	33.29	1	60	1	20			1
123	127	151	F	0.0	33.85	1	100	0	60			4
124	128	152	H	75.4	39.69	1	20	1	20	H152R	0	5
125	129	153	D	211.6	43.69	1	40	0	20			3
126	130	154	N	87.1	42.63	0	40	0	20			2
127	131	155	E	42.3	43.42	1	60	0	20			4
128	132	156	E	70.5	43.81	1	20	0	20			4
129	133	157	T	76.3	36.77	1	20	1	20			1
130	134	158	F	23.6	29.94	1	100	0	60			4
131	135	159	L	24.7	27.81	1	40	1	40			4
132	136	160	K	29.9	26.12	1	60	0	40			4
133	137	161	K	52.9	24.22	1	60	1	20			4
134	138	162	Y	26.0	20.68	1	100	1	60			3
135	139	163	L	13.4	19.07	1	100	1	60			4

136	140	164	Y	6.7	21.43	1	80	2	40	Y164C	0	3
137	141	165	E	17.9	22.66	1	100	0	60			4
138	142	166	I	50.0	19.7	1	60	1	40			4
139	143	167	A	0.0	16.68	1	80	1	60			1
140	144	168	R	11.4	16.35	1	100	1	60			5
141	145	169	R	22.7	20.06	1	100	2	60			5
142	146	170	H	37.7	23	0	100	2	60			5
143	147	171	P	3.0	22.35	0	100	2	60			3
144	148	172	Y	24.0	22.81	0	100	2	60			3
145	149	173	F	2.4	22.42	0	100	2	40			4
146	150	174	Y	16.3	20	0	100	1	60			3
147	151	175	A	0.0	22.17	1	80	2	40			1
148	152	176	P	9.0	23.4	1	100	1	60			3
149	153	177	E	4.5	23.39	1	100	2	40			4
150	154	178	L	1.0	20.61	1	100	2	40			4
151	155	179	L	14.4	22.22	1	100	1	60			4
152	156	180	F	12.2	22.38	1	60	1	40			4
153	157	181	F	1.6	24.28	1	40	1	20			4
154	158	182	A	21.0	24.88	1	100	0	60			1
155	159	183	K	45.4	27.29	1	20	1	20			4
156	160	184	R	33.2	25.89	1	40	1	20			5
157	161	185	Y	25.0	25.3	1	100	0	60			3
158	162	186	K	45.4	21.31	1	60	1	20			4
159	163	187	A	87.1	21.49	1	40	0	20			1
160	164	188	A	4.8	22.78	1	40	0	20			1
161	165	189	F	0.0	23.92	1	60	0	20			4
162	166	190	T	77.5	30.55	1	40	0	40			1
163	167	191	E	75.0	33.84	1	80	1	40			4
164	168	192	C	0.0	31.68	1	100	1	60			0

165	169	193	C	14.1	32.95	0	100	1	60				0
166	170	194	Q	124.4	34.61	0	40	1	20				3
167	171	195	A	58.1	31.57	0	80	0	40				1
168	172	196	A	183.9	30.74	0	40	1	40				1
169	173	197	D	155.1	29.21	0	100	1	60				3
170	174	198	K	32.2	30.28	1	100	1	60				4
171	175	199	A	74.2	27.97	1	40	1	40				1
172	176	200	A	93.5	29.27	1	80	1	40				1
173	177	201	C	30.4	28.29	1	100	1	80		C201F	2	0
174	178	202	L	0.0	28.43	1	100	1	40				4
175	179	203	L	70.1	27.06	1	40	2	20				4
176	180	204	P	111.9	28.36	1	100	1	40				3
177	181	205	K	33.3	27.16	1	100	1	60				4
178	182	206	L	10.3	24.64	1	60	1	20				4
179	183	207	D	52.2	26.6	1	60	0	40				3
180	184	208	E	80.8	28.49	1	40	0	20				4
181	185	209	L	8.2	26.58	1	60	0	40				4
182	186	210	R	59.2	29.18	1	40	0	20				5
183	187	211	D	118.8	28.69	1	60	0	40				3
184	188	212	E	35.9	27.68	1	60	0	40				4
185	189	213	G	20.0	22.68	1	20	0	20				2
186	190	214	K	37.9	23.57	1	60	0	40				4
187	191	215	A	58.1	22.4	1	40	0	20		A215V	0	1
188	192	216	S	32.8	23.5	1	80	0	40				1
189	193	217	S	21.9	21.41	1	60		40				1
190	194	218	A	45.2	21.45	1	80	0	40				1
191	195	219	K	55.2	24.21	1	40	0	20				4
192	196	220	Q	6.3	20.68	1	60	1	40		Q220L	0	3
193	197	221	R	9.0	16.53	1	100	0	40				5

194	198	222	L	27.8	18.26	1	80	1	40				4
195	199	223	K	20.1	19.76	1	60	1	40				4
196	200	224	C	2.2	20.47	1	100	0	80				0
197	201	225	A	4.8	21.9	1	60	2	20				1
198	202	226	S	17.2	25.36	1	100	0	40				1
199	203	227	L	19.6	28.06	1	40	1	40				4
200	204	228	Q	66.1	33.17	1	80	0	40				3
201	205	229	K	75.3	34.01	1	80	1	40				4
202	206	230	F	52.8	28.46	1	100	1	60				4
203	207	231	G	50.0	28.59	0	100	1	60				2
204	208	232	E	67.9	29.55	1	60	2	40				4
205	209	233	R	56.4	29.9	1	100	1	60				5
206	210	234	A	48.4	25.17	1	100	1	40				1
207	211	235	F	1.6	24.26	1	60	2	40				4
208	212	236	K	42.5	31.21	1	100	1	60				4
209	213	237	A	54.8	26.47	1	100	2	60				1
210	214	238	W	49.2	23.68	1	100	1	40				3
211	215	239	A	0.0	20.76	1	40	1	20				1
212	216	240	V	17.3	23.85	1	80	0	40				3
213	217	241	A	0.0	26.06	1	80	1	40				1
214	218	242	R	18.0	29.91	1	100	0	40		R242H, R242P	1	5
215	219	243	L	14.4	23.26	1	80	2	40				4
216	220	244	S	0.0	23.79	1	100	1	60				1
217	221	245	Q	2.4	24.52	1	100	1	60				3
218	222	246	R	19.0	24.02	1	40	2	40				5
219	223	247	F	2.4	26.59	0	100	1	60				4
220	224	248	P	4.5	29.7	0	100	1	60				3
221	225	249	K	54.6	37.85	0	80	2	60		K249Q	0	4

ES 2 630 253 T3

222	226	250	A	1.6	35.15	0	100	0	60	1
223	227	251	E	89.7	38.91	0	40	2	20	4
224	228	252	F	30.9	37.46	1	100	0	60	4
225	229	253	A	109.7	36.47	1	60	1	40	1
226	230	254	E	17.3	32.11	1	80	0	40	4
227	231	255	V	0.0	29.49	1	40	0	20	3
228	232	256	S	54.7	29.63	1	60	0	20	1
229	233	257	K	43.7	28.65	1	80	0	60	4
230	234	258	L	3.1	32.28	1	40	0	20	4
231	235	259	V	6.2	29.28	1	80	1	40	3
232	236	260	T	92.5	29.1	1	100	0	40	1
233	237	261	D	62.3	28.36	1	80	1	40	3
234	238	262	L	30.9	23.28	1	80	0	40	4
235	239	263	T	6.3	24.55	1	80	1	40	1
236	240	264	K	63.8	24.54	1	100	0	40	4
237	241	265	V	1.2	23.3	1	80	1	40	3
238	242	266	H	3.1	20.96	1	60	0	40	5
239	243	267	T	66.3	21.82	1	60	1	40	1
240	244	268	E	17.9	24.56	1	100	1	60	4
241	245	269	C	10.9	22.73	1	100	2	60	0
242	246	270	C	3.3	20.77	1	100	2	80	0
243	247	271	H	53.8	25.67	0	100	2	40	5
244	248	272	G	16.0	19.18	0	100	2	80	2
245	249	273	D	37.7	18.57	0	100	2	60	3
246	250	274	L	5.2	18.31	1	100	2	40	4
247	251	275	L	3.1	16.12	1	100	2	40	4
248	252	276	E	17.3	19.95	1	100	2	60	4
249	253	277	C	0.0	19.89	1	100	2	60	0
250	254	278	A	21.0	20.33	1	100	2	40	1

251	255	279	D	10.1	21.47	1	100	2	40			3
252	256	280	D	47.8	23.25	1	100	2	60			3
253	257	281	R	9.0	26.57	1	100	1	60			5
254	258	282	A	38.7	25.99	1	80	1	40			1
255	259	283	D	123.2	23.81	1	60	1	20			3
256	260	284	L	17.5	21.77	1	100	0	60			4
257	261	285	A	8.1	27.58	1	80	2	40			1
258	262	286	K	64.4	31.33	1	100	1	40			4
259	263	287	Y	51.0	30.7	1	100	1	60			3
260	264	288	I	14.3	32.27	1	40	2	20			4
261	265	289	C	18.5	38.84	1	100	0	80			0
262	266	290	E	83.3	41.21	1	80	1	40			4
263	267	291	N	54.1	36.4	0	60	1	20			2
264	268	292	Q	32.3	37.75	1	100	0	60	Q292R	0	3
265	269	293	D	229.0	45.46	1	60	1	60	D293G	1	3
266	270	294	S	114.1	43.53	1	40	0	20			1
267	271	295	I	2.4	35.55	1	80	1	40			4
268	272	296	S	7.8	36.26	0	100	0	60			1
269	273	297	S	112.5	40.24	0	60	1	40			1
270	274	298	K	23.6	38.39	0	80	1	60			4
271	275	299	L	0.0	37.35	0	100	0	80			4
272	276	300	K	64.9	45.27	0	80	1	40	K300N	1	4
273	277	301	E	79.5	46.31	0	60	1	20			4
274	278	302	C	1.1	40.66	0	100	1	80			0
275	279	303	C	20.7	40.94	0	100	1	80			0
276	280	304	E	99.4	44.93	0	60	2	40			4
277	281	305	K	59.2	41.28	0	100	0	60			4
278	282	306	P	116.4	40.02	0	80	1	60			3
279	283	307	L	87.6	36.51	1	40	1	20			4

ES 2 630 253 T3

280	284	308	L	22.7	33.27	1	100	0	60				4
281	285	309	E	32.7	32.98	1	60	2	40				4
282	286	310	K	26.4	30.79	1	100	0	40				4
283	287	311	S	12.5	31.54	1	80	1	40				1
284	288	312	H	27.7	33.63	1	80	1	40				5
285	289	313	C	22.8	34.65	1	100	0	80				0
286	290	314	I	14.3	34.3	1	60	1	40				4
287	291	315	A	53.2	35.49	1	60	0	40				1
288	292	316	E	58.3	40.82	0	80	0	40				4
289	293	317	V	32.1	40.52	0	60	0	40				3
290	294	318	E	89.1	40.97	0	40	0	40				4
291	295	319	N	65.9	40.65	0	20	1	20				2
292	296	320	D	15.9	44.56	0	100	0	60				3
293	297	321	E	80.8	49.85	0	40	1	20				4
294	298	322	M	84.5	53.49	0	20	1	20				3
295	299	323	P	44.8	59.14	0	100	0	60				3
296	300	324	A	180.6	63.75	0	40	1	40				1
297	301	325	D	218.8	64.56	0	60	1	40				3
298	302	326	L	44.3	61.34	0	100	0	60				4
299	303	327	P	119.4	59.59	0	80	1	60				3
300	304	328	S	134.4	57.01	0	20	0	20				1
301	305	329	L	13.4	53.51	0	80	0	40				4
302	306	330	A	33.9	49.21	1	60	0	20				1
303	307	331	A	67.7	48.5	1	60	0	40				1
304	308	332	D	131.9	47.92	1	80	0	40				3
305	309	333	F	10.6	43.2	1	80	0	40				4
306	310	334	V	25.9	50.47	0	60	1	40				3
307	311	335	E	92.9	55.73	0	100	0	60				4
308	312	336	S	75.0	57.48	0	60	1	40				1

309	313	337	K	92.0	64.18	0	80	0	0	40	K337N	1	4
310	314	338	D	131.9	65.86	0	40	0	0	40	D338G, D338V	1	3
311	315	339	V	2.5	62.66	1	80	1	1	60			3
312	316	340	C	23.9	62.19	1	100	1	1	80			0
313	317	341	K	79.3	62.49	1	100	1	1	60			4
314	318	342	N	107.1	59.91	1	80	1	1	40	N342K	0	2
315	319	343	Y	13.5	58.72	1	80	0	0	60			3
316	320	344	A	119.4	64	1	40	0	0	20	A344T	1	1
317	321	345	E	88.5	67.18	1	80	1	1	40	E345K	0	4
318	322	346	A	75.8	66.17	0	100	1	1	40			1
319	323	347	K	52.9	62.98	1	100	1	1	60			4
320	324	348	D	120.3	58.69	1	80	1	1	60			3
321	325	349	V	100.0	50.37	1	80	1	1	40			3
322	326	350	F	8.1	44.71	1	100	1	1	60			4
323	327	351	L	18.6	42.37	1	100	2	2	60			4
324	328	352	G	30.0	38.93	1	100	1	1	60			2
325	329	353	M	65.0	37.18	1	40	2	2	20			3
326	330	354	F	0.8	29.72	1	100	1	1	60			4
327	331	355	L	8.2	29.23	1	100	2	2	60			4
328	332	356	Y	13.5	30.36	1	100	2	2	60			3
329	333	357	E	23.7	29.68	1	100	2	2	60	E357K	0	4
330	334	358	Y	14.4	32.04	1	100	1	1	60			3
331	335	359	A	0.0	31.27	1	60	2	2	60			1
332	336	360	R	8.5	31.88	1	100	1	1	60			5
333	337	361	R	16.6	33.45	0	100	2	2	60			5
334	338	362	H	33.1	32.11	0	100	2	2	60			5
335	339	363	P	62.7	28.98	0	100	1	1	60			3
336	340	364	D	84.1	24.21	0	40	2	2	40			3

337	341	365	Y	24.0	20.57	0	100	0	40				3
338	342	366	S	0.0	20.06	0	80	1	60				1
339	343	367	V	2.5	23.25	1	80	0	40				3
340	344	368	V	14.8	24.72	1	60	0	20				3
341	345	369	L	0.0	25.04	1	60	1	40				4
342	346	370	L	0.0	25.17	1	100	1	60				4
343	347	371	L	16.5	25.68	1	100	2	60				4
344	348	372	R	3.3	24.63	1	100	1	60				5
345	349	373	L	0.0	26.75	1	60	1	40				4
346	350	374	A	27.4	27.71	1	80	1	60				1
347	351	375	K	60.3	33.28	1	100	0	60				4
348	352	376	T	33.8	31.6	1	20	2	20				1
349	353	377	Y	0.0	34.39	1	100	1	60				3
350	354	378	E	13.5	35.62	1	100	1	60	E378K	0		4
351	355	379	T	86.3	40.3	1	80	1	40				1
352	356	380	T	15.0	45.68	1	80	1	40				1
353	357	381	L	0.0	49.17	1	100	0	80				4
354	358	382	E	66.0	53.47	1	80	1	60	E382K	0		4
355	359	383	K	91.4	55.14	1	60	1	40	K383N	2		4
356	360	384	C	2.2	60.95	1	100	1	80				0
357	361	385	C	42.4	66.33	0	100	2	80				0
358	362	386	A	140.3	72.72	0	100	1	60				1
359	363	387	A	75.8	76.03	0	20	1	20				1
360	364	388	A	164.5	80.24	0	40	0	20				1
361	365	389	D	168.1	84.23	0	80	1	40	D389H, D389V	1		3
362	366	390	P	35.8	82.14	1	100	0	60				3
363	367	391	H	65.4	80.75	1	40	1	20				5
364	368	392	E	109.6	77.34	1	60	1	20				4

365	369	393	C	48.9	69.93	1	100	1	80			0
366	370	394	Y	1.9	65.2	0	100	1	60			3
367	371	395	A	100.0	63.92	0	60	1	40			1
368	372	396	K	73.0	64	0	40	1	20	K396E	0	4
369	373	397	V	0.0	58.46	1	100	0	40			3
370	374	398	F	51.2	53.71	1	60	1	40			4
371	375	399	D	152.2	50.78	1	80	0	40	D399N, D399H	0	3
372	376	400	E	66.0	44.4	1	60	0	20	E400K, E400Q	0	4
373	377	401	F	2.4	39.67	0	60	0	40			4
374	378	402	K	72.4	36.35	1	40	0	20			4
375	379	403	P	119.4	32.33	1	80	1	40			3
376	380	404	L	50.5	32.53	1	100	0	40			4
377	381	405	V	17.3	36.18	1	80	1	40			3
378	382	406	E	61.5	39.76	1	40	1	20	E406K	0	4
379	383	407	E	49.4	39.21	1	100	1	60			4
380	384	408	P	0.0	36.35	1	100	1	40			3
381	385	409	Q	68.5	41.13	1	40	1	20			3
382	386	410	N	94.1	42.58	1	80	1	40			2
383	387	411	L	21.6	44.35	1	100	0	60			4
384	388	412	I	11.9	45.79	1	60	1	40			4
385	389	413	K	69.5	50.24	1	80	0	60			4
386	390	414	Q	96.9	52.9	1	40	1	20			3
387	391	415	N	22.4	52.97	1	100	1	60			2
388	392	416	C	3.3	52.58	1	100	1	80			0
389	393	417	E	71.2	57.82	1	60	1	40			4
390	394	418	L	52.6	55.99	1	80	0	40			4
391	395	419	F	30.1	58.68	1	60	0	40			4

392	396	420	E	85.9	62.51	1	80	0	40	E420K	0	4
393	397	421	Q	101.6	58.94	1	40	0	20			3
394	398	422	L	21.6	53.27	1	60	1	40			4
395	399	423	G	62.0	50.77	0	100	0	60			2
396	400	424	E	51.9	50.07	1	80	2	40			4
397	401	425	Y	53.8	50.48	1	100	0	60			3
398	402	426	K	66.7	46.35	1	40	2	20			4
399	403	427	F	0.8	40.68	1	100	1	60			4
400	404	428	Q	0.8	37.32	1	100	2	40			3
401	405	429	N	21.2	34.37	1	100	2	60			2
402	406	430	A	54.8	29.99	1	100	1	40			1
403	407	431	L	8.2	28.56	1	80	1	60			4
404	408	432	L	0.0	32.59	1	40	1	40			4
405	409	433	V	34.6	36.52	1	100	1	60			3
406	410	434	R	31.8	38.85	1	100	2	60	R434C	1	5
407	411	435	Y	15.4	32.48	1	100	2	80			3
408	412	436	T	0.0	29.54	1	100	1	60			1
409	413	437	K	27.6	33.11	1	60	1	40			4
410	414	438	K	6.3	32.07	1	100	0	60			4
411	415	439	V	0.0	28.94	0	40	2	20			3
412	416	440	P	7.5	31.07	0	100	1	80			3
413	417	441	Q	45.7	31.05	0	100	2	60			3
414	418	442	V	3.7	28.94	0	100	2	60			3
415	419	443	S	98.4	27.89	0	100	2	60			1
416	420	444	T	13.8	27.97	1	100	2	40			1
417	421	445	P	132.8	24.74	1	100	2	40			3
418	422	446	T	18.8	25.07	1	100	2	60			1
419	423	447	L	3.1	24.57	1	100	2	60			4
420	424	448	V	6.2	25.83	1	100	2	60			3

ES 2 630 253 T3

421	425	449	E	48.1	30.55	1	100	1	60	4
422	426	450	V	3.7	28	1	40	1	20	3
423	427	451	S	1.6	31.38	1	40	1	20	1
424	428	452	R	18.0	30.58	1	100	0	40	5
425	429	453	N	22.4	29.18	1	20	2	20	2
426	430	454	L	7.2	31.68	1	100	1	40	4
427	431	455	G	0.0	35.59	1	100	1	40	2
428	432	456	K	27.6	36.58	0	60	2	40	4
429	433	457	V	17.3	37.59	0	100	1	60	3
430	434	458	G	4.0	40.74	1	100	1	60	2
431	435	459	S	73.4	41.51	1	40	1	20	1
432	436	460	K	58.0	40.92	1	60	1	40	4
433	437	461	C	2.2	41.74	1	100	1	80	0
434	438	462	C	13.0	46.67	0	100	1	80	0
435	439	463	K	106.3	52.99	0	40	1	20	4
436	440	464	H	44.6	54.37	0	40	1	20	5
437	441	465	P	119.4	55.7	0	100	1	60	3
438	442	466	E	112.8	57.25	0	100	1	60	4
439	443	467	A	93.5	55.15	0	40	1	20	1
440	444	468	K	63.8	50.64	0	40	1	20	4
441	445	469	R	24.2	42.52	1	100	0	60	5
442	446	470	M	8.7	35.96	1	40	1	20	3
443	447	471	P	35.8	36.33	1	60	1	40	3
444	448	472	C	43.5	35.54	1	100	0	80	0
445	449	473	A	3.2	33.69	1	40	2	20	1
446	450	474	E	0.0	29.58	1	100	0	60	4
447	451	475	D	42.0	25.46	1	80	1	40	3
448	452	476	Y	34.6	20.82	1	80	1	40	3
449	453	477	L	20.6	21.5	1	100	0	60	4

450	454	478	S	23.4	20.37	1	80	1	40	1		1
451	455	479	V	23.5	16.54	1	40	0	20	0		3
452	456	480	V	3.7	20.05	1	40	1	20	1		3
453	457	481	L	3.1	17.71	1	100	1	60	1		4
454	458	482	N	3.5	19.76	1	100	1	40	1		2
455	459	483	Q	25.2	25.52	1	80	1	40	1		3
456	460	484	L	2.1	26.58	1	80	1	40	1		4
457	461	485	C	7.6	27.06	1	100	0	80	0		0
458	462	486	V	12.3	25.4	1	80	2	40	2		3
459	463	487	L	17.5	29.09	1	100	1	40	1		4
460	464	488	H	6.9	35.51	1	100	2	40	2		5
461	465	489	E	60.3	42.01	1	100	2	60	2		4
462	466	490	K	54.0	45.63	1	100	2	60	2	K490E	4
463	467	491	T	111.3	47.62	0	100	2	60	2		1
464	468	492	P	128.4	44.24	0	100	2	40	2		3
465	469	493	V	97.5	41.69	0	100	2	40	2		3
466	470	494	S	4.7	43.02	0	100	1	40	1		1
467	471	495	D	205.8	45.67	1	80	1	40	1		3
468	472	496	R	25.6	43.1	1	40	0	20	0		5
469	473	497	V	0.0	35.26	1	80	1	60	1		3
470	474	498	T	66.3	36.92	1	100	1	40	1		1
471	475	499	K	63.2	36.72	1	100	2	40	2		4
472	476	500	C	2.2	29.85	1	100	2	80	2		0
473	477	501	C	9.8	29.96	1	100	1	80	1		0
474	478	502	T	125.0	35	1	60	1	40	1		1
475	479	503	E	94.2	40.83	1	60	1	20	1	E503K	4
476	480	504	S	62.5	40.31	0	100	1	60	1		1
477	481	505	L	34.0	34.26	0	100	1	40	1		4
478	482	506	V	32.1	32.41	0	80	1	40	1		3

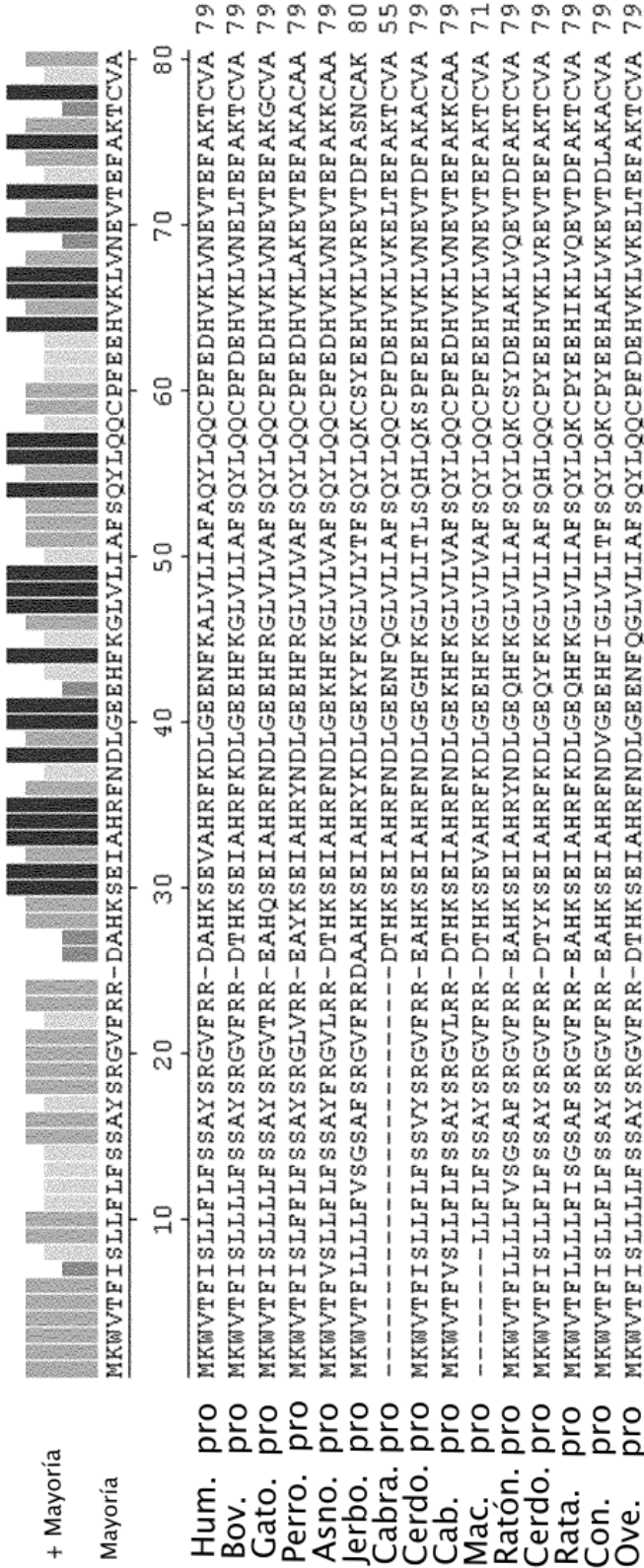
479	483	507	N	85.9	30.93	0	60	1	40				2
480	484	508	R	8.1	26.02	1	100	1	60				5
481	485	509	R	2.4	27.43	1	100	2	60				5
482	486	510	P	26.9	27.41	1	100	2	60				3
483	487	511	C	34.8	28.7	1	100	2	80				0
484	488	512	F	0.0	26.54	1	100	2	60				4
485	489	513	S	39.1	29.37	1	100	1	40				1
486	490	514	A	130.6	32.03	1	80	2	40				1
487	491	515	L	12.4	36.77	0	100	0	60				4
488	492	516	E	83.3	48.42	0	40	1	20				4
489	493	517	V	67.9	54.02	0	40	1	20				3
490	494	518	D	26.1	62.32	0	100	1	60	D518N	1		3
491	495	519	E	100.6	69.16	0	100	1	60				4
492	496	520	T	148.8	70.07	0	60	2	40				1
493	497	521	Y	46.2	69.63	0	100	0	60				3
494	498	522	V	149.4	74.11	0	80	2	60				3
495	499	523	P	89.6	78.71	0	100	1	80				3
496	500	524	K	86.8	87.39	0	100	1	40				4
497	501	525	E	99.4	95.25	0	60	2	40	E525K	0		4
498	502	526	F	48.8	97.09	0	100	0	60				4
499	503	527	N	81.2	99.86	0	40	1	20				2
500	504	528	A	108.1	98.55	0	60	0	40				1
501	505	529	E	105.8	93.84	0	60	0	40	E529K	0		4
502	506	530	T	92.5	88	0	60	1	40				1
503	507	531	F	3.3	82.27	0	100	1	60				4
504	508	532	T	100.0	80.18	0	100	2	40				1
505	509	533	F	13.8	78.2	0	100	2	60				4
506	510	534	H	88.5	76.46	0	100	1	60				5
507	511	535	A	48.4	69.68	0	80	1	40				1

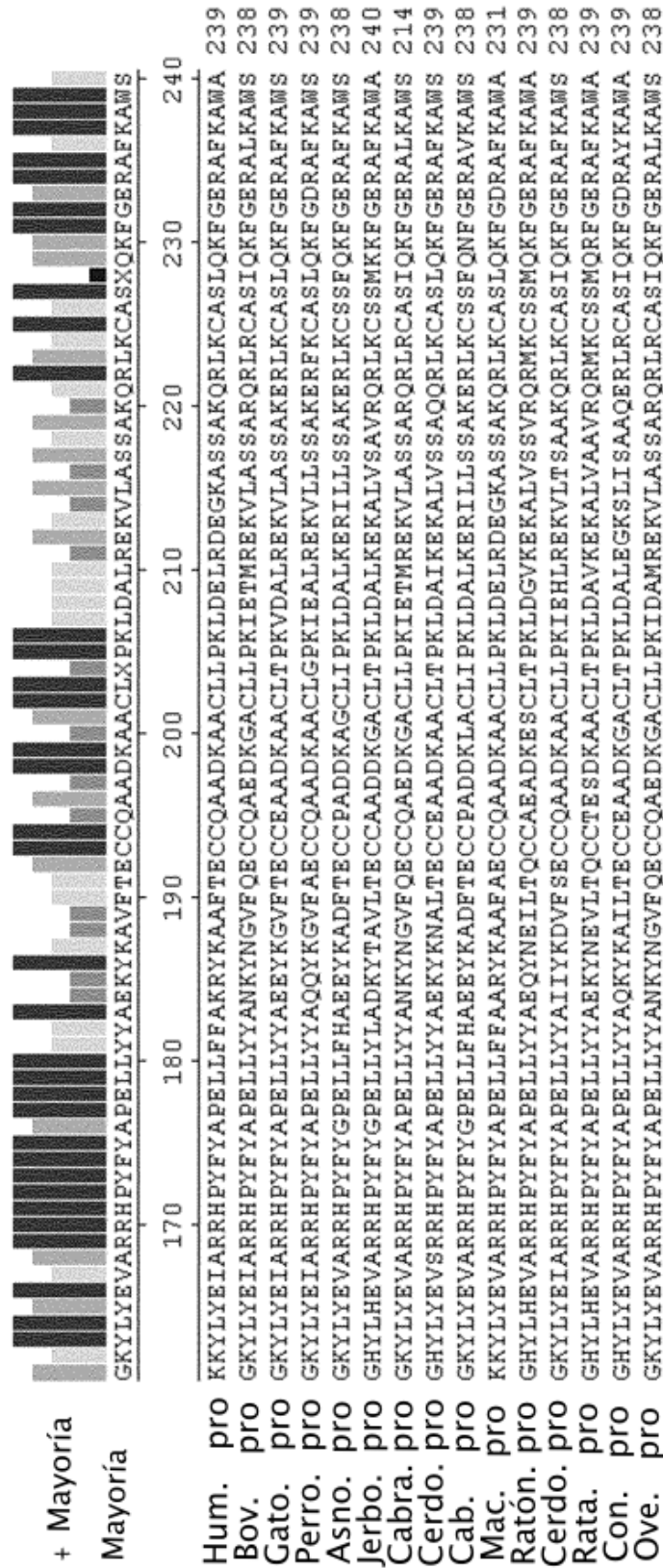
508	512	536	D	139.1	61.05	0	80	0	40				3
509	513	537	I	4.8	50.62	0	60	1	40				4
510	514	538	C	45.7	44.69	0	100	1	80				0
511	515	539	T	145.0	40.33	0	100	2	60				1
512	516	540	L	46.4	40.23	0	100	1	40				4
513	517	541	S	78.1	46.03	0	60	1	40				1
514	518	542	E	51.9	49.65	1	60	0	40				4
515	519	543	K	62.6	49.4	1	40	1	20				4
516	520	544	E	23.7	43.06	1	100	0	60				4
517	521	545	R	16.6	40.16	1	80	1	40				5
518	522	546	Q	37.0	39.72	1	80	0	60				3
519	523	547	I	71.4	36.13	1	60	0	40				4
520	524	548	K	60.3	34.29	1	80	1	60				4
521	525	549	K	6.9	35.18	1	100	1	60				4
522	526	550	Q	0.0	30.63	1	100	1	60				3
523	527	551	T	53.8	28.26	1	60	2	20				1
524	528	552	A	6.5	31.62	1	100	1	40				1
525	529	553	L	7.2	30.26	1	100	1	80				4
526	530	554	V	0.0	33.2	1	60	2	40				3
527	531	555	E	28.2	41.25	1	100	1	60				4
528	532	556	L	14.4	49.88	1	100	1	60				4
529	533	557	V	2.5	54.97	1	60	2	40	V557M	0		3
530	534	558	K	10.9	60.16	0	100	1	60				4
531	535	559	H	27.7	70.44	0	100	2	60				5
532	536	560	K	23.0	79.19	0	100	1	60	K560E	0		4
533	537	561	P	34.3	87.27	0	100	1	60				3
534	538	562	K	115.5	96.73	0	80	2	40				4
535	539	563	A	90.3	99.48	0	100	0	40				1
536	540	564	T	26.3	97.44	0	80	1	60				1

537	541	565	K	98.3	96.84	0	20	0	20	K565E	1	4
538	542	566	E	105.8	96.98	1	80	1	60			4
539	543	567	Q	53.5	92.83	1	100	0	60			3
540	544	568	L	6.2	91.34	1	80	1	60			4
541	545	569	K	63.8	92.51	1	80	0	60			4
542	546	570	A	80.6	91.51	1	60	1	40			1
543	547	571	V	27.2	88.34	1	100	0	60			3
544	548	572	M	8.7	86.47	1	60	1	40			3
545	549	573	D	146.4	84.68	1	40	0	20			3
546	550	574	D	94.2	80.18	1	40	1	20	D574G, D574A	0	3
547	551	575	F	0.8	74.2	1	100	0	80			4
548	552	576	A	38.7	71.8	1	40	1	20			1
549	553	577	A	69.4	71.17	1	60	0	40			1
550	554	578	F	0.8	71.18	1	80	0	40			4
551	555	579	V	1.2	73.7	1	60	0	60			3
552	556	580	E	60.9	77.5	1	40	0	20			4
553	557	581	K	71.8	77.55	1	80	1	60			4
554	558	582	C	1.1	76.28	1	100	1	80			0
555	559	583	C	40.2	71.47	0	100	1	80			0
556	560	584	K	92.5	81.9	0	40	1	20	K584E	0	4
557	561	585	A	77.4	89.44	0	80	0	60			1
558	562	586	D	217.4	95.72	0	40	0	40			3
559	563	587	D	63.8	98.46	0	80	0	60	D587N	1	3
560	564	588	K	97.1	100.08	0	80	0	40			4
561	565	589	E	87.8	98.18	0	80	0	40	E589K	0	4
562	566	590	T	86.3	94.83	1	40	1	40			1
563	567	591	C	25.0	92.56	1	100	1	80			0
564	568	592	F	1.6	95.34	1	100	1	60			4

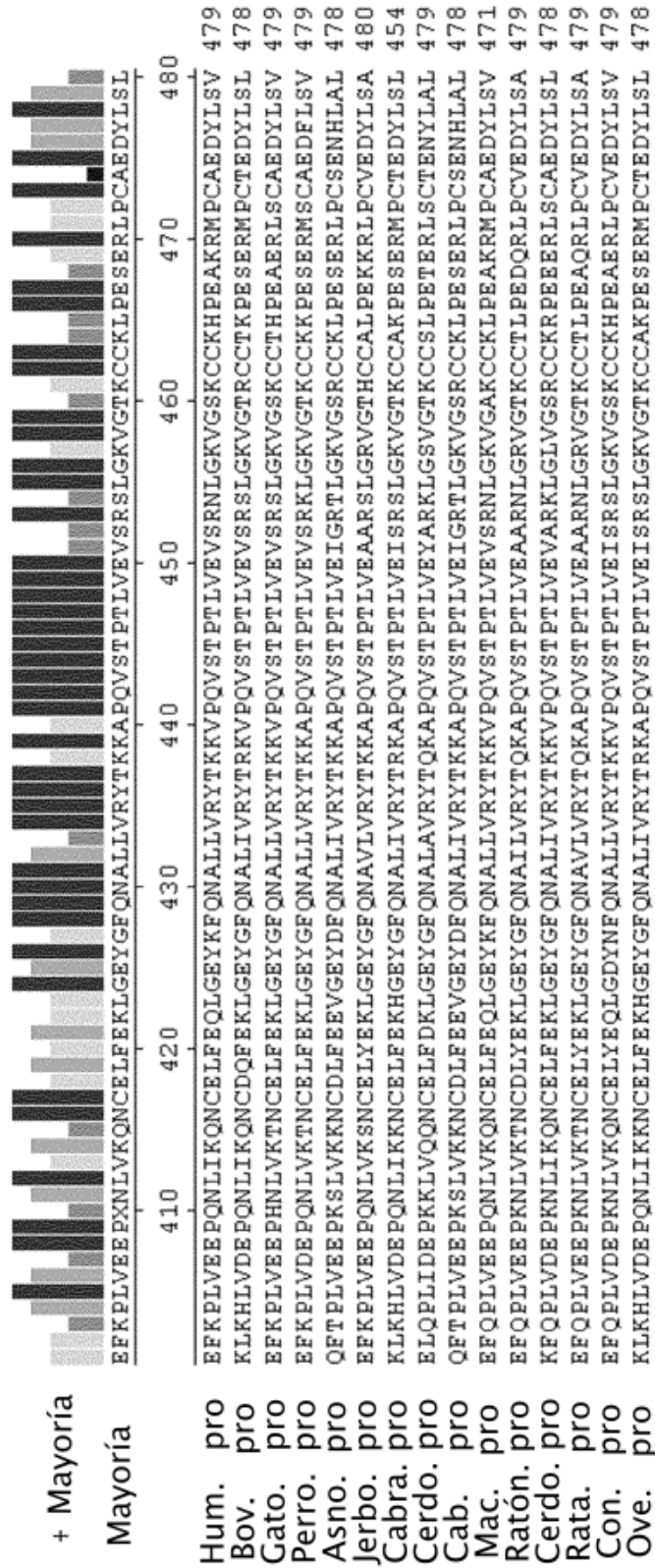
565	569	593	A	74.2	96.55	1	60	1	20		1	
566	570	594	E	73.1	97.9	1	40	0	40	E594K	2	4
567	571	595	E	48.7	96.74	1	80	1	60			4
568	572	596	G	6.0	97.47	1	100	0	60			2
569	573	597	K	81.6	98.2	1	80	1	40	K597E	0	4
570	574	598	K	90.8	99.51	1	80	0	40	K598N	0	4
571	575	599	L	33.0	99.45	1	80	1	60			4
572	576	600	V	25.9	98.42	1	100	0	60			3
573	577	601	A	93.5	97.86	1	60	1	40			1
574	578	602	A	96.8	98.62	1	20	0	20			1
575	579	603	S	21.9	100.74	1	40	0	40			1
576	580	604	Q	86.6	101.91	1	60	0	40			3
577	581	605	A	133.9	103.91	1	40	0	40			1
578	582	606	A	88.7	106.05	0	80	1	40			1
n/a	583	607	L	n/a	n/a	0	100	0	60			4
n/a	584	608	G	n/a	n/a	0	60	1	40			2
n/a	585	609	L	n/a	n/a	0	0	0	0			4

Figura 2





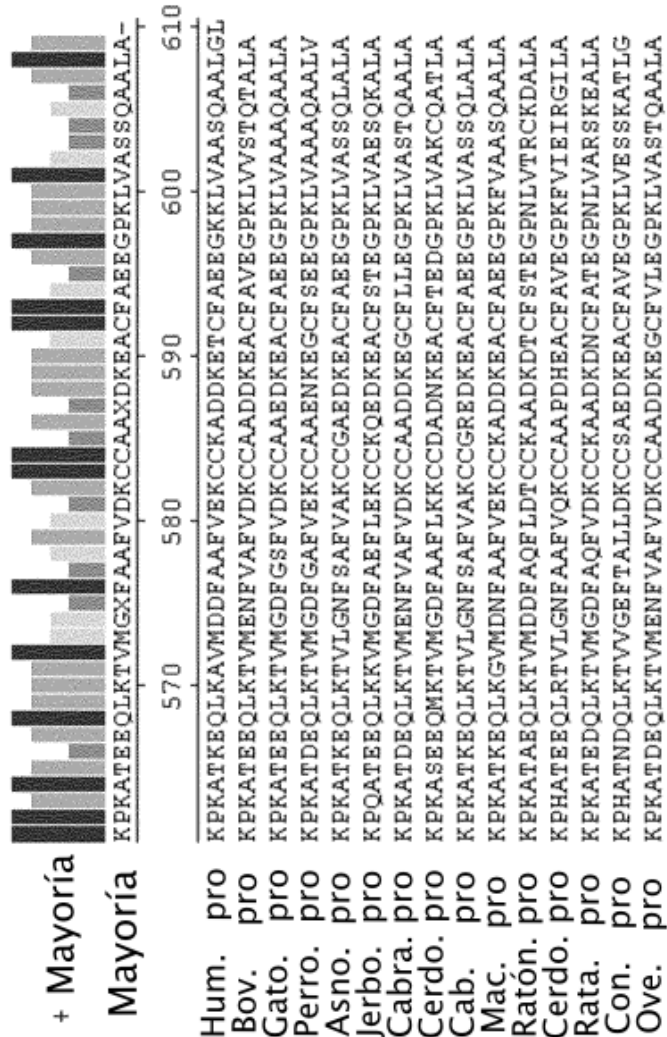
	330	340	350	360	370	380	390	400
+ Mayoría								
Mayoría	DEL PADL PXLAAADFEV	EDKEVKCKNYAEAKD	VFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	LAKEYEAT	LEKCCAEAD	PHACYATVFD
Hum. pro	DEMPADLPSLAADFE	VESKDVCKNYAEAKD	VFLGMFL	LYEYARRHPDY	SVVLLLRRL	LAKTYETT	LEKCCAAAD	PHECYAKVFD
Bov. pro	DAI PENL PPLTADF	AEDKDVCKNYQEA	KDAFLGSF	LYEY SRRHPDY	AVSVLLLRRL	LAKEYEAT	LEECCKAKDD	PHACYSTVFD
Gato. pro	DEL PADL PPLAVDF	VEDKEVKCKNYQEA	KDVFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	LAKEYEAT	LEKCCATDD	PPACYAHVFD
Perro. pro	DEL PGDLPSLAADFE	VEDKEVKCKNYQEA	KDVFLGTF	LYEYARRHPDY	SVSLLLRRL	LAKEYEAT	LEKCCATDD	PPTCYAKVLD
Asno. pro	DDL PSDLPALAAADFE	AEDKEICKHYKDAK	DVFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	IAKTYEAT	LEKCCAEAD	PPACYATVFD
Jerbo. pro	DDMPADL PALTADF	VEDKDVCKNYAEAK	DVFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	LAKKYEAT	LEKCCAEAD	PHACYGHVFD
Cabra. pro	DAV PENL PPLTADF	AEDKEVKCKNYQEA	KDVFLGSF	LYEY SRRHPDY	AVSVLLLRRL	LAKEYEAT	LEDCCKAKED	PHACYATVFD
Cerdo. pro	DEL PTEL PDLAVDF	VEDKEVKCKNFAEAK	DVFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	IAKTYEAT	LEKCCAEAD	PPACYAKVFD
Cab. pro	DDL PSDLPALAAADFE	AEDKEICKHYKDAK	DVFLGTF	LYEYARRHPDY	SVSLLLRRL	IAKTYEAT	LEKCCAEAD	PPACYRTVFD
Mac. pro	DEMPADLPSLAADY	VESKDVCKNYAEAKD	VFLGMFL	LYEYARRHPDY	SVMLLRRL	LAKAYEAT	LEKCCAAAD	PHECYAKVFD
Ratón. pro	DTMPADLPAIAADFE	VEDQEVCKNYAEAKD	VFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	LAKKYEAT	LEKCCAEAN	PPACYGTVLA
Cerdo. pro	DEL PADLNPLEHDF	VEDKEVKCKNYEAK	HVFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	IAKIYEAT	LEDCCKAKED	PPACYATVFD
Rata. pro	DNI PADLPSIAADFE	VEDKEVKCKNYAEAKD	VFLGTF	LYEY SRRHPDY	SVSLLLRRL	LAKKYEAT	LEKCCAEAD	PPACYGTVLA
Con. pro	DET PAGLPAVAEEF	VEDKDVCKNYEAKD	LFLGKF	LYEY SRRHPDY	SVVLLLRRL	LKGAYEAT	LKCCATDD	PHACYAKVLD
Ove. pro	DAV PENL PPLTADF	AEDKEVKCKNYQEA	KDVFLGSF	LYEY SRRHPDY	AVSVLLLRRL	LAKEYEAT	LEDCCKAKED	PHACYATVFD





+ Mayoría
 Mayoría

Hum. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Bov. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Gato. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Perro. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Asno. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Jerbo. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Cabra. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Cerdo. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Cab. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Mac. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Ratón. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Cerdo. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Rata. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Con. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560
Ove. pro	VLNQLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	510	ILNRLCVLHEKT PVSEKVT KCCTE SLVNR	560



+ Mayoría
Mayoría

	90	100	110	120	130	140	150	160
NEVTEFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCXKQEPERNECFLQHKDDN-----PNL-PPL								
P02768.pro	NEVTEFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN-----PNL-PPL	139						
P02769.pro	NELTEFAKTCVADE-SHAGCEKSLHTLFGDELCKVASLRETYGEMADCCCKQEPERNECFLSHKDDN-----PDL-PKL	139						
P49064.pro	NEVTEFAKGCVAQ-SAANCEKSLHELLGDKLCTVASLRETKYEMADCCCKQEPERNECFLQHKDDN-----PGF-GQL	139						
P49822.pro	KEVTEFAKACAAEE-SGANCDKSLHTLFGDKLCTVASLRETKYEMADCCCKQEPDRNECFLQHKDDN-----PGF-PPL	139						
Q5XLE4.pro	NEVTEFAKKADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCCKQEPERNECFLTHKDDH-----PNL-PKL	139						
JC5838.pro	REVTDFASNCADDE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCSLPNGEKYABMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN-----PQL-PPF	140						
ACF10391.1.pro	KELTEFAKTCVADE-SHAGCDKSLHTLFGDELCKVATLRETYGEMADCCCKQEPERNECFLQHKDDN-----PDL-PKL	115						
AAQ20088.pro	NEVTDFAKACVADE-SAQNCGRATATLFGDKVCAI PSLRETYGEMADCCAKQEPDRVECFLQHKDDN-----PNL-PPF	139						
P35747.pro	NEVTEFAKKADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCCKQEPERNECFLTHKDDH-----PNL-PKL	139						
Q28522.pro	NEVTEFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN-----PNL-PPL	131						
P07724.pro	QEVTDFAKTCVADE-SAANCDSKSLHTLFGDKLCAI PNLRENYGEMADCCCKQEPERNECFLQHKDDN-----PSL-PPF	139						
P08835.pro	REVTEFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCAI PSLREHYGEMADCCCKQEPERNECFLQHKDDN-----PDI-PKL	139						
P02770.pro	QEVTDFAKTCVADE-NAENCDSKSLHTLFGDKLCAI PKLRDNYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN-----PNL-PPF	139						
P49065.pro	KEVTDLAKACVADE-SAANCDSKSLHTLFGDKLCAI PSLRDTYGDVADCCCKQEPERNECFLHKKDDK-----PDL-PPF	139						
Q28522.pro	NEVTEFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN-----PNL-PPL	131						
P14639.pro	KELTEFAKTCVADE-SHAGCDKSLHTLFGDELCKVATLRETYGEMADCCCKQEPERNECFLQHKDDN-----PDL-PKL	139						
NP 001127106.pro	NEVTEFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN-----PNL-PPL	139						
P19121.pro	KDVVDLAQKCVANE-DAPECKSLPISII LDEICQVEKLRDSYGMADCCSKADPERNECFLSFKVYQ-----PDFVQPY	143						
P01012.pro	NKVVRFDKLPFGFSDSIEAQCGTSVNV-----HSSLRDILNQI	91						
O73860.pro	NKVVRFDKLPFGFSDSIEAQCGTSVNV-----HSSLRDILNQI	91						
AAC63407.pro	-----	4						
Q91274.pro	NHCLRIVKQCCAEG-AADDCLQTELAARQEQVCTRMSEAKDV PLYGRCCALAGSERHDCFFHAGVAGGEGAMPHALPVT	156						
P21847.pro	-----	1						
AA09358.pro	AKIIEAVDNCCKHP-EEAECKKPAI ELYHDIVCKEEDIDQLYPWTTECCGKAEARTKCFYEHREVR-----VE---EY	138						
ABXL68.pro	NEINDFAKSTGND-KTPECEKPIGTLFYDKLCKADPKVGVNYEWSKCCSKQDPERAQCFRAHRVFE-----HN---PV	140						
NP 001004887.pro	-----CGN-----VCASP-----AGOWAPPSGHDTGIKVYNSLTRRK	65						
AA156646.pro	EDVMQIADLCAKGA-RHANCERSPMTIILDELCKKPENAEKYPFHQECCKKEDPERHKCFVEHKMAN-----HEELTKY	147						
Q03156.pro	AEALAMGVKCCSDT-PPEDCERDVADLFQSAVCSSETLVEK-NDLKMCCEKTAERTHCFVDHKAKI-----PRDLSLK	133						
P18148.pro	AEALAMGVKCCSDT-PPEDCERDVADLFQSAVCSSETLVEK-NDLKMCCEKTAERTHCFVDHKAKI-----PRDLSLK	133						
RAM46104.pro	-----EDPTCLKSLDTIFLDEICHEEGFAAKY-DLAACCAKAEVERKECLLAHKNAI-----PGFIPAF	58						
P83517.pro	-----	27						
S59517.pro	AEIIEIHKKCVASEFSDPPCTKPIGIVFLDVLCHNEEFNKG-INDCCAKADPDRNECVLSHKTS-----TGTISPF	143						
AA108579.pro	NEVTDFAKTCVADE-SAENCDSKSLHTLFGDKLCAI PTLRDSYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDH-----PNL-PPF	139						



+ Mayoría
Mayoría

XRPEPDAM--CTAFQENEKTF LGKYLVEVARRHPYFYAPPELLYAEKYKAVFTECCQAAADKAA--CLLPKLDALREKVLAS	170	180	190	200	210	220	230	240
VRPEVDVM--CTAFHDNEETF LKKYLVEIARRHPYFYAPPELLFFAKRYKAAFTTECCQAAADKAA--CLLPKLDDELREDEGKAS	P02768.pro							
-KPDNPTL--CDEFKADEKFKWGLYVEIARRHPYFYAPPELLYANKYNGVFQECQQAEDKGA--CLLPKIETMREKVLAS	P02769.pro							
VTPEADAM--CTAFHENEQRF LKYLVEIARRHPYFYAPPELLYAEYKGVFTBCEAAADKAA--CLTPKVDALREKVLAS	P49064.pro							
VAPEPDAL--CAAFQDNEQFLGKYLVEIARRHPYFYAPPELLYAAQYKGVFBCEQAAADKAA--CLGPKIEALREKVLAS	P49822.pro							
-KPEPDAQ--CAAFQEDPDKFLGKYLVEVARRHPYFYGPPELLFHAEEYKADFTECCPADDKAG--CLIPKLDALKERILLS	Q5XLE4.pro							
KRAEPDAM--CTAFQENAEAFMGHYLVHVARRRHPYFYGPPELLYLADKYTAVLTTECCAAADKGA--CLTPKLDALKEKALVS	JC5838.pro							
-KPEPDTL--CAEFKADEKFKWGLYVEVARRHPYFYAPPELLYANKYNGVFQECQQAEDKGA--CLLPKIETMREKVLAS	ACF10391.1.pro							
ERPEPEAL--CTAFKENNDRF IGHYLYEVSRRRHPYFYAPPELLYAEKYKNALTECCEAAADKAA--CLTPKLDALKEKALVS	AAQ20088.pro							
-KPEPDAQ--CAAFQEDPDKFLGKYLVEVARRHPYFYGPPELLFHAEEYKADFTECCPADDKLA--CLIPKLDALKERILLS	P35747.pro							
VRPEVDVM--CTAFHDNEATFLKKYLVEVARRHPYFYAPPELLFFAARYKAAFABCCQAAADKAA--CLLPKLDDELREDEGKAS	Q28522.pro							
ERPEAEAM--CTSFKENPTTFMGHYLVHVARRRHPYFYAPPELLYAEQYNEILTQCCAEADKES--CLLPKLDGVKKEKALVS	P07724.pro							
-KPDVAL--CADFQEDQKFWGKYLVEIARRHPYFYAPPELLYAAIYKDFVSECCQAAADKAA--CLLPKIEHLREKVLAS	P08835.pro							
QRPEAEAM--CTSFEQENPTSLFGLHYLVHVARRRHPYFYAPPELLYAEKYNEVLTQCTESDKAA--CLTPKLDVAKKEKALVA	P02770.pro							
ARPEADVL--CKAFHDEKAFKFGHYLVHVARRRHPYFYAPPELLYAAQYKAILTECCEAAADKGA--CLTPKLDALGKSLIS	P49065.pro							
VRPEVDVM--CTAFHDNEATFLKKYLVEVARRHPYFYAPPELLFFAARYKAAFABCCQAAADKAA--CLLPKLDDELREDEGKAS	Q28522.pro							
-KPEPDTL--CAEFKADEKFKWGLYVEVARRHPYFYAPPELLYANKYNGVFQECQQAEDKGA--CLLPKIDAMREKVLAS	P14639.pro							
VRPEVDVM--CTAFHDNEETF LKKYLVEIARRHPYFYAPPELLFFAKRYKAAFTTECCQAAADKAA--CLLPKLDDELREDEGKAS	NP_001127106.pro							
QRPADVI--CQEYQDNRVSLGHLF IYSVARRHPFLYAPAILSFVDFEHALQSCCKESDVGA--CLDTKEIVMREKAKGV	P19121.pro							
TKPN-----DVSFSLASR-----LYAEERY-----	P01012.pro							
TKPN-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	O73860.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	AAAC63407.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	Q91274.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	P21847.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	AAAD09358.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	ABXL68.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	NP_001004887.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	AAAL56646.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	Q03156.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	P21848.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	AAAM46104.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	P83517.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	S59517.pro							
-----DVSFSLASR-----LYAEETY-----	AAAL08579.pro							

+ Mayoría
Mayoría

	250	260	270	280	290	300	310	320
	SAKQRLKASLQKFGGERAFKAWXVARLSQKF PKADF AEVSKLVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							
P02768.pro	SAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRF PKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							294
P02769.pro	SARQRLRCASIQKFGGERALKAWSVARLSQKF PKAEFVETKLVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICDNQDT							293
P49064.pro	SAKERLKASLQKFGGERAFKAWSVARLSQKF PKAEFAEISKLVDTLAKIHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							294
P49822.pro	SAKERFKCASLQKFGGERAFKAWSVARLSQRF PKADF AEISKVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							294
Q5XLE4.pro	SAKERLKCSFQKFGGERAFKAWAVARLSQKF PKADF AEVSKIVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLTKYICEHQDS							293
JC5838.pro	AVRQRLKCSSMKKFGGERAFKAWAVARMSQTF PNADF AEITKLATDLTKVTECCH-GDILLECA-DDRAELAKYICENQAS							295
ACF10391.1.pro	SARQRLRCASIQKFGGERALKAWSVARLSQKF PKADF TDVTKIVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICDHQDT							269
AAQ20088.pro	SAQQLKRCASLQKFGGERAFKAWSVARLSQKF PKAEFAEISTIVTSLTKVTECCH-GDILLECA-DDRQELAKYICENQDS							294
P35747.pro	SAKERLKCSFQNFGERAVKAWSVARLSQKF PKADF AEVSKIVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICEHQDS							293
Q28522.pro	SAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQKF PKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							286
P07724.pro	SVRQRMKCSSMQKFGGERAFKAWAVARLSQTF PNADF AEITKLATDLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRAELAKYICENQAT							294
P08835.pro	AAKQRLKASIQKFGGERAFKAWSLARLSQRF PKADF TEISKIVDTLAKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDT							293
P02770.pro	AVRQRMKCSSMQRFGERAFKAWAVARMSQRF PNADF AEITKLATDVTKINKECCH-GDILLECA-DDRAELAKYICENQAT							294
P49065.pro	AAQERLRASIQKFGDRAYKAWALVRLSQRFPKADF TDISKIVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQAT							294
Q28522.pro	SAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQKF PKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							286
P14639.pro	SARQRLRCASIQKFGGERALKAWSVARLSQKF PKADF TDVTKIVDTLTKVHKECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICDHQDA							293
NP_001127106.pro	SAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRF PKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCH-GDILLECA-DDRADLAKYICENQDS							294
P19121.pro	SVKQXYFCGILKQFGDRVFPARQLIYLSQKYPKAPFSEVSKFVHDSIGVHKECCE-GDMVECM-DDMARMSNLCSQXDV							298
P01012.pro	-----PILPEYL-----							119
O73860.pro	-----PILPEYL-----							119
AAC63407.pro	-----							4
Q91274.pro	SHKSQNLCKALSKLGRKPFEDRIIVRFTQRAPOPFELIQKLAHRFEVLAECCELGHSDRCLVEERYTVDDLECLEQSF							316
P21847.pro	-----CRIIREFPDIVEKGLTLVQVSQKFGKAGFEDVKVTEEIVHLMEDDCK-GDAVECM-MERMEATDHICEAKDK							72
AA09358.pro	EDKHQKCRVLKEFPERSQALTLVQVSQRFGNAKYDDVEKVTIEIAHLNEDDCK-GDAVECM-IERMEATEHICLAKEK							293
ABXL68.pro	EDKQKHF CWIVNVPYPERVIKALNLARVSHRYPKDFPKLAHKFTEETHFKDCCCH-GDMFECM-TERLESEHTCQHKDE							294
NP_001004887.pro	-----ILLKVFEGIDTVVMVVTDIDDKIIKRA-KELNISVALARTY-----EQDF							150
AA156646.pro	CALQKHNCYILQDFEKERALTAYKAVQASQKFLASFENVQIIVPDTVHLHQTCG-GDMMACM-LERMKLTAKICEKKDE							303
Q03156.pro	VAEKLSLCIVHKKYGRVVKAKKLVQYSQKMPQASFQEMAGMVDKIVATVAPCCS-GDMVTCM-KERKTLVDEVCADES							288
P21848.pro	VAEKLSLCIVHKKYGRVVKAKKLVQYSQKMPQASFQEMGGMVDKIVATVAPCCS-GDMVTCM-KERKTLVDEVCADES							288
AA46104.pro	NGIQENTCGILKKGERTLKATKLVQMSQKF PKADFATINKLVEDITHMTECCR-GDTLECL-RDREALTEYTCSHKDA							213
P83517.pro	-----							36
S59517.pro	MEEQEYTCYNLKKYGDKLYALKFIETHEKFNKLETTITGIAEFVVHIEICM-GDSVDVL-VDRAALSQYVCEHKDA							298
AA108579.pro	SVNQRLKCSSLQRFQGERAFKAWAVARMSQKF PKADF AEITKLATDLTKLTECCH-GDILLECA-DDRAELAKYICENQAS							294

	490	500	510	520	530	540	550	560
	SRXLGKVGXKCKKLP	EAE				RLPCAED		
+ Mayoría								
Mayoría								
P02768.pro	SRNLGKVGSKCKKHP	EAK				RMPCAED		475
P02769.pro	SRSLGKVGTRCCTKP	ESE				RMPCTED		474
P49064.pro	SRSLGKVGSKCCTHP	EAE				RLSCAED		475
P49822.pro	SRKLGKVGTKCKKHP	ESE				RMSCAED		475
Q5XLE4.pro	GRTLKVGSRCKKLP	ESE				RLPCSEN		474
JC5838.pro	ARSLGRVGTGCCALP	EKK				RLPCVED		476
ACF10391.1.pro	SRSLGKVGTKCCAKP	ESE				RMPCTED		450
AAQ20088.pro	ARKLGSVGTCCSLP	ETE				RLSCTEN		475
P35747.pro	GRTLKVGSRCKKLP	ESE				RLPCSEN		474
Q28522.pro	SRNLGKVGAKCKKLP	EAK				RMPCAED		467
P07724.pro	ARNLGRVGTCKCTLP	EDQ				RLPCVED		475
P08835.pro	ARKLGLVSRCKKRP	EEE				RLSCAED		474
P02770.pro	ARNLGRVGTCKCTLP	EAO				RLPCVED		475
P49065.pro	SRSLGKVGSKCKKHP	EAE				RLPCVED		475
Q28522.pro	SRNLGKVGAKCKKLP	EAK				RMPCAED		467
P14639.pro	SRSLGKVGTKCCAKP	ESE				RMPCTED		474
NP_001127106.pro	SRNLGKVGSKCKKHP	EAK				RMPCAED		475
P19121.pro	GKKMTTIGTKCCQLG	EDR				RMACSEG		479
P01012.pro						SWVESQTN		155
O73860.pro						SWVESQTN		155
AAC63407.pro								27
Q91274.pro	SHHFALITRKCCHRNKSGCFLEERYALHDAICRDEAWLSGLAEVSRCCAMDGRARILCFDELSHLNASVEERPELCST							553
P21847.pro	AGRMTKVAVYCCGLA	ENK				QQTCAEE		251
AAD09358.pro	TGRMAKIGVYCCGLP	DNK				KQPCAAE		472
ABXL68.pro	AHQMADIGEHCCAVP	ENQ				RMPCAEG		475
NP_001004887.pro						WASPMGKGRP		277
AAI56646.pro	TKSMTTIGEKCCHRP	EOPY				GW-HIECSTIASSVFGKHLDIHTG		484
Q03156.pro	SETVHDVLHACCKDE	EDQ				QMTCSeg		474
P21848.pro	SETVHDVLHACCKDE	PGHF				VLPCAEE		474
AAM46104.pro	TR-ITKAASRCCEVS	QGHF				VLPCAEE		474
P83517.pro		VDK				KLPCTEG		393
S59517.pro								94
AAI08579.pro	TEKVGKVAEKCCNLD	SNH				QVSCALE		479
	ARNLGKVGSKCCVLP	EAO				RLPCVED		475

	570	580	590	600	610	620	630	640
+ Mayoría				YLSXV				
Mayoría								
P02768.pro				YLSV				480
P02769.pro				YLSLI				479
P49064.pro				YLSV				480
P49822.pro				FLSV				480
Q5XLE4.pro				HLALA				479
JC5838.pro				YLSAI				481
ACF10391.1.pro				YLSLI				455
AAQ20088.pro				YALI				480
P35747.pro				HLALA				479
Q28522.pro				YLSV				472
P07724.pro				YLSAI				480
P08835.pro				YLSV				479
P02770.pro				YLSAI				480
P49065.pro				YLSV				480
Q28522.pro				YLSV				472
P14639.pro				YLSLI				479
NP_001127106.pro				YLSV				480
P19121.pro				YLSIV				484
P01012.pro			GIIRNV			LQSSVD		168
O73860.pro			GMIKNV			LQSSVD		168
AAQ63407.pro								27
Q91274.pro			PKAAMGQMRDLISKYLAMVQRCDDAMSDFKMDVEVELRAHRLCLDAHQLGEEKL					633
P21847.pro				KLDIL				256
AAQ09358.pro				KLDIL				477
ABXL68.pro				DLTIL				480
NP_001004887.pro			GIDLAFPHHENEIAQ	CEAYHQSTQW		GNVFLHTGHLKGN		321
AAI56646.pro				GLGIV				489
Q03156.pro				KLTD				479
P21848.pro				KLTD				479
AAQ46104.pro				YDFV				398
P83517.pro								94
S59517.pro				NTDKV				484
AAI08579.pro				YISAI				480

+ **Mayoría**

Mayoría

	650	660	670	680	690	700	710	720
P02768.pro								480
P02769.pro								479
P49064.pro								480
P49822.pro								480
Q5XLE4.pro								479
JC5838.pro								481
ACF10391.1.pro								455
AAQ20088.pro								480
P35747.pro								479
Q28522.pro								472
P07724.pro								480
P08835.pro								479
P02770.pro								480
P49065.pro								480
Q28522.pro								472
P14639.pro								479
NP_001127106.pro								480
P19121.pro								484
P01012.pro								180
O73860.pro								180
AAQ63407.pro								42
Q91274.pro								713
P21847.pro								256
AAQ09358.pro								477
ABXL68.pro								480
NP_001004887.pro								355
AAQ56646.pro								489
Q03156.pro								479
P21848.pro								479
AAQ46104.pro								398
P83517.pro								94
S59517.pro								484
AAQ08579.pro								480

+ Mayoría

Mayoría

	730	740	750	760	770	780	790	800
							LNRL	
F02768.pro							LNQL	484
F02769.pro							LNRL	483
F49064.pro							LNRL	484
F49822.pro							LNRL	484
Q5XLE4.pro							LNRL	483
JC5838.pro							LNRV	485
ACF10391.1.pro							LNRL	459
AAQ20088.pro							LNRL	484
F35747.pro							LNRL	483
Q28522.pro							LNRL	476
F07724.pro							LNRV	484
F08835.pro							LNRL	483
F02770.pro							LNRL	484
F49065.pro							LNRL	484
Q28522.pro							LNRL	476
F14639.pro							LNRL	483
NP_001127106.pro							LNQL	484
F19121.pro							IHDT	488
F01012.pro							RVTEQESKPVQMMY	213
O73860.pro							RVTEQESKPVQMMY	213
AAC63407.pro								42
Q91274.pro							VCFHSLRSTQASTLASTHVAVGKDDSLPGHVEECQAFASGNHSLTDQVMFEFARRHPRASVSQVESLARLYSELARACCA	793
F21847.pro							LGEM	260
AA09358.pro							LGEM	481
ABXL68.pro							IGKM	484
NP_001004887.pro							GSMHDAVNTLHTISSFVDDAKAYM	384
AA156646.pro							FGQI	493
Q03156.pro							IDAT	483
F21848.pro							IDAT	483
AA046104.pro							LGQI	402
F83517.pro								94
S59517.pro							MGSI	488
AA108579.pro							LNRV	484

+ Mayoría

Mayoría

P02768.pro	810	820	830	840	850	860	870	880	484
P02769.pro									483
P49064.pro									484
P49822.pro									484
Q5XLE4.pro									483
JC5838.pro									485
ACF10391.1.pro									459
AAQ20088.pro									484
P35747.pro									483
Q28522.pro									476
P07724.pro									484
P08835.pro									483
P02770.pro									484
P49065.pro									484
Q28522.pro									476
P14639.pro									483
NP_001127106.pro									484
P19121.pro									488
P01012.pro		QIGL							233
O73860.pro		QIGL							233
AAQ63407.pro									42
Q91274.pro									873
P21847.pro									260
AAQ09358.pro									481
ABXL68.pro									484
NP_001004887.pro									394
AAQ56646.pro									493
Q03156.pro									483
P21848.pro									483
AAQ46104.pro									402
P83517.pro									94
S59517.pro									488

	890	900	910	920	930	940	950	960
+ Mayoría	CVLHEKTPVSEKV							
Mayoría			TKCCTESLVN					RRPCFSALEV
P02768.pro	CVLHEKTPVSDRV		TKCCTESLVN					RRPCFSALEV 517
P02769.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSALTP 516
P49064.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSALQV 517
P49822.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSGLEV 517
Q5XLE4.pro	CVLHEKTPVSEKI		TKCCTDSLAE					RRPCFSALEL 516
JC5838.pro	CLLHEKTPVSEQV		TKCCSGSLVE					RRPCFSALPV 518
ACF10391.1.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSDLTL 492
AAQ20088.pro	CILHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSALHV 517
P35747.pro	CVLHEKTPVSEKI		TKCCTDSLAE					RRPCFSALEL 516
Q28522.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSALEL 509
P07724.pro	CLLHEKTPVSEHV		TKCCSGSLVE					RRPCFSALTV 517
P08835.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSALTP 516
P02770.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCSGSLVE					RRPCFSALTV 517
P49065.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCSESLVD					RRPCFSALGP 517
Q28522.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSALEL 509
P14639.pro	CVLHEKTPVSEKV		TKCCTESLVN					RRPCFSDLTL 516
NP_001127106.pro	CVLHEKTPVSDRV		TKCCTESLVN					RRPCFSALEV 517
P19121.pro	CRKQETTPINDNV		SQCCSQLYAN					RRPCFTAMGV 521
P01012.pro								233
O73860.pro								233
AAC63407.pro								ANEEDRADCLVSLRG 57
Q91274.pro	GNNVGLMDHRHALHEAICSTPDGSLPQSVAAACNTSNTSTTTTSTTTTSTTTTSTTTTAAEIRDSCFDNLQA							953
P21847.pro	CEKEKHTFVNDNV		RHCCVDSYAN					RRKCFDQLQ 293
AAD09358.pro	CEREKKTFINNV		HHCCVDSYAN					RRPCFTKLG 514
ABXL68.pro	CERQKKTFINNV		AHCCTDSYG					MRSCTALGP 517
NP_001004887.pro								394
AA156646.pro	CMKQKTPVNEKV		AQCCSHSLSS					QTPCFSAALPV 526
Q03156.pro	DDYDPSSINPHI		AHCCNQSYSM					RRHCILAIQP 516
P21848.pro	DDYDPSSINPHI		AHCCNQSYSM					RRHCILAIQP 516
AAM46104.pro	QRHQRSSINNV		QCCSNYSAL					RSLCITSLGG 435
P83517.pro								101
S59517.pro	CKYHNKHFINDQI		CHCCNSSFIS					RWECISNLGP 521
AA108579.pro	CVLHEKTPVSEQV		TKCCTGSWE					RRPCFSALPV 517

	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
+ Mayoría								
Mayoría								
P02768.pro								518
P02769.pro								517
P49064.pro								518
P49822.pro								518
Q5XLE4.pro								517
JC5838.pro								519
ACF10391.1.pro								493
AAQ20088.pro								518
P35747.pro								517
Q28522.pro								510
P07724.pro								518
P08835.pro								517
P02770.pro								518
P49065.pro								518
Q28522.pro								510
P14639.pro								517
NP_001127106.pro								518
P19121.pro								522
P01012.pro								245
O73860.pro								245
AAC63407.pro								137
Q91274.pro								1033
F21847.pro								294
Y								515
Y								518
ABXL68.pro								433
NP_001004887.pro								527
AAI56646.pro								517
Q03156.pro								517
F21848.pro								436
AAI46104.pro								101
P83517.pro								522
S59517.pro								518
AAI08579.pro								518

	1050	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120
		ETYVPKE					FNAETTFHADIC	
+ Mayoría								
Mayoría								
P02768.pro		ETYVPKE					FNAETTFHADIC	538
P02769.pro		ETYVPKA					FDEKLFTFHADIC	537
P49064.pro		ETYVPKE					FSAETTFHADLC	538
P49822.pro		ETYVPKE					FNAETTFHADLC	538
Q5XLE4.pro		EGYIPKE					FKAETTFHADIC	537
JC5838.pro		ETYVPKE					FKAETTFHANIC	539
ACF10391.1.pro		ETYVPKP					FDGESFTFHADIC	513
AAQ20088.pro		ETYVPKP					FHADSFTFHADIC	538
P35747.pro		EGYVPKE					FKAETTFHADIC	537
Q28522.pro		EAYVPKA					FNAETTFHADMC	530
P07724.pro		ETYVPKE					FKAETTFHSDIC	538
P08835.pro		ETYKPK					FVEGTFTFHADLC	537
P02770.pro		ETYVPKE					FKAETTFHSDIC	538
P49065.pro		ETYVPKE					FNAETTFHADIC	538
Q28522.pro		EAYVPKA					FNAETTFHADMC	530
P14639.pro		ETYVPKP					FDEKFFTFHADIC	537
NP_001127106.pro		ETYVPKE					FNAETTFHADIC	538
P19121.pro		TKYVPPP					FNPDMFSFDEKLC	542
P01012.pro		LPDEVSGLEQLESIIINFEKLT				EWTS		271
O73860.pro		LPDEVSGLEQLETTISFEKMT				EWISS		271
AAC63407.pro		VSAAYADAQQLCSSLQALGAQKFLGRMVLVFSQAPNATFDQISKLSHRFHSYAQTCCGEGWSPGCFABQRHLIHDEMCH						217
Q91274.pro		IRHAYAEVQHICGSLHSRGEETFIQREVTLLSQKAPNASFEKVSQLARHFLSLAKKCCAPDHAAGCFLEEPYAIHDEVCR						1113
P21847.pro		PNYVAPK					WDESKLHFNE DLC	314
AAD09358.pro		ANYEAPV					WDESKLHFTADMC	535
ABXL68.pro		EDYVPPP					VTDDTFHFDDKIC	538
NP_001004887.pro		LKAVSKESNSPR				SSVYGAMISYIEQFLEI		466
AAI56646.pro		ETYVPPP					LSVASFNFNDELIC	547
Q03156.pro		TEFTPPE					LDASSFHMGPELC	537
P21848.pro		TEFTPPE					LDASSFHMGPELC	537
RAM46104.pro		EKFVPIE					FSADLFTFHEDLC	456
P83517.pro								101
S59517.pro		LSFVPPT					FNPKTMNDNPEKLC	542
AAI08579.pro		ETYVPKE					FKAETTFHADIC	538

+ Mayoría
Mayoría

	1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200
P02768.pro								TLSEKERQIKKQ TALVELVKKHKPKATKEQ 567
P02769.pro								TLPDTEKQIKKQ TALVELLKKHKPKATEEQ 566
P49064.pro								TLPEAEKQIKKQ SALVELLKKHKPKATEEQ 567
P49822.pro								TLPEAEKQVKKQ TALVELLKKHKPKATDEQ 567
Q5XLE4.pro								TLPEDEKQIKKQ SALAEVLVKKHKPKATKEQ 566
JC5838.pro								TLPEKEKQMEKQ TALAEVLVKKHKPKATEEQ 568
ACF10391.1.pro								TLPDTEKQIKKQ TALVELLKKHKPKATDEQ 542
AAQ20088.pro								TLPEKEKQVKKQ TALVELVKKHKPKASEEQ 567
P35747.pro								TLPEKEKQIKKQ SALAEVLVKKHKPKATKEQ 566
Q28522.pro								TLSEKEKQVKKQ TALVELVKKHKPKATKEQ 559
P07724.pro								TLPEKEKQIKKQ TALAEVLVKKHKPKATAEQ 567
P08835.pro								TLPEDEKQIKKQ TALVELLKKHKPHATEEQ 566
P02770.pro								TLPDKEKQIKKQ TALAEVLVKKHKPKATEDQ 567
P49065.pro								TLPEKEKQVKKQ TALVELVKKHKPKATNDQ 567
Q28522.pro								TLSEKEKQVKKQ TALVELVKKHKPKATKEQ 559
P14639.pro								TLPDTEKQIKKQ TALVELLKKHKPKATDEQ 566
NP_001127106.pro								TLSEKERQIKKQ TALVELVKKHKPKATKEQ 567
P19121.pro								SAPAEEREVGGMKLLINLIKRRQPMTEEQ 571
P01012.pro								-----NVMERRIKVYLP R M K M E E K Y N 293
O73860.pro								-----NIMERRIKVYLP R M K M E E K Y N 293
AAC63407.pro								DMEALSRV PAMKCCQ I S G S A R A K C M E T I P R --G K P V L D V A L A R F D G H K V C Q M N A E A P Q E L L G R M L Y E F G R R H T D A S V G E 295
Q91274.pro								DDEVVDQVGGLATCCRMSTRAKCLAQLPRDLGRHG-NRETPEFDELKICELRRDNPAVLMKILLYEFGRHSDSAVSE 1192
P21847.pro								-----KGS E D D Q I K K K L E V L V E Y M K M K P D C G P E K 343
AA09358.pro								-----KGSADDQKTKLVLLVEFLKMKPTCGKEK 564
ABXL68.pro								TANDKEKQHIKQFLVKLIKIVSPKLEKNH 567
NP_001004887.pro								-----LGISLSQ-----NQVAEDRHSVLFNVVEE----- 492
AA156646.pro								TTSEPEQQSKQVFLIRLMKQYPHMTDEQ 576
Q03156.pro								TKDSKDLLSGKKLLYGVRHKTTITEDH 566
P21848.pro								TKDSKDLLSGKKLLYGVRHKTTITEDH 566
AAM46104.pro								-----HAAQDKLQERKQMI V N L V K K H K P N I T K E Q 485
P83517.pro								101
S59517.pro								-----STSEDTVQSKSKGLLSELVKS K P N I S E E E 571
AA108579.pro								-----SLPEKEKQMKQAALVELVKKHKPKATGPQ 567

	1210	1220	1230	1240	1250	1260	1270	1280
+ Mayoría								
Mayoría	LKTVMGNFAAFVVDKCCXAEDKEA-----							
P02768.pro	LKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET-----							
P02769.pro	LKTVMENFVAFVDKCCAAADKEA-----							
P49064.pro	LKTVMGDFGSFVDKCCAAEDKEA-----							
P49822.pro	LKTVMGDFGAFVEKCCAAENKEG-----							
Q5XLE4.pro	LKTVLGNFSAFVAKCCGAEDKEA-----							
JC5838.pro	LKKVMGDFAEFLEKCKQEDKEA-----							
ACF10391.1.pro	LKTVMENFVAFVDKCCAAADKEG-----							
AAQ20088.pro	MKTVMGDFAAFLLKCCDADNKEA-----							
P35747.pro	LKTVLGNFSAFVAKCCGREDKEA-----							
Q28522.pro	LKGVMDNFAAFVEKCKKADDKA-----							
P07724.pro	LKTVMDDFAQFLDTCCKAADKDT-----							
P08835.pro	LRTVLGNFAAFVQKCCAAPDHEA-----							
P02770.pro	LKTVMGDFAQFVDKCCKAADKDN-----							
P49065.pro	LKTVVGEFTALLDKCCSAEDKEA-----							
Q28522.pro	LKGVMDNFAAFVEKCKKADDKA-----							
P14639.pro	LKTVMENFVAFVDKCCAAADKEG-----							
NP_001127106.pro	LKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET-----							
P19121.pro	IKTIADGFTAMVDKCKQSDINT-----							
P01012.pro	LTSVL-----MAMGITDVFSSSANLSSAESLKSQA 327							
O73860.pro	LTSVL-----MAMGITDLFSSSANLSSAGSLKSQA 327							
AAC63407.pro	AKKIIITEMDGVKDCAGNHSEEQACLVSKKAAISVKIGEEQAKSHKICEQLQKDGHEVFEEMVLIDFAIEARTLSLDKV 375							
Q91274.pro	VKNFAQKF SHSVTECCTSEKTHE--CFVEKRAAIEKVIKDEBAKGNLTCQRLKAQGVHEFQVLILNFARAACKSLPMEKV 1270							
P21847.pro	LKEVVEAFRKIDIKCCAAEDHQ-----							
AAD09358.pro	LTEVIESFRKTVVECCAENQQA-----							
ABXL68.pro	IDEWLLEFLKMVQKCTADEHQ-----							
NP_001004887.pro	----MISFRSKVRNYALAADESPNA-----IGQBEKQ-----							
AAI56646.pro	LKTGVVNFVPMVDQCKADNHE-----							
Q03156.pro	LKTISTKYHTMKDKCAEDQAA-----							
P21848.pro	LKTISTKYHTMKEKCAEDQAA-----							
ARM46104.pro	LQTVFGGFTKNTKCKCAEDHEA-----							
P83517.pro	-----							
S59517.pro	LAATILTFREIQKLCCBAENKKE-----							
AAI08579.pro	LRTVLGEFTAFLDKCKKADDKA-----							

	1290	1300	1310	1320	1330	1340	1350	1360
		CFAEEGPKLVASS						
+ Mayoría								
Mayoría								
P02768.pro			CFAEEGKLVAAAS					603
P02769.pro			CFAVEGPKLVST					602
P49064.pro			CFAEEGPKLVAAA					603
P49822.pro			CFSEEGPKLVAAA					603
Q5XLE4.pro			CFAEEGPKLVASS					602
JC5838.pro			CFSTEGPKLVAES					604
ACF10391.1.pro			CFLEGGPKLVAST					578
AAQ20088.pro			CFTEGGPKLVAKC					603
P35747.pro			CFAEEGPKLVASS					602
Q28522.pro			CFAEEGPKFVAAS					595
P07724.pro			CFSTEGPNLVTRC					603
P08835.pro			CFAVEGPKFVIEI					602
P02770.pro			CFATEGPNLVARS					603
P49065.pro			CFAVEGPKLVESS					603
Q28522.pro			CFAEEGPKFVAAS					595
P14639.pro			CFVLEGGPKLVAST					602
NP_001127106.pro			CFAEEGKLVAAAS					603
P19121.pro			CFGEEGANLIVQS					607
P01012.pro						HAHAHAEINEAGREVVGSAAE		348
O73860.pro						HAAYAEIYEAGREVIGSAAE		348
AAC63407.pro						VEFAHRYTHAIRCCAQAQAHCLLDENLHFSLLCSDLSYLAARDGYRKCCLRLAPSEAVSCHVEHERAHEAERATEEVENH		455
Q91274.pro						VEFAHRTFTRIAAGQCCETHDTHCLIDESFHLHAEMCGDGHYIMAHPGVANCCCKSDVSEQGTCKIHEDVHHAE		1341
P21847.pro								379
AAD09358.pro								600
ABXL68.pro								603
NP_001004887.pro								525
AAJ56646.pro								612
Q03156.pro								602
P21848.pro								602
AAM46104.pro								521
P83517.pro								101
S59517.pro								607
AAJ08579.pro								603

+ Mayoría

Mayoría

	1370	1380	1390	1400	1410	1420	1430	1440	
P02768.pro					QAALA				609
P02769.pro					QAALGL				607
P49064.pro					QTALA				608
P49822.pro					QAALA				608
Q5XLE4.pro					QAALV				607
JC5838.pro					QLALA				609
ACF10391.1.pro					QKALA				583
AAQ20088.pro					QAALA				608
P35747.pro					QATLA				607
Q28522.pro					QLALA				600
P07724.pro					QAALA				608
P08835.pro					KDALA				607
P02770.pro					RGILA				608
P49065.pro					KEALA				608
Q28522.pro					KATLG				600
P14639.pro					QAALA				607
NP_001127106.pro					QAALA				609
P19121.pro					QAALGL				613
P01012.pro					RATLGI				383
O73860.pro					AAVSEFRADHPF				383
AAC63407.pro					ATVSEFRVDHPF				535
Q91274.pro					ATVSEFRVDHPF				1408
P21847.pro					GKERVEHQAKVEAVEAVEAF				382
AAQ09358.pro					AEAEAF				603
ABXL68.pro					AEAEAF				608
NP_001004887.pro					AEAEAF				556
AAI56646.pro					AEAEAF				621
Q03156.pro					AEAEAF				608
P21848.pro					AEAEAF				608
AAW46104.pro					AEAEAF				526
P83517.pro					AEAEAF				101
S59517.pro					AEAEAF				610
AAI08579.pro					AEAEAF				608

+ **Mayoría**

Mayoría

 1450

P02768.pro	-----GA	609
P02769.pro	-----VSP	607
P49064.pro	-----ISP	608
P49822.pro	KSECFSEIKEMKNSP	608
Q5XLE4.pro	KTACFTEKLEAIK-SS	607
JC5838.pro		609
ACF10391.1.pro		583
ARQ20088.pro		608
F35747.pro		607
Q28522.pro		600
P07724.pro		608
F08835.pro		607
P02770.pro		608
P49065.pro		608
Q28522.pro		600
F14639.pro		607
NP_001127106.pro		609
P19121.pro	-----GA	615
P01012.pro	-----VSP	386
O73860.pro	-----ISP	386
AAC63407.pro	KSECFSEIKEMKNSP	551
Q91274.pro	KTACFTEKLEAIK-SS	1423
F21847.pro		382
AAD09358.pro		603
ABXL68.pro		608
NP_001004887.pro	RGNTSTWELLDKKEET	572
AAI56646.pro	-----VEVSV	626
Q03156.pro		608
F21848.pro		608
ARM46104.pro	-----A	527
P83517.pro		101
S59517.pro	-----PTTE	614
AAI08579.pro		608

Figura 5A

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Polimorf.	Cambio fenotípico	Mutación conservada vs. cisteína
n/a	1	25	D	n/a	n/a	0	40	0	40	D25V	0	3
n/a	585	609	L	n/a	n/a	0	0	0	0			4
n/a	2	26	A	n/a	n/a	0	40	0	20			1
558	562	586	D	217.4	95.72	0	40	0	40			3
360	364	388	A	164.5	80.24	0	40	0	20			1
500	504	528	A	108.1	98.55	0	60	0	40			1
501	505	529	E	105.8	93.84	0	60	0	40	E529K	0	4
75	79	103	T	103.8	67.13	0	40	0	20			1
82	86	110	E	99.4	88.78	0	60	0	20			4

Figura 5B

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Polimorf.	Cambio fenotípico	Mutación conservada vs. cisteína
125	129	153	D	211.6	43.69	1	40	0	20			3
545	549	573	D	146.4	84.68	1	40	0	20			3
577	581	605	A	133.9	103.91	1	40	0	40			1
117	121	145	D	130.4	46.02	1	60	0	40			3
78	82	106	E	130.1	96.77	1	60	0	40	E106K	0	4
266	270	294	S	114.1	43.53	1	40	0	20			1
393	397	421	Q	101.6	58.94	1	40	0	20			3
574	578	602	A	96.8	98.62	1	20	0	20			1

Figura 5C

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición en secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Polimorf.	Cambio fenotípico	Mutación conservada vs. cisteína
n/a	585	609	L	n/a	n/a	0	0	0	0			4
n/a	2	26	A	n/a	n/a	0	40	0	20			1
n/a	1	25	D	n/a	n/a	0	40	0	40	D25V	0	3
n/a	584	608	G	n/a	n/a	0	60	1	40			2
n/a	4	28	K	n/a	n/a	0	80	1	40			4
297	301	325	D	218.8	64.56	0	60	1	40			3
558	562	586	D	217.4	95.72	0	40	0	40			3
296	300	324	A	180.6	63.75	0	40	1	40			1
361	365	389	D	168.1	84.23	0	80	1	40	D389H, D389V	1	3
360	364	388	A	164.5	80.24	0	40	0	20			1
54	58	82	S	164.1	53.12	0	80	0	40			1
494	498	522	V	149.4	74.11	0	80	2	60			3
492	496	520	T	148.8	70.07	0	60	2	40			1
109	113	137	P	141.8	51.5	0	80	0	40			3
112	116	140	V	139.5	51.82	0	40	0	0			3
508	512	536	D	139.1	61.05	0	80	0	40			3
300	304	328	S	134.4	57.01	0	20	0	20			1
310	314	338	D	131.9	65.86	0	40	0	40	D338G, D338V	1	3
299	303	327	P	119.4	59.59	0	80	1	60			3
534	538	562	K	115.5	96.73	0	80	2	40			4
56	60	84	E	110.3	53.87	0	40	0	20	E84K	0	4

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Polimorf.	Cambio fenotípico	Mutación conservada vs. cisteína
500	504	528	A	108.1	98.55	0	60	0	40			1
435	439	463	K	106.3	52.99	0	40	1	20			4
76	80	104	L	106.2	79.71	0	80	0	40			4
501	505	529	E	105.8	93.84	0	60	0	40	E529K	0	4
75	79	103	T	103.8	67.13	0	40	0	20			1
111	115	139	L	100.0	54.21	0	60	0	20			4
367	371	395	A	100.0	63.92	0	60	1	40			1
82	86	110	E	99.4	88.78	0	60	0	20			4
497	501	525	E	99.4	95.25	0	60	2	40	E525K	0	4
537	541	565	K	98.3	96.84	0	20	0	20	K565E	1	4
560	564	588	K	97.1	100.08	0	80	0	40			4
439	443	467	A	93.5	55.15	0	40	1	20			1
556	560	584	K	92.5	81.9	0	40	1	20	K584E	0	4
502	506	530	T	92.5	88	0	60	1	40			1
309	313	337	K	92.0	64.18	0	80	0	40	K337N	1	4
578	582	606	A	88.7	106.05	0	80	1	40			1
561	565	589	E	87.8	98.18	0	80	0	40	E589K	0	4
294	298	322	M	84.5	53.49	0	20	1	20			3
499	503	527	N	81.2	99.86	0	40	1	20			2

Figura 5D

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Polimorf.	Cambio fenotípico	Mutación conservada vs. cisteína
265	269	293	D	229.0	45.46	1	60	1	60	D293G	1	3
125	129	153	D	211.6	43.69	1	40	0	20			3
467	471	495	D	205.8	45.67	1	80	1	40			3
371	375	399	D	152.2	50.78	1	80	0	40	D399N, D399H	0	3
51	55	79	A	148.4	43.59	1	80	0	40			1
545	549	573	D	146.4	84.68	1	40	0	20			3
577	581	605	A	133.9	103.91	1	40	0	40			1
304	308	332	D	131.9	47.92	1	80	0	40			3
486	490	514	A	130.6	32.03	1	80	2	40			1
117	121	145	D	130.4	46.02	1	60	0	40			3
78	82	106	E	130.1	96.77	1	60	0	40	E106K	0	4
474	478	502	T	125.0	35	1	60	1	40			1
320	324	348	D	120.3	58.69	1	80	1	60			3
375	379	403	P	119.4	32.33	1	80	1	40			3
316	320	344	A	119.4	64	1	40	0	20	A344T	1	1
121	125	149	T	115.0	35.32	1	40	1	20			1
266	270	294	S	114.1	43.53	1	40	0	20			1
79	83	107	T	113.8	98.21	1	60	1	20			1
100	104	128	Q	111.0	32.1	1	40	2	20			3
225	229	253	A	109.7	36.47	1	60	1	40			1
364	368	392	E	109.6	77.34	1	60	1	20			4
314	318	342	N	107.1	59.91	1	80	1	40	N342K	0	2
538	542	566	E	105.8	96.98	1	80	1	60			4

Posición en 1A	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor -B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Polimorf.	Cambio fenotípico	Mutación conservada vs. cisteína
72	76	100	T	105.0	32.05	1	40	1	20			1
393	397	421	Q	101.6	58.94	1	40	0	20			3
60	40	64	E	101.3	31.14	1	40	1	40			4
321	325	349	V	100.0	50.37	1	80	1	40			3
386	390	414	Q	96.9	52.9	1	40	1	20			3
574	578	602	A	96.8	98.62	1	20	0	20			1
475	479	503	E	94.2	40.83	1	60	1	20	E503K	0	4
546	550	574	D	94.2	80.18	1	40	1	20	D574G, D574A	0	3
382	386	410	N	94.1	42.58	1	80	1	40			2
573	577	601	A	93.5	97.86	1	60	1	40			1
44	48	72	E	91.0	31.25	1	60	1	40			4
570	574	598	K	90.8	99.51	1	80	0	40	K598N	0	4
317	321	345	E	88.5	67.18	1	80	1	40	E345K	0	4
118	122	146	V	87.7	43.96	1	40	0	20	V146E	0	3
279	283	307	L	87.6	36.51	1	40	1	20			4
34	38	62	D	87.0	34.73	1	60	1	40			3
576	580	604	Q	86.6	101.91	1	60	0	40			3
562	566	590	T	86.3	94.83	1	40	1	40			1
48	52	76	T	86.3	35.9	1	40	1	20			1
351	355	379	T	86.3	40.3	1	80	1	40			1
392	396	420	E	85.9	62.51	1	80	0	40	E420K	0	4
262	266	290	E	83.3	41.21	1	80	1	40			4
569	573	597	K	81.6	98.2	1	80	1	40	K597E	0	4
542	546	570	A	80.6	91.51	1	60	1	40			1

Figura 6A

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (todo Sps. V)	Información disulfido	Cambio fenotípico (polimorf.)	Modificación de puntuación
71	75	99	C	20.7	24.72	1	100	0	80	pairs with C91		high
87	91	115	C	32.6	33.58	0	100	1	60	pairs with C75		high
120	124	148	C	3.3	34.94	1	100	0	60	pairs with C169		high
164	168	192	C	0.0	31.68	1	100	1	60	pairs with C177		high
165	169	193	C	14.1	32.95	0	100	1	60	pairs with C124		high
312	316	340	C	23.9	62.19	1	100	1	80	pairs with C361		high
356	360	384	C	2.2	60.95	1	100	1	80	pairs with C369		high
357	361	385	C	42.4	66.33	0	100	2	80	pairs with C316		high
554	558	582	C	1.1	76.28	1	100	1	80	pairs with C567		high
563	567	591	C	25.0	92.56	1	100	1	80	pairs with C558		high

Figura 6B

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (todo Sps. V)	Información disulfido	Cambio fenotípico (polimorf.)	Modificación de puntuación
71	75	99	C	20.7	24.72	1	100	0	80	pairs with C91		high
87	91	115	C	32.6	33.58	0	100	1	60	pairs with C75		high
120	124	148	C	3.3	34.94	1	100	0	60	pairs with C169		high
165	169	193	C	14.1	32.95	0	100	1	60	pairs with C124		high
173	177	201	C	30.4	28.29	1	100	1	80	pairs with C168	(C201F) 2	medium
312	316	340	C	23.9	62.19	1	100	1	80	pairs with C361		high
357	361	385	C	42.4	66.33	0	100	2	80	pairs with C316		high
365	369	393	C	48.9	69.93	1	100	1	80	pairs with C360		medium
554	558	582	C	1.1	76.28	1	100	1	80	pairs with C567		high
563	567	591	C	25.0	92.56	1	100	1	80	pairs with C558		high

Figura 7

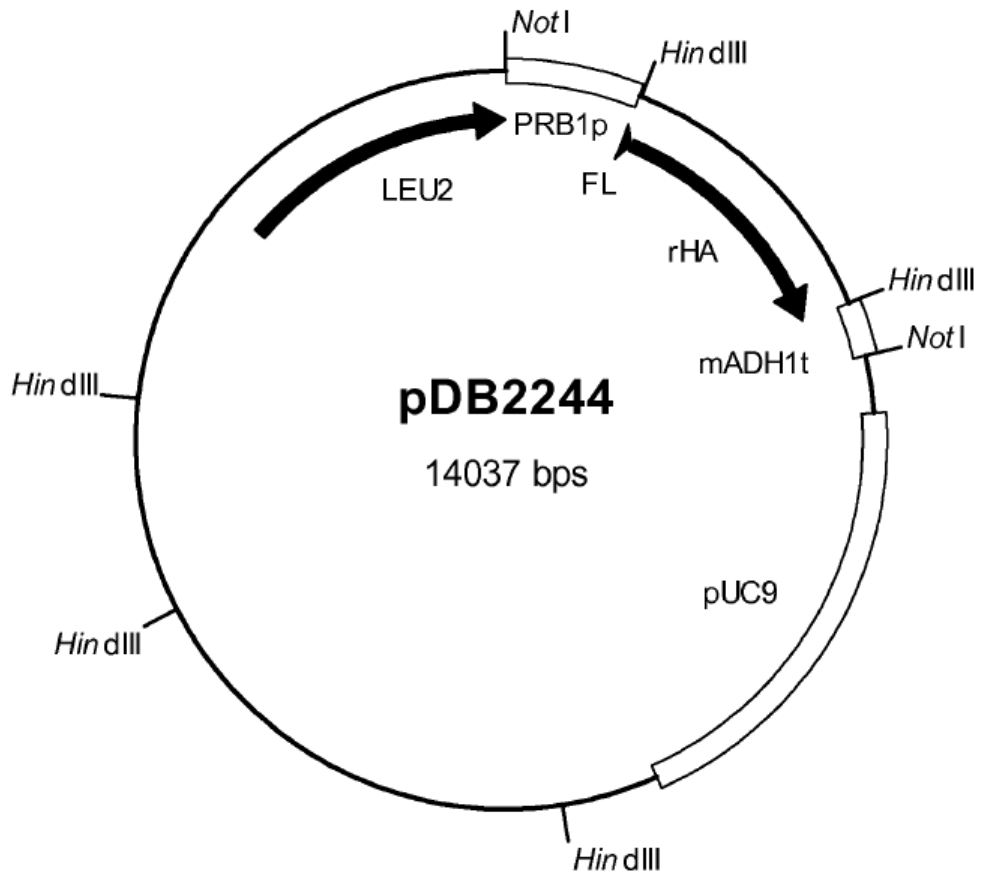


Figura 8

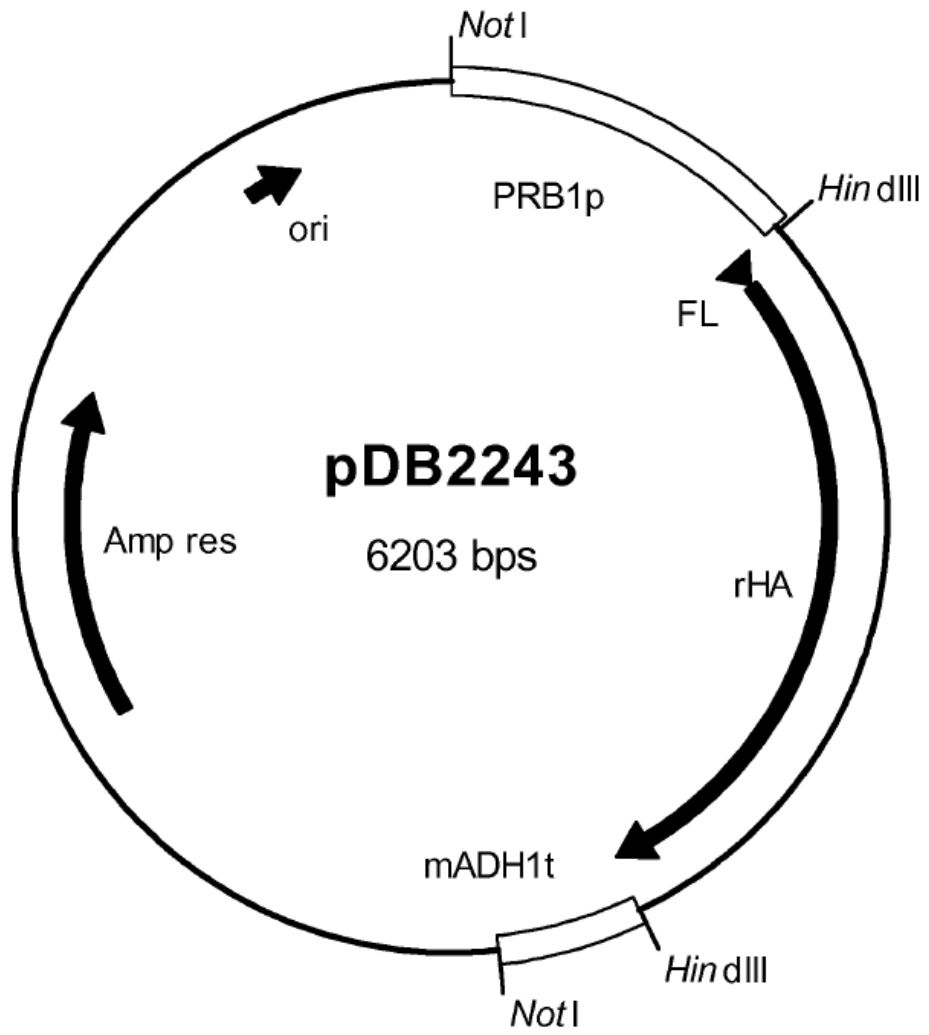


Figura 9

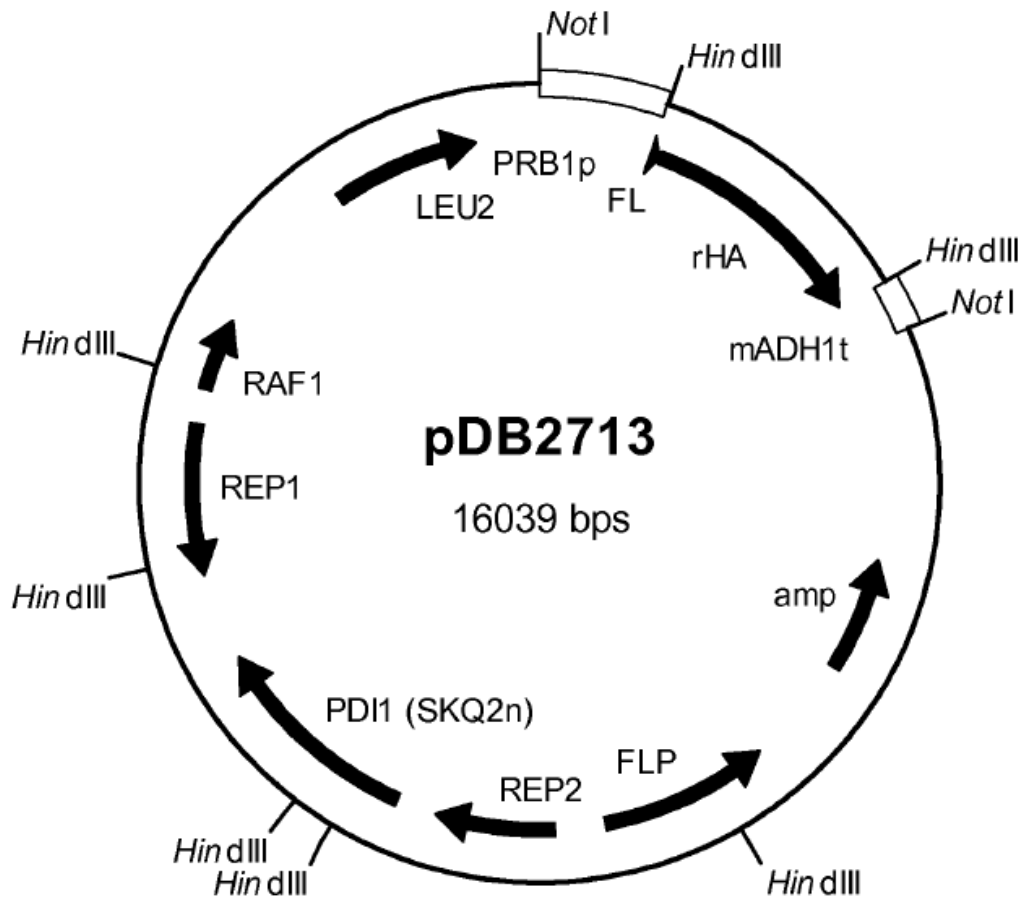


Figura 10

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Cambio fenotípico (polimorf.)	Grupo de selección	Grupo de proximidad
n/a	1	25	D	n/a	n/a	0	40	0	40	(D25V) 0	1	E
n/a	2	26	A	n/a	n/a	0	40	0	20		1	E
71	75	99	C	20.7	24.72	1	100	0	80		3	K
75	79	103	T	103.8	67.13	0	40	0	20		1	A
78	82	106	E	130.1	96.77	1	60	0	40	(E106K) 0	2	F
82	86	110	E	99.4	88.78	0	60	0	20		1	A
87	91	115	C	32.6	33.58	0	100	1	60		3	K
117	121	145	D	130.4	46.02	1	60	0	40		2	H
120	124	148	C	3.3	34.94	1	100	0	60		3	L
125	129	153	D	211.6	43.69	1	40	0	20		2	H
165	169	193	C	14.1	32.95	0	100	1	60		3	L
173	177	201	C	30.4	28.29	1	100	1	80	(C201F) 2	3	L
266	270	294	S	114.1	43.53	1	40	0	20		2	G
312	316	340	C	23.9	62.19	1	100	1	80		3	M
357	361	385	C	42.4	66.33	0	100	2	80		3	M
360	364	388	A	164.5	80.24	0	40	0	20		1	C
365	369	393	C	48.9	69.93	1	100	1	80		3	M
393	397	421	Q	101.6	58.94	1	40	0	20		2	J
500	504	528	A	108.1	98.55	0	60	0	40		1	D
501	505	529	E	105.8	93.84	0	60	0	40	(E529K) 0	1	D
545	549	573	D	146.4	84.68	1	40	0	20		2	J

Posición en 1A06	Posición en HSA madura	Posición con secuencia líder	Amino-ácido	% SASA	Factor-B	SS	Align 1 (Mamm. W)	Adj. 100% (Align 1)	Align 2 (Var. Sps. V)	Cambio fenotípico (polimorf.)	Grupo de selección	Grupo de proximidad
554	558	582	C	1.1	76.28	1	100	1	80		3	N
558	562	586	D	217.4	95.72	0	40	0	40		1	B
563	567	591	C	25	92.56	1	100	1	80		3	N
574	578	602	A	96.8	98.62	1	20	0	20		2	I
577	581	605	A	133.9	103.91	1	40	0	40		2	I
n/a	585	609	L	n/a	n/a	0	0	0	0		1	D

Figura 11

Construtto de referencia	Mutación	Nombre plásmido	Transformante	Número de stock de levadura	Posiciones modificadas en la SEQ ID n.º 2	Codón original	Residuo original	Codón mutante	Residuo mutante	N.º de SEQ ID de ADN	N.º de SEQ ID de proteína
TA1	A2C	pDB4029	B	9012	4-6	GCA	A	TGT	C	5	50
TA2	D1C	pDB4030	B	9013	1-3	GAT	D	TGT	C	6	51
TA3	C75S	pDB4031	A	9014	223-225	TGC	C	TCT	S	7	52
TA4	T79C	pDB4032	D	9015	235-237	ACT	T	TGT	C	8	53
TA5	E82C	pDB4033	D	9016	244-246	GAA	E	TGT	C	9	54
TA6	E86C	pDB4034	A	9017	256-258	GAA	E	TGT	C	10	55
TA7	C124S	pDB4035	D	9018	370-372	TGC	C	TCT	S	11	56
TA8	C168S	pDB4036	B	9019	502-504	TGT	C	TCT	S	12	57
TA9	C169S	pDB4037	B	9020	505-507	TGC	C	TCT	S	13	58
TA10	C91S	pDB4038	B	9021	271-273	TGT	C	TCT	S	14	59
TA11	D121C	pDB4039	B	9022	361-363	GAT	D	TGT	C	15	60

Construc ^{to} de referencia	Mutación	Nombre plásmido	Transformante	Número de stock de levadura	Posición modificada en SEQ ID n.º 2	Codón original	Residuo original	Codón mutante	Residuo mutante	N.º de SEQ ID de ADN	N.º de SEQ ID proteína
TA12	D129C	pDB4040	C	9023	385-387	GAC	D	TGT	C	16	61
TA13	S270C	pDB4041	D	9024	808-810	TCG	S	TGT	C	17	62
TA14	C316A	pDB4042	B	9025	946-948	TGC	C	GCT	A	18	63
TA16	C360S	pDB4044	B	9026	1078-1080	TGC	C	TCT	S	19	64
TA17	C361A	pDB4045	A	9027	1081-1083	TGT	C	GCT	A	20	65
TA18	C361S	pDB4046	C	9028	1081-1083	TGT	C	TCT	S	21	66
TA19	A364C	pDB4047	D	9029	1090-1092	GCT	A	TGT	C	22	67
TA20	Q397C	pDB4048	A	9030	1189-1191	CAG	Q	TGT	C	23	68
TA21	A504C	pDB4049	A	9031	1510-1512	GCT	A	TGT	C	24	69
TA22	A578C	pDB4050	D	9032	1732-1734	GCA	A	TGT	C	25	70
TA23	A581C	pDB4051	C	9033	1741-1743	GCT	A	TGT	C	26	71
TA24	C558S	pDB4052	D	9034	1672-1674	TGC	C	TCT	S	27	72
TA25	C567S	pDB4053	B	9035	1699-1701	TGC	C	TCT	S	28	73
TA26	D549C	pDB4054	B	9036	1645-1647	GAT	D	TGT	C	29	74
TA27	D562C	pDB4055	B	9037	1684-1686	GAC	D	TGT	C	30	75
TA28	E505C	pDB4056	D	9038	1513-1515	GAA	E	TGT	C	31	76
TA29	L585C	pDB4057	B	9039	1753-1755	TTA	L	TGT	C	32	77
TA30	N/A	pDB3927	A	9040	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	1
TA31	N/A	pDB3964	D	9041	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	4	1
TA32	N/A	pDB2244	B	9042	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	1

Figura 12

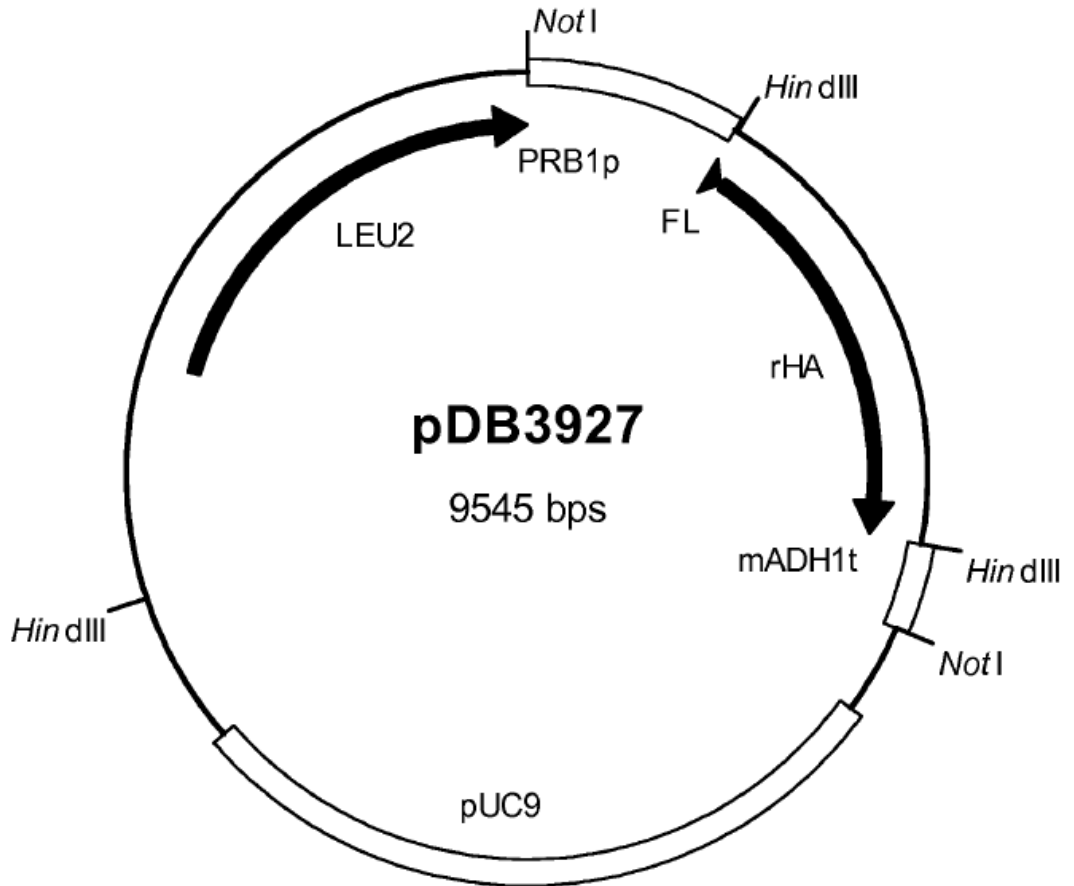


Figura 13

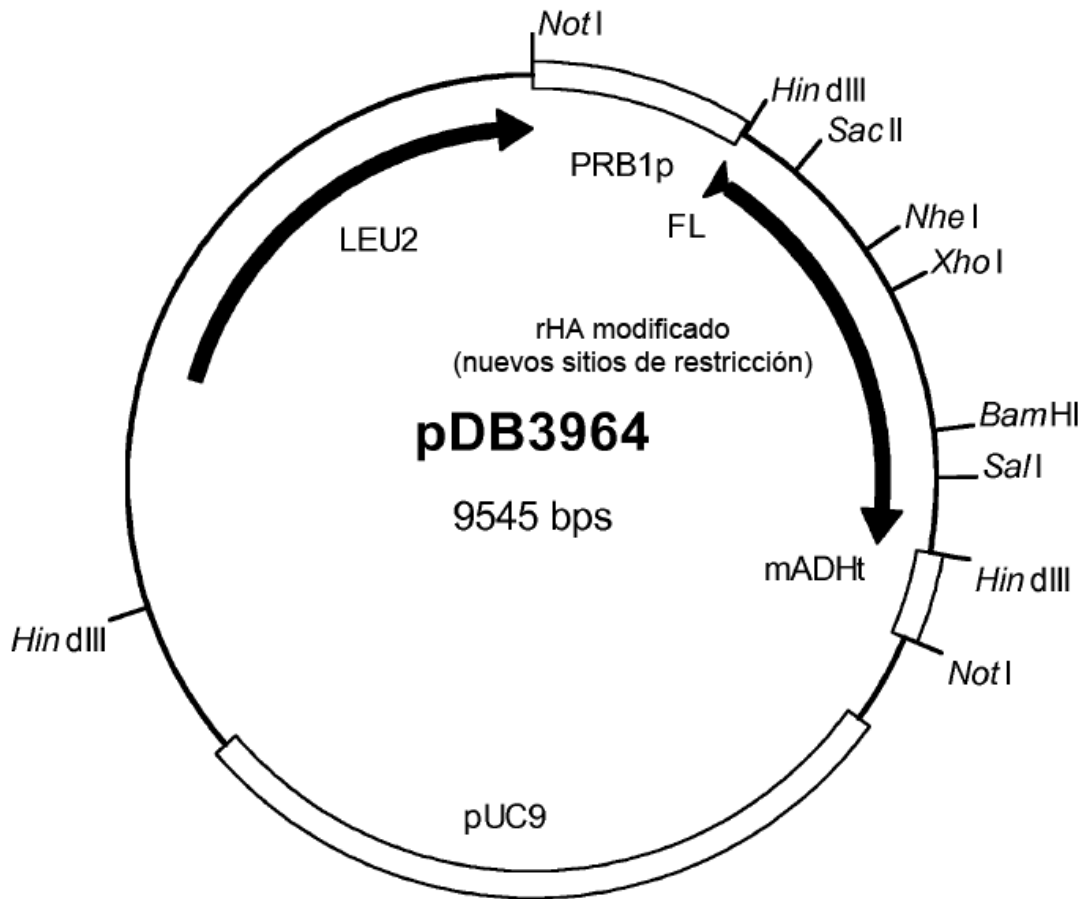


Figura 14

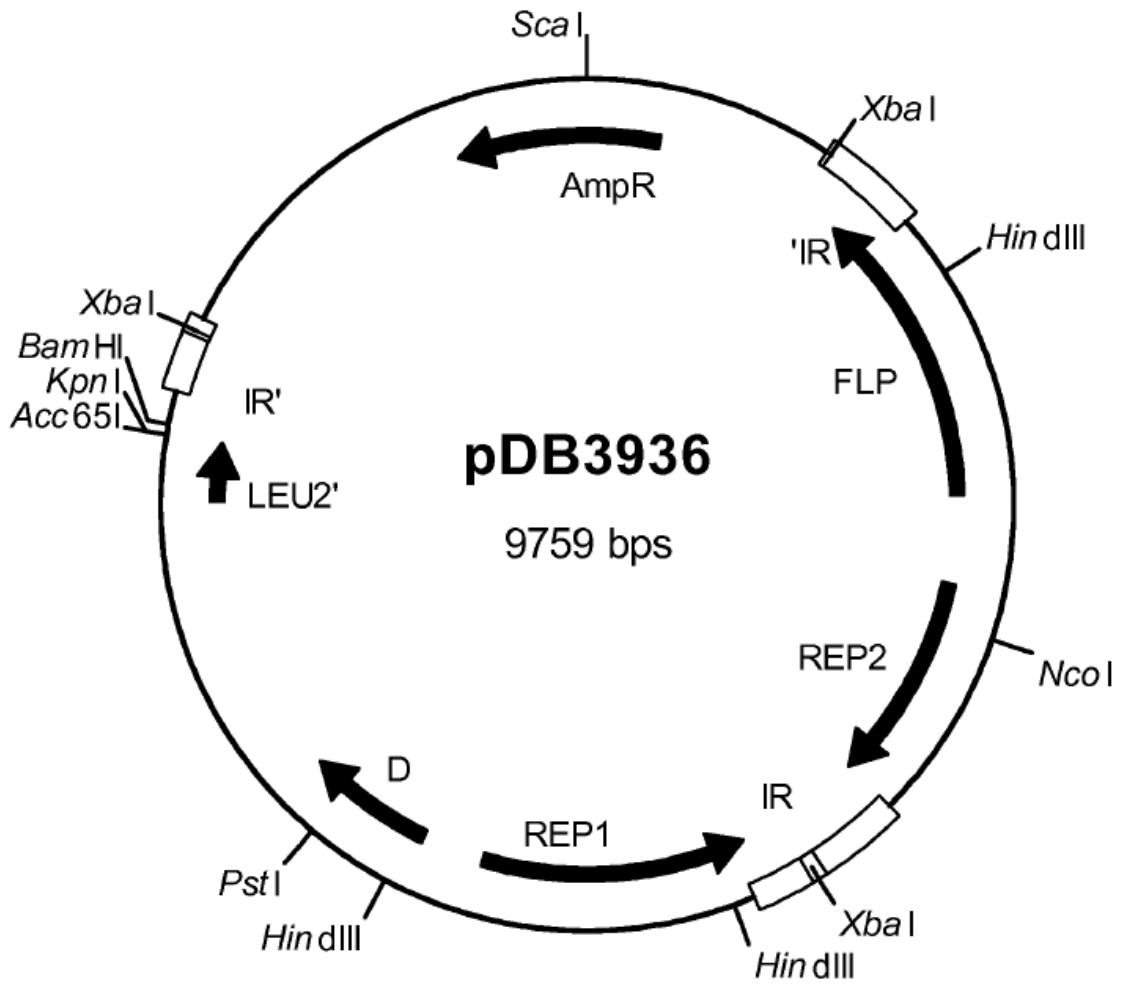


Figura 15

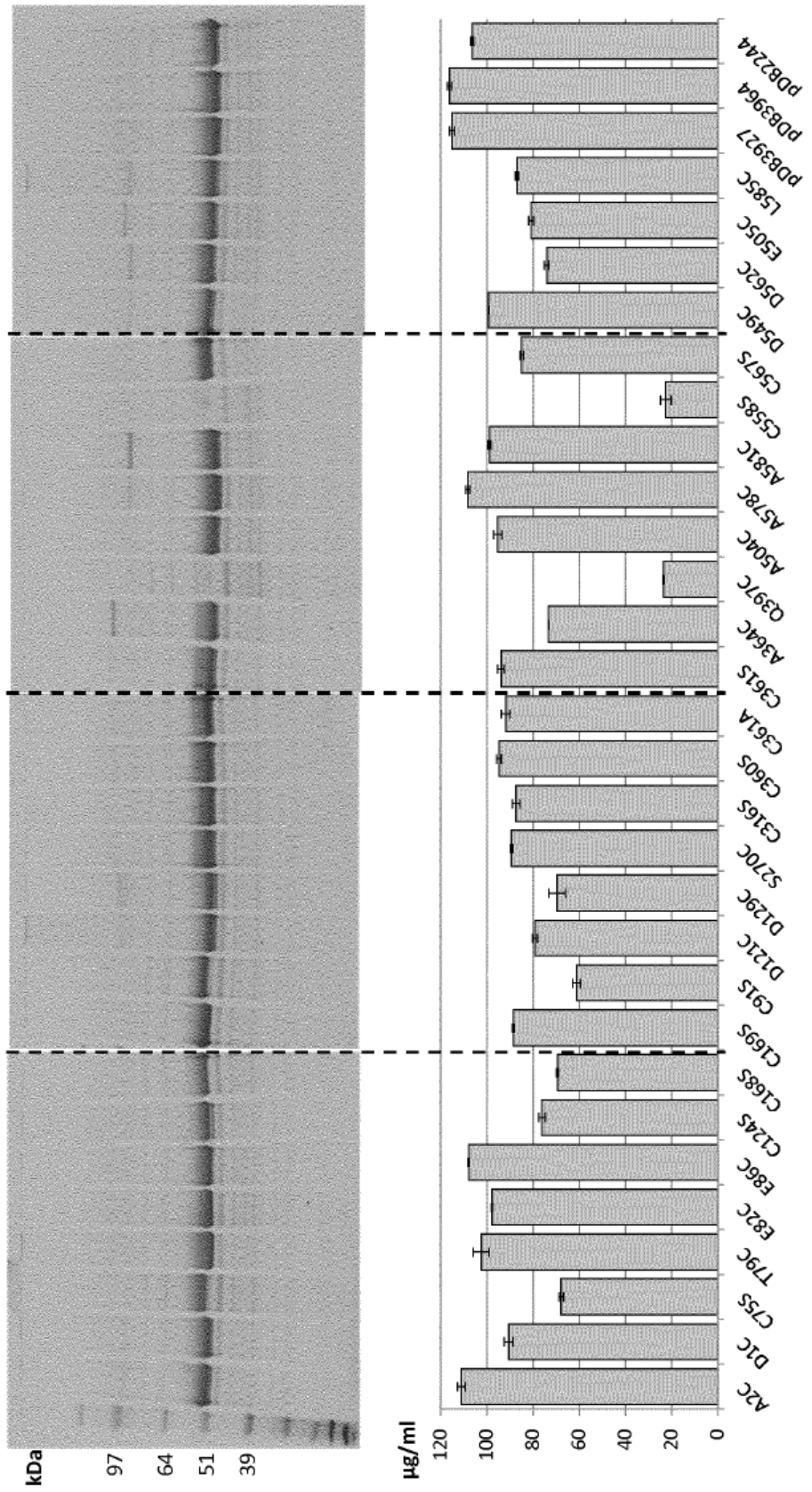


Figura 16

Construc ^{to} de referencia	Mutación (es)	Número plásmido	Transformante	Número de stock de levadura	Combinación de mutantes únicos	Mutaciones adicionales (es)				N.º de SEQ ID de ADN	N.º de SEQ ID de proteína
						Mutaciones adicionales	Posiciones modificadas en la SEQ ID n.º	Codón original	Codón (es) mutante (es)		
TA33	A2C, L585C	pDB4058	C	9116	SEQ ID 5 SEQ ID 33	N/A	N/A	N/A	N/A	33	78
TA34	A2C, A504C	pDB4059	B	9117	SEQ ID 5 SEQ ID 25	N/A	N/A	N/A	N/A	34	79
TA35	A2C, A364C, D562C	pDB4060	B	9118	SEQ ID 5 SEQ ID 23 SEQ ID 31	N/A	N/A	N/A	N/A	35	80
TA36	A2C, C34A, A364C, D562C	pDB4061	A	9119	SEQ ID 5 SEQ ID 23 SEQ ID 31	C34A	100-102	TGT	GCT	36	81
TA38	A2C, A364C, D562C, L585C	pDB4062	C	9130	SEQ ID 5 SEQ ID 23 SEQ ID 31 SEQ ID 33	N/A	N/A	N/A	N/A	37	82
TA39	C34A, A504C, E505C	pDB4063	C	9120	SEQ ID 25 SEQ ID 32	C34A	100-102	TGT	GCT	38	83
TA41	S270C, A581C	pDB4064	A	9121	SEQ ID 17 SEQ ID 27	N/A	N/A	N/A	N/A	39	84
TA43	D129C, S270C, A581C	pDB4065	A	9122	SEQ ID 16 SEQ ID 17 SEQ ID 27	N/A	N/A	N/A	N/A	40	85
TA46	C169S, C316A	pDB4066	A	9123	SEQ ID 13 SEQ ID 18	N/A	N/A	N/A	N/A	41	86
TA47	D129C, C360S, L585C	pDB4067	B	9124	SEQ ID 16 SEQ ID 20	N/A	N/A	N/A	N/A	42	87

Construc ^{to} de referencia	Mutación (es)	Número de plásmido	Transformante	Número de stock de levadura	Combinación de mutantes únicos	Mutación (es) adicionales				N.º de SEQ ID de ADN	N.º de SEQ ID de proteína	
						Mutaciones adicionales	Posiciones modificadas en la SEQ ID n.º 2	Codón original	Codón (es) mutante (es)			
					SEQ ID 33							
TA51	A2C, rHA-Cys	pDB4068	A	9125	SEQ ID 5	-Cys	Adición antes de 1756	N/A	TGT	43	88	
TA57	A2C, G584_L585insC	pDB4069	C	9126	SEQ ID 5	G584_L585insC	Adición antes de 1753	N/A	TGT	44	89	
TA60	A2C, C316del	pDB4070	A	9127	SEQ ID 5	C316del	946-948 (delección)	TGC	N/A	45	90	
TA63	H39C, C253P	pDB4071	A	9128	N/A	H39C, C253P	115-117, 757-759	CAT, TGT	TGT, CCA	46	91	
TA64	C177F	pDB4072	C	9129	N/A	C177F	529-531	TGC	TTT	47	92	
TA65	Cys-rHA-Ala-Cys	4073	D	9131	N/A	Cys-and -Ala-Cys	Adiciones antes de 1 y 1756	N/A	TGT, GCTTGT	48	93	

Figura 18

Proteína	Construc ^{to} de referencia	SEQ ID N.º	Fermentación de levadura (g/L sobrenadante)	Intensidad de color después del tratamiento DTNB
Control negativo (transferrina)	N/A	N/A	N/A	-
(rHA, albúmina humana Recombumin®)	N/A	50	N/A	+
rHA (A2C, L585C)	TA33	80	2.8	++++
rHA (A2C, A364C, D562C)	TA35	82	1.1	++++
rHA (A2C, A364C, D562C, L585C)	TA38	84	1.3	++++
rHA (D129C, C360S, L585C)	TA47	89	1.6	++++
A2C, rHA-Cys	TA51	90	2.9	++++

Figura 19

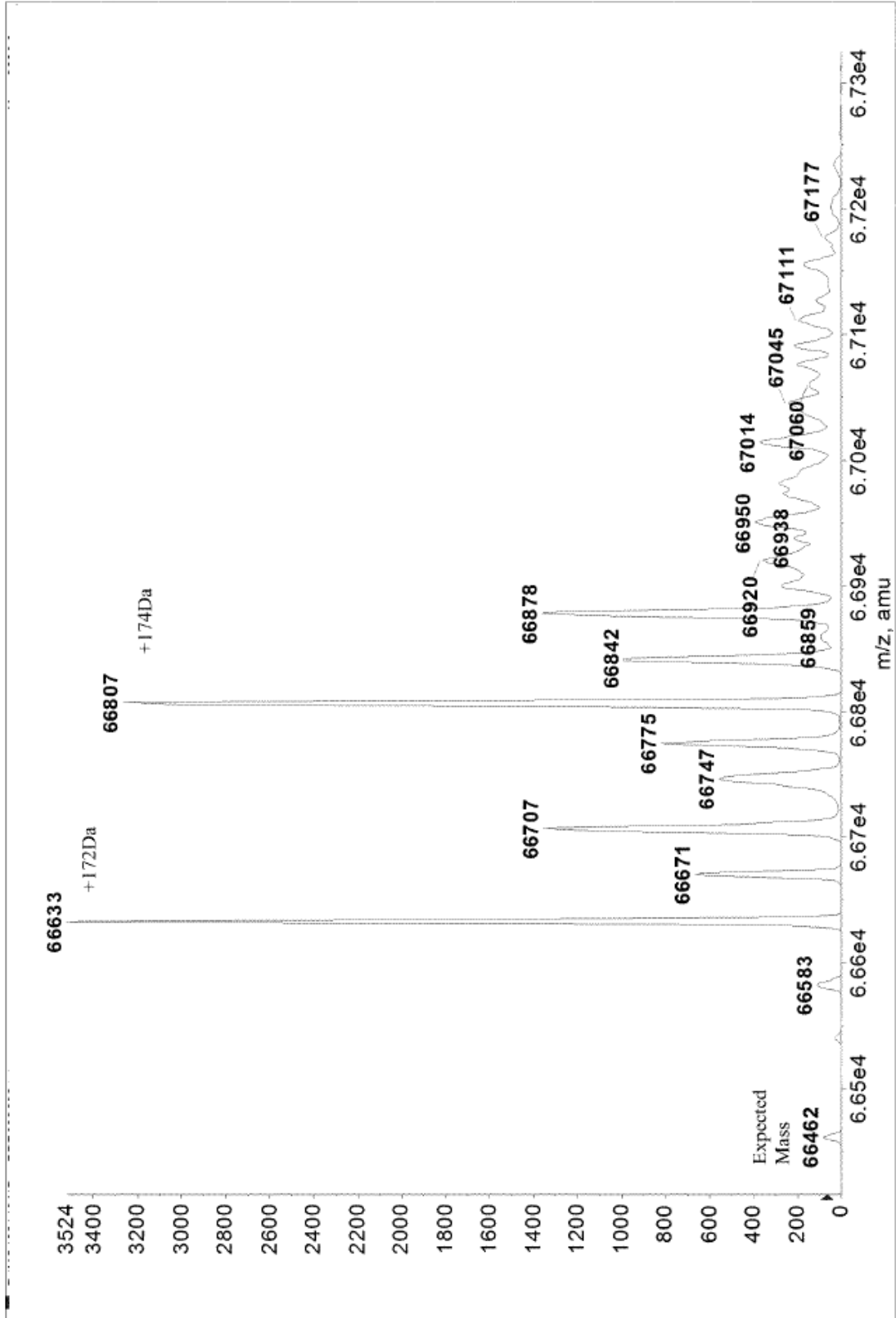


Figura 20

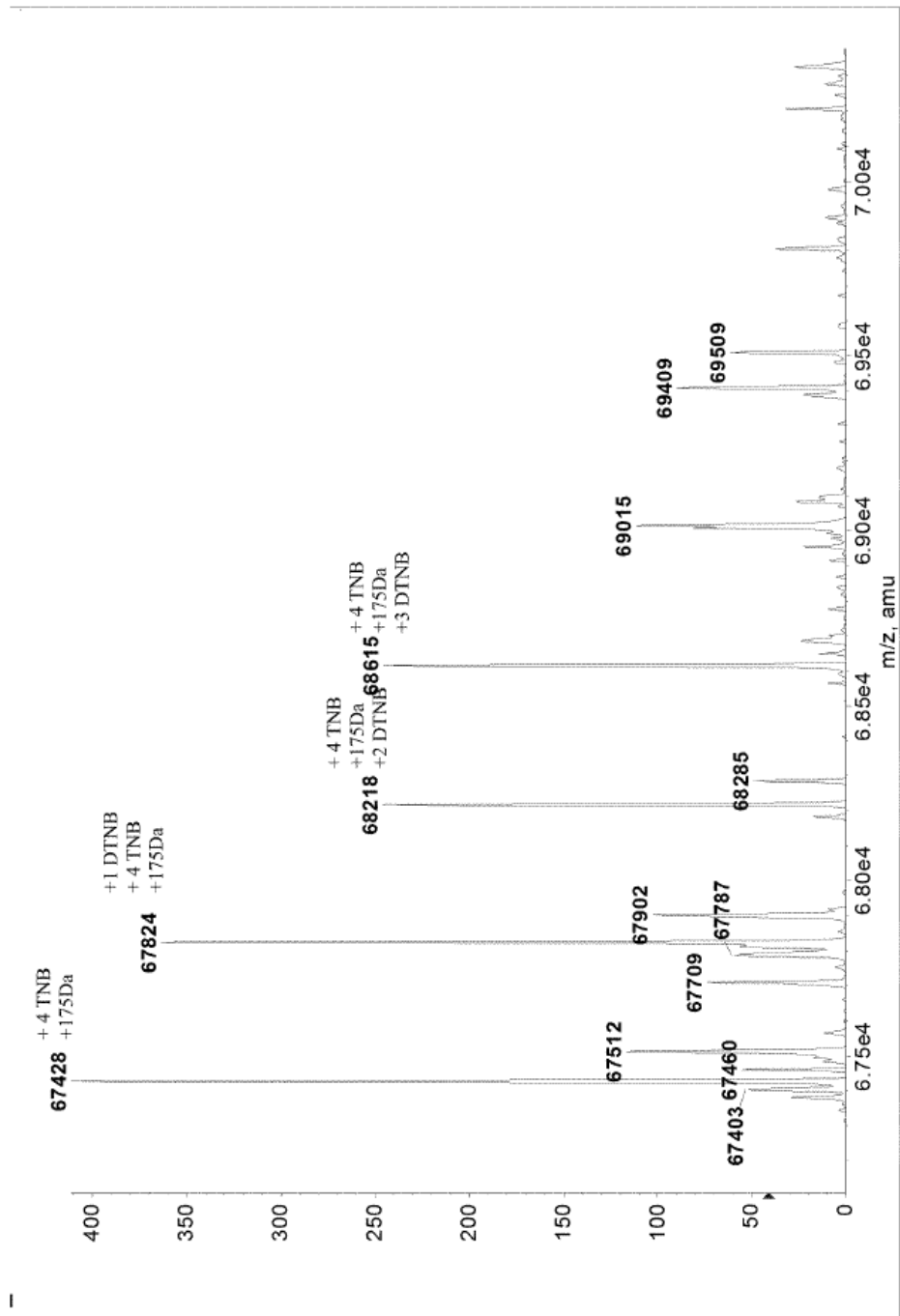


Figura 21

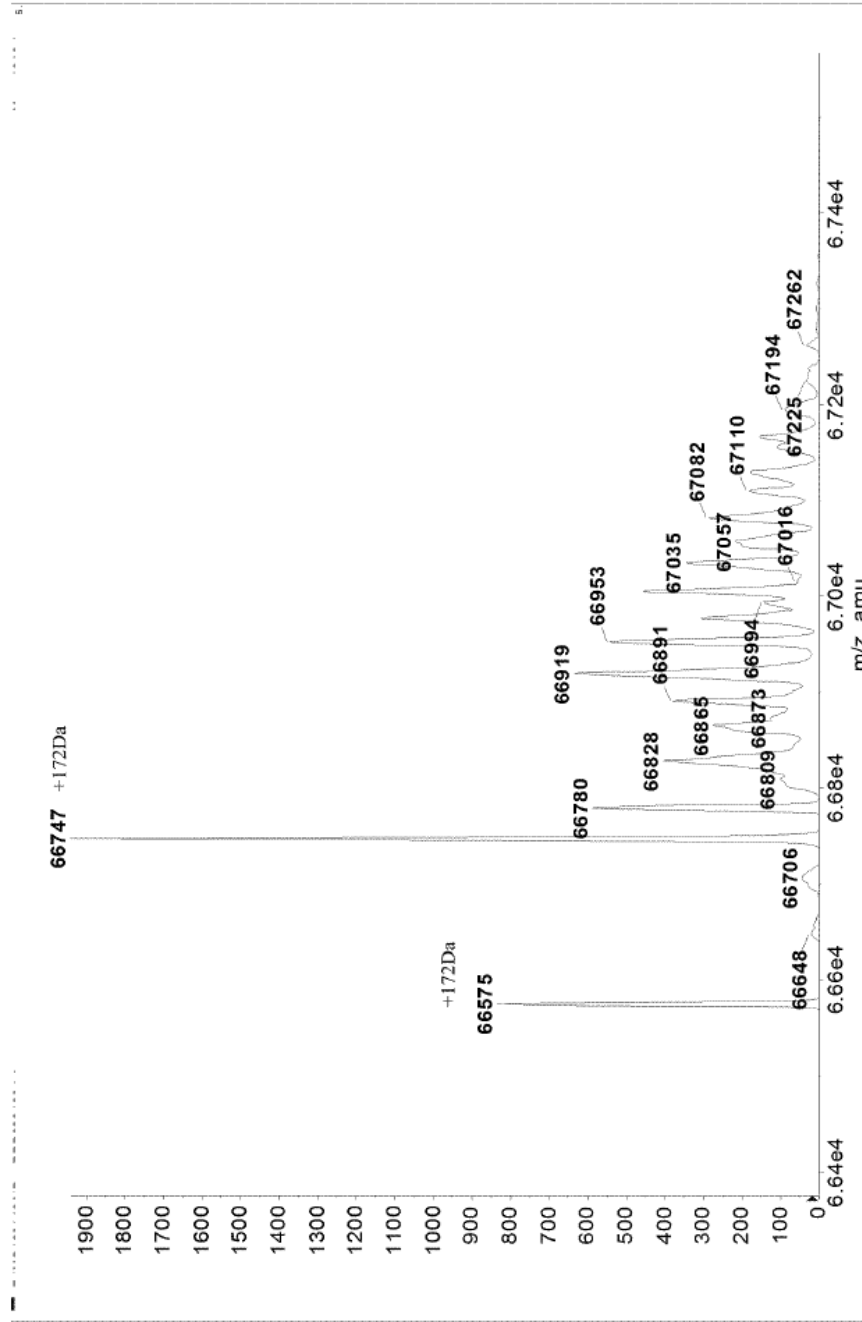


Figura 22

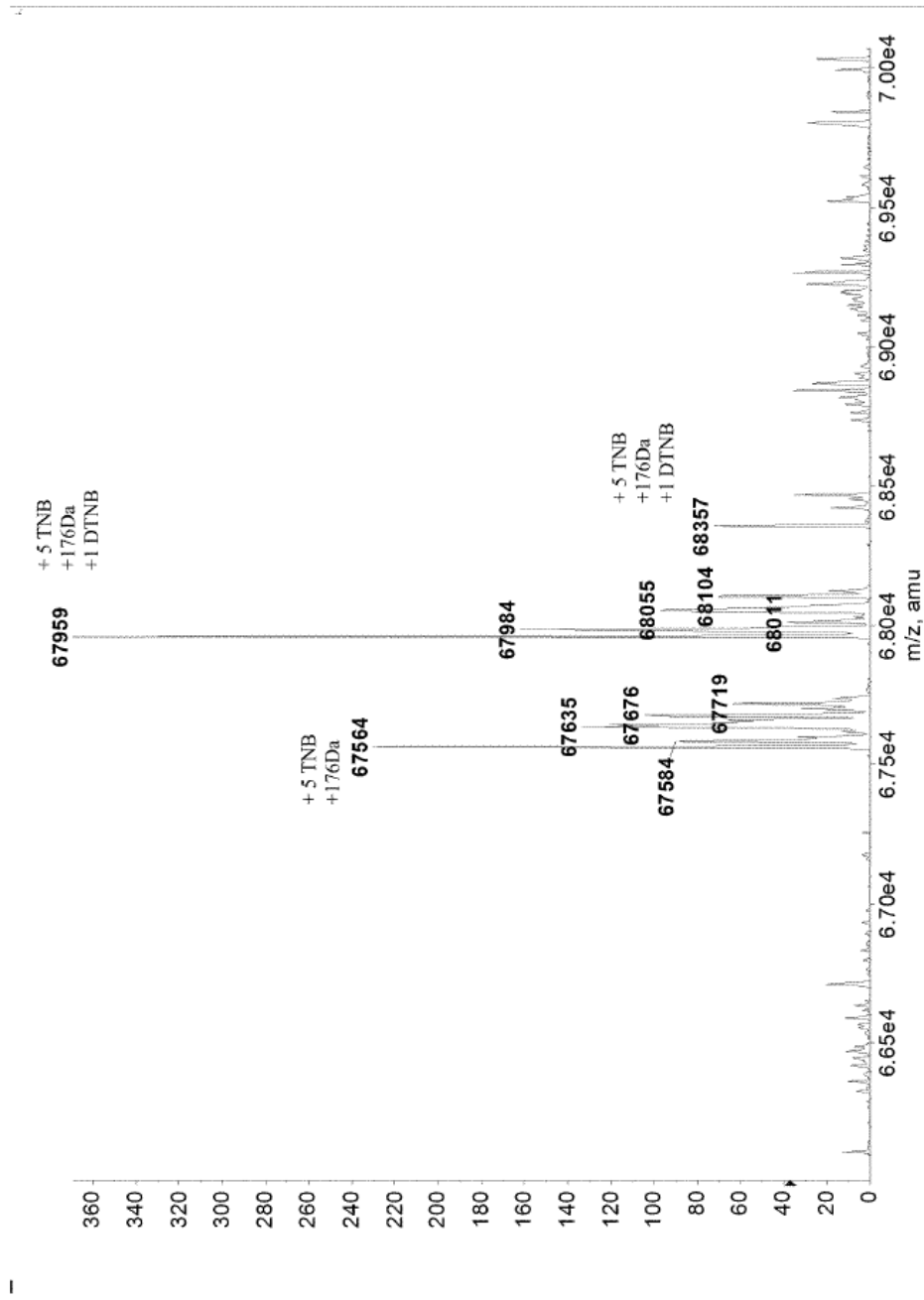


Figura 23

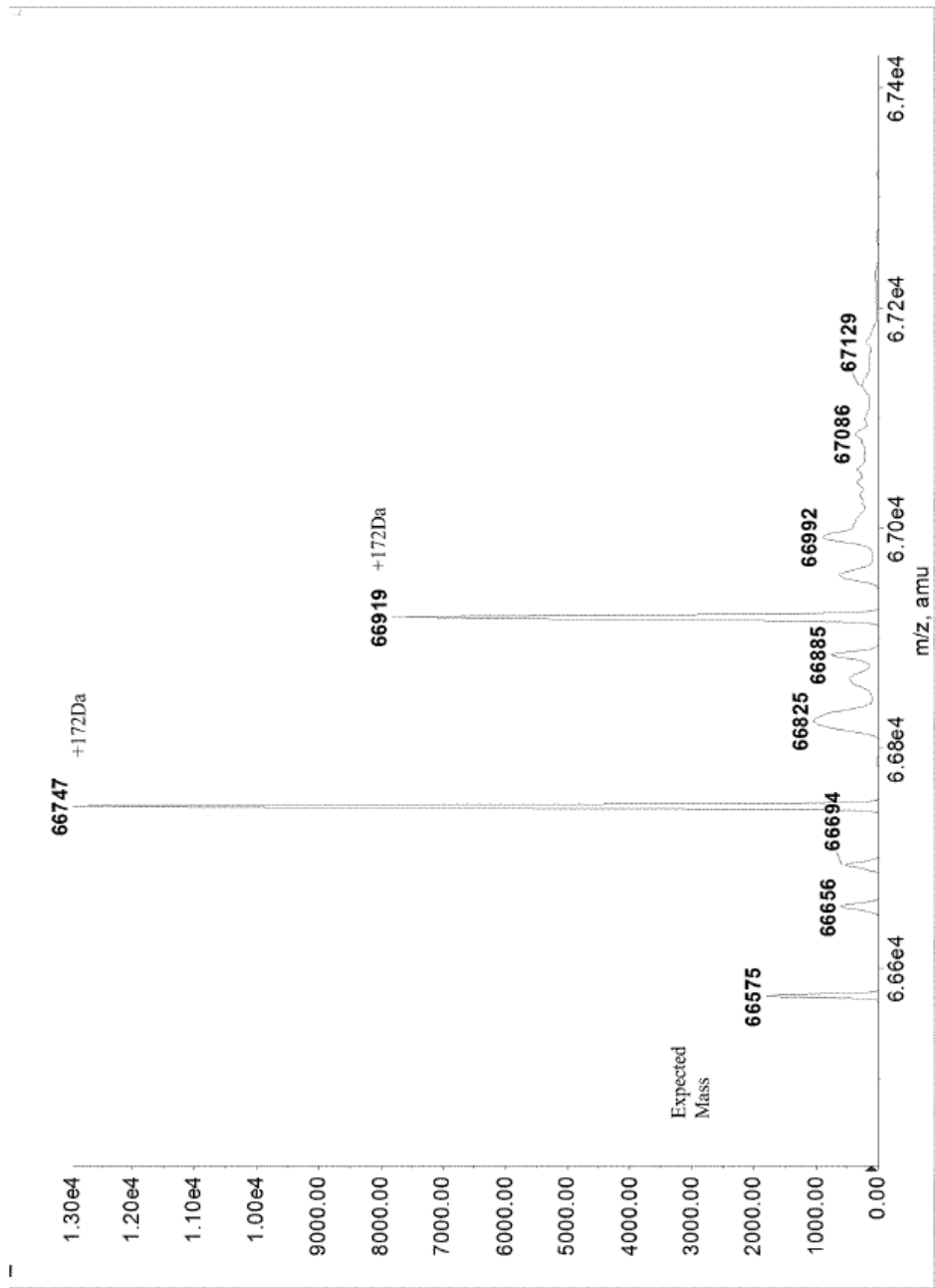


Figura 24

