



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 330 334**

51 Int. Cl.:

C12N 15/31 (2006.01)

C07K 14/315 (2006.01)

C07K 16/12 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

A61K 39/09 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04716233 .4**

96 Fecha de presentación : **02.03.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1601770**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.12.2005**

54

Título: **Antígenos de *Streptococcus pyogenes*.**

30

Prioridad: **04.03.2003 EP 03450061**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.12.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.12.2009

73

Titular/es: **Intercell AG.**
Campus Vienna Biocenter 6
1030 Vienna, AT

72

Inventor/es: **Meinke, Andreas;**
Nagy, Eszter;
Winkler, Birgit y
Gelbmann, Dieter

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 330 334 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

Antígenos de *Streptococcus pyogenes*.

5 La presente invención se refiere a moléculas de ácido nucleico aisladas, que codifican antígenos para *Streptococcus pyogenes*, que son adecuados para uso en la preparación de medicamentos farmacéuticos para la prevención y el tratamiento de las infecciones bacterianas causadas por *Streptococcus pyogenes*.

10 El *Streptococcus pyogenes*, también llamado estreptococo grupo A (GAS), es un importante patógeno bacteriano extracelular gram positivo e infecta comúnmente a los seres humanos. Los GAS colonizan la garganta o la piel y son responsables de una serie de infecciones supurativas y de secuelas no supurativas. Es principalmente una enfermedad de los niños y causa una diversidad de infecciones, incluidas la faringitis bacteriana, la escarlatina, el impétigo y la sepsis en los seres humanos. Décadas de estudios epidemiológicos han dado lugar al concepto de cepas características de la garganta y de la piel, donde ciertos serotipos con frecuencia están asociados con infecciones de la garganta o de la piel, respectivamente {Cunningham, M., 2000}. Se ha descubierto que los GAS son responsables del síndrome del choque tóxico estreptocócico asociado a la fascitis necrotizante que últimamente ha resurgido en los EEUU {Cone, L. y col., 1987; Stevens, D., 1992} y se ha descrito como la bacteria “comedora de carne” que invade la piel y los tejidos blandos dando como resultado la destrucción de los tejidos o de los miembros.

20 Pueden presentarse varias secuelas postestreptocócicas en los seres humanos posteriores a la infección, tales como la fiebre reumática aguda, la glomerulonefritis aguda y la artritis reactiva. De éstas, la fiebre reumática aguda y la enfermedad reumática cardiaca son las secuelas autoinmunes más graves y han dado lugar a incapacidad y muerte de niños en todo el mundo. *S. pyogenes* puede también causar enfermedades agudas graves tales como la escarlatina y la fascitis necrotizante y se ha asociado con el síndrome de Tourette, tics y trastornos del movimiento y de la atención.

25 Los estreptococos del grupo A son la causa bacteriana más común del dolor de garganta y la faringitis y explican al menos el 16% de todas las visitas de consulta en una práctica médica general, dependiente de la estación {Hope-Simpson, R., 1981}. Afecta principalmente a niños en edad escolar de entre 5 y 15 años de edad {Cunningham, M., 2000}. Todas las edades son susceptibles de propagar el organismo bajo condiciones de hacinamiento, por ejemplo en las escuelas. Los GAS no se consideran flora normal, aunque la portación faríngea de estreptococos del grupo A puede tener lugar sin síntomas clínicos.

30 Los estreptococos del grupo A pueden identificarse por el esquema de clasificación de Lancefield de tipificación serológica basado en sus hidratos de carbono o pueden clasificarse en serotipos de la proteína M en base a una proteína de superficie que puede extraerse hirviendo las bacterias con ácido clorhídrico. Esto ha dado lugar a la identificación de más de 80 serotipos, que pueden también tipificarse por medio de un enfoque molecular (genes emm). Ciertos serotipos de proteína M del *S. pyogenes* están asociados principalmente con la faringitis y la fiebre reumática, mientras que otros parece causar principalmente la piodermia y la glomerulonefritis aguda {Cunningham, M., 2000}.

40 También están implicados como causa de faringitis y ocasionalmente choque tóxico los estreptococos de los grupos C y G, que deben identificarse después del cultivo de garganta {Hope-Simpson, R., 1981; Bisno, A. y col., 1987}.

45 Actualmente, las infecciones estreptocócicas sólo pueden tratarse por medio de terapia con antibióticos. Sin embargo, el 25-30% de los tratados con antibióticos muestran enfermedad recurrente y/o emiten el organismo en las secreciones mucosas. En la actualidad no hay tratamiento preventivo (vacuna) disponible para evitar las infecciones estreptocócicas.

50 Por consiguiente, sigue existiendo la necesidad de un tratamiento eficaz para prevenir o aliviar las infecciones estreptocócicas. Una vacuna no sólo podría prevenir las infecciones por estreptococos, sino más específicamente podría prevenir o aliviar la colonización de los tejidos del huésped, reduciendo de este modo la incidencia de faringitis y de otras infecciones supurativas. La eliminación de las secuelas no supurativas, tales como la fiebre reumática, la glomerulonefritis aguda, la sepsis, el choque tóxico y la fascitis necrotizante, sería una consecuencia directa de reducir la incidencia de la infección aguda y la portación del organismo. Las vacunas capaces de demostrar protección cruzada contra otros estreptococos también serían útiles para prevenir o aliviar las infecciones causadas por todas las otras especies de estreptococos beta hemolíticos, a saber, los grupos A, B, C y G.

55 Una vacuna puede contener una completa diversidad de antígenos diferentes. Los ejemplos de antígenos son los organismos completos, atenuados o muertos, subfracciones de estos organismos/tejidos, proteínas, o, en su forma simple más simple, péptidos. Los antígenos pueden también ser reconocidos por el sistema inmune en la forma de proteínas o péptidos glicosilados y pueden también ser o contener polisacáridos o lípidos. Pueden usarse péptidos cortos ya que, por ejemplo, las células T citotóxicas (CTL) reconocen los antígenos en la forma de péptidos cortos, usualmente de 8-11 aminoácidos de longitud conjuntamente con el complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Las células B pueden reconocer epítomos lineales tan cortos como 4-5 aminoácidos, así como estructuras tridimensionales (epítomos conformacionales). Para obtener respuestas inmunes sostenidas, específicas de antígeno, los adyuvantes necesitan disparar las cascadas inmunes que implican a todas las células del sistema inmune necesario. Principalmente, los adyuvantes actúan, pero no están restringidos en su modo de acción, en las denominadas células presentadoras de antígeno (APC). Usualmente estas células primero encuentran el(los) antígeno(s) y a continuación sigue la presentación del antígeno procesado o sin modificar a las células efectoras inmunes. También pueden estar implicados tipos de

células intermedias. Solamente las células efectoras con la especificidad adecuada se activan en una respuesta inmune productiva. El adyuvante puede también retener localmente los antígenos y otros factores inyectados conjuntamente. Además, el adyuvante puede también actuar como quimiotáctico para otras células inmunes o puede actuar localmente y/o sistémicamente como agente estimulador para el sistema inmune.

5

Los enfoques para desarrollar una vacuna estreptocócica del grupo A se han centrado principalmente en la proteína M de la superficie celular del *S. pyogenes* {Bessen, D. y col., 1988; Bronze, M. y col., 1988}. Puesto que existen más de 80 diferentes serotipos M de *S. pyogenes* y continuamente surgen nuevos serotipos {Fischetti, V., 1989}, la inoculación con una cantidad limitada de proteína M específica de serotipo o péptidos derivados de la proteína M probablemente no será eficaz para proteger contra todos los otros serotipos M. Además, se ha mostrado que la proteína M contiene una secuencia de aminoácidos, que tiene reactividad inmunológicamente cruzada con el tejido cardíaco humano, que se cree que explica el daño de las válvulas cardíacas asociado con la fiebre reumática {Fenderson, P. y col., 1989}.

10

Hay otras proteínas bajo consideración para el desarrollo de vacunas, tales como las toxinas eritrogénicas, la exotoxina pirogénica estreptocócica A y la exotoxina pirogénica estreptocócica B {Lee, P. K., 1989}. La inmunidad para estas toxinas podría evitar posiblemente los síntomas mortales del choque tóxico estreptocócico, pero no podría evitar la colonización por los estreptococos del grupo A.

15

El documento WO 02/34771 A2 divulga un sondeo genómico de ácidos nucleicos y proteínas de los grupos A y B de *Streptococcus*.

20

Ferretti y col. (PNAS 98(8) (2001): 4658-4663) describen la secuencia genómica completa de una cepa M1 de *Streptococcus pyogenes*.

25

Smoot y col. (PNAS 99(7) (2002): 4668-4673) describen la secuencia del genoma del serotipo M18 de cepas del grupo A de *Streptococcus*.

Beres y col. (PNAS 99(15) (2002): 10078-10083) describen la secuencia del genoma de la cepa del serotipo M3 del *Streptococcus* grupo A.

30

El uso de las proteínas descritas anteriormente como antígenos para una vacuna potencial así como una serie de otros candidatos {Ji, Y. y col., 1997; Guzman, C. y col., 1999} resultó principalmente de una selección basada en la facilidad de identificación o en la posibilidad de disponibilidad. Existe una demanda para identificar los antígenos eficaces y relevantes para *S. pyogenes*.

35

Los autores de la presente invención han desarrollado un procedimiento para la identificación, el aislamiento y la producción de antígenos reactivos a sueros hiperinmunes de un patógeno específico, especialmente de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (documento WO 02/059148). Sin embargo, dadas las diferencias en la propiedad biológica, la función patógena y el antecedente genético, *Streptococcus pyogenes* puede distinguirse de las cepas de *Staphylococcus*. Es importante destacar que la selección de sueros para la identificación de antígenos de *S. pyogenes* es diferente de la utilizada para las selecciones de *S. aureus*. Se recogieron tres tipos principales de suero humano para ese objeto. Primero, se realizaron pruebas para identificar portadores de *S. pyogenes* en nasofaringe en adultos sanos de menos de 45 años de edad, de preferencia con niños pequeños en el hogar. Un gran porcentaje niños pequeños son portadores de *S. pyogenes*, y se los considera una fuente de exposición para los miembros de sus familias. En base a datos correlativos, es probable que los anticuerpos protectores (neutralizadores de la colonización) estén presentes en los individuos expuestos (niños con elevada tasa de portación en el hogar) que no son portadores de *S. pyogenes*. Para ser capaz de seleccionar las fuentes de suero relevantes, se realizó una serie de ensayos de ELISA que miden los niveles de anticuerpos IgG e IgA anti *S. pyogenes* con lisados bacterianos y proteínas del sobrenadante de los cultivos. Los sueros de los no portadores con valor elevado se incluyeron en la identificación de antígenos basada en el genoma. Este enfoque para la selección de sueros humanos es básicamente muy diferente de la utilizada para *S. aureus*, donde el estado de portador o no portador no puede asociarse con los niveles de anticuerpos.

50

En segundo lugar, las muestras de suero de pacientes con faringitis se caracterizaron y seleccionaron de la misma manera. El tercer grupo de muestras de suero obtenidas de individuos con secuelas postestreptocócicas - tales como fiebre reumática aguda y glomerulonefritis - se usó principalmente para el objeto de la validación. Este último grupo ayuda en la exclusión de los epítomos, que inducen altos niveles de anticuerpos en estos pacientes, puesto que la enfermedad postestreptocócica está asociada con anticuerpos inducidos por GAS y reactivos contra los tejidos humanos, tales como el músculo cardíaco, o están implicados en la formación de complejos inmunes perjudiciales en los glomérulos del riñón. Los genomas de las dos especies bacterianas *S. pyogenes* y *S. aureus* por sí mismos muestra una serie de diferencias importantes. El genoma de *S. pyogenes* contiene aproximadamente 1,85 Mb, mientras que *S. aureus* lleva 2,85 Mb. Tienen un contenido promedio de GC de 38,5 y 33%, respectivamente y aproximadamente del 30 al 45% de los genes codificados no se comparten entre los dos patógenos. Además, las dos especies bacterianas requieren diferentes condiciones de crecimiento y medio para la propagación. Mientras que *S. pyogenes* es un patógeno estrictamente humano, *S. aureus* puede encontrarse también infectando una variedad de animales de sangre caliente. A continuación se presenta una lista de las enfermedades más importantes, que pueden causar los dos patógenos. *S. aureus* causa principalmente infecciones hospitalarias, oportunistas: impétigo, foliculitis, abscesos, laceraciones infectadas, endocarditis, meningitis, artritis séptica, neumonía, osteomielitis, el síndrome de la piel escaldada (SSS), el síndrome del choque tóxico. *S. pyogenes* causa principalmente infecciones adquiridas de la comunidad: dolor

65

ES 2 330 334 T3

de garganta estreptocócico (fiebre, tonsilitis exudativa, faringitis), infecciones estreptocócicas de la piel, escarlatina, fiebre puerperal, septicemia, erisipelas, celulitis perianal, mastoiditis, otitis media, neumonía, peritonitis, infecciones de heridas, glomerulonefritis aguda, fiebre reumática aguda; síndrome análogo al choque tóxico, fascitis necrotizante.

5 El problema subyacente de la presente invención era proporcionar los medios para desarrollar medicamentos tales como vacunas contra la infección por *S. pyogenes*. Más particularmente, el problema era proporcionar una serie eficaz, relevante y completa de moléculas de ácido nucleico o de antígenos reactivos a sueros hiperinmunes de *S. pyogenes* que puedan usarse para la fabricación de dichos medicamentos.

10 Por consiguiente, la presente invención proporciona una vacuna que comprende un fragmento antigénico del antígeno reactivo en suero hiperinmune de Sec. ID N° 215, seleccionado del grupo constituido por péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215 o derivados que comprenden la secuencia de aminoácidos 31-345 de Sec. ID N° 215 con 1 a 10 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos, en cualquier combinación.

15 Según una forma de realización de preferencia de la presente invención, los péptidos comprenden los aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215. Aún de más preferencia los péptidos están constituidos por una secuencia de aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215. En formas de realización particularmente de preferencia los fragmentos están constituidos por los aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215 y una secuencia líder o secretora, una secuencia utilizada para la purificación o una secuencia de proproteína.

20 Puede producirse un antígeno reactivo en suero hiperinmune de *S. pyogenes* o uno de sus fragmentos expresando una o más de las moléculas de ácido nucleico divulgadas en el presente documento en un sistema de expresión adecuado.

25 Además, se divulga un proceso para producir una célula, que expresa un antígeno reactivo en suero hiperinmune de *S. pyogenes* o uno de sus fragmentos que comprende transformar o transfectar una célula adecuada con el vector.

30 En una forma de realización de preferencia, la vacuna comprende además una sustancia inmunoestimuladora, de preferencia seleccionada del grupo constituido por polímeros policatiónicos, en especial péptidos policatiónicos, desoxinucleótidos (ODN) inmunoestimuladores, péptidos que contienen al menos dos motivos LysLeuLys, en especial KLKLSKLLK, compuestos neuroactivos, en especial la hormona de crecimiento humana, alumbre, adyuvante completo o incompleto de Freund o sus combinaciones.

35 En una forma de realización de más preferencia, la sustancia inmunoestimuladora es una combinación de un polímero policatiónico y desoxinucleótidos inmunoestimuladores o de un péptido que contiene al menos dos motivos LysLeuLys y desoxinucleótidos inmunoestimuladores.

40 En una forma de realización aún de más preferencia, el polímero policatiónico es un péptido policatiónico, en especial poliarginina.

45 Según la presente invención, se proporciona el uso de una molécula de ácido nucleico que codifica un fragmento antigénico de la invención o el uso de un fragmento antigénico según la presente invención para la fabricación de una preparación farmacéutica, en especial para la fabricación de una vacuna contra la infección por *S. pyogenes*.

También se proporciona en el presente documento una vacuna que comprende un anticuerpo, o al menos una parte eficaz del mismo, que se une al menos a una parte selectiva del fragmento antigénico según la presente invención.

50 En una forma de realización de preferencia, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

En otra forma de realización de preferencia, la parte eficaz del anticuerpo comprende los fragmentos Fab.

En otra forma de realización de preferencia, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico.

55 En aún otra forma de realización de preferencia, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

También se divulga una línea celular de hibridoma, que produce un anticuerpo de la vacuna.

60 Además, está contemplado un procedimiento para producir un anticuerpo, caracterizado por las siguientes etapas:

- 65 ■ iniciar una respuesta inmune en un animal no humano administrando un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos a dicho animal,
- extraer un líquido corporal de dicho animal que contenga el anticuerpo, y
- producir el anticuerpo sometiendo dicho líquido corporal que contiene el anticuerpo a otras etapas de purificación.

ES 2 330 334 T3

Por consiguiente, también se divulga un procedimiento para producir un anticuerpo según la presente invención, caracterizado por las siguientes etapas:

- 5 ▪ iniciar una respuesta inmune en un animal no humano administrando un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos, según se definen en la presente invención, a dicho animal,
- extraer el bazo o células del bazo de dicho animal,
- 10 ▪ producir células de hibridoma de dicho bazo o dichas células del bazo,
- seleccionar y clonar las células del hibridoma específicas para dichos antígenos reactivos en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos,
- 15 ▪ producir el anticuerpo por medio del cultivo de dichas células de hibridoma clonadas y opcionalmente otras etapas de purificación.

20 Los anticuerpos proporcionados o producidos según los procedimientos anteriores pueden usarse para la preparación de un medicamento para tratar o prevenir las infecciones por *S. pyogenes*.

Se divulga un antagonista que se une a un antígeno reactivo en suero hiperinmune o un fragmento del mismo según la presente invención.

25 Uno de tales antagonistas capaces de unirse a un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos puede identificarse por medio de un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

- 30 a) poner un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos inmovilizado o aislado en contacto con un antagonista candidato bajo condiciones que permitan la unión de dicho antagonista candidato a dicho antígeno o fragmento de antígeno reactivo en suero hiperinmune, en presencia de un componente capaz de proporcionar una señal detectable en respuesta a la unión del antagonista candidato a dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento; y
- 35 b) detectar la presencia o ausencia de una señal generada en respuesta a la unión del antagonista al antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento.

40 Un antagonista capaz de reducir o inhibir la actividad de interacción de un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos a su pareja de interacción puede identificarse por medio de un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

- 45 a) proporcionar un antígeno reactivo en suero hiperinmune o un fragmento hiperinmune del mismo,
- b) proporcionar una pareja de interacción para dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos, en especial un anticuerpo,
- 50 c) dejar que se produzca la interacción de dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento con dicha pareja de interacción para formar un complejo de interacción,
- d) proporcionar un antagonista candidato,
- 55 e) dejar que se produzca una reacción de competición entre el antagonista candidato y el complejo de interacción,
- f) determinar si el antagonista candidato inhibe o reduce las actividades de interacción del antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento con la pareja de interacción.

60 Los antígenos reactivos en suero hiperinmune o sus fragmentos pueden usarse para el aislamiento y/o la purificación y/o la identificación de una pareja de interacción de dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento.

65 Es posible un proceso para diagnosticar *in vitro* una enfermedad relacionada con la expresión de un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos que comprende determinar la presencia de una secuencia de ácido nucleico que codifica dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune y el fragmento o la presencia del antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento.

También se divulga un proceso para el diagnóstico *in vitro* de una infección bacteriana, en especial una infección por *S. pyogenes*, que comprende analizar la presencia de una secuencia de ácido nucleico que codifica dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune y el fragmento o la presencia del antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento.

ES 2 330 334 T3

Además, la presente invención divulga el uso de un antígeno reactivo en suero hiperinmune o su fragmento para la generación de un péptido que se une a dicho antígeno reactivo en suero hiperinmune o fragmento del mismo, en el que el péptido es una anticulina.

5 La presente invención también contempla el uso de un antígeno reactivo en suero hiperinmune o fragmento del mismo para la fabricación de un ácido nucleico funcional, en el que el ácido nucleico funcional se selecciona del grupo constituido por aptámeros y spiegelmeros.

10 La molécula de ácido nucleico puede usarse también para la fabricación de un ácido ribonucleico funcional, en la que el ácido ribonucleico funcional se selecciona del grupo constituido por ribozimas, ácidos nucleicos antisentido y ARN interferentes pequeños (siRNA).

15 Está contemplada una serie completa, eficaz y relevante de moléculas de ácido nucleico aisladas y sus antígenos reactivos en suero hiperinmune codificados y sus fragmentos identificados de *S. pyogenes* usando una preparación de anticuerpos de combinaciones de múltiples plasmas humanos y bibliotecas de expresión de superficie derivadas del genoma de *S. pyogenes*. Por consiguiente, la presente invención satisface una muy sentida demanda de antígenos de *S. pyogenes*, vacunas, diagnósticos y productos útiles en procedimientos para preparar anticuerpos para identificar compuestos eficaces contra la infección por *S. pyogenes*.

20 Una vacuna eficaz debe estar compuesta por proteínas o polipéptidos, que sean expresados por todas las cepas y sean capaces de inducir abundantes anticuerpos, de elevada afinidad contra los componentes de la superficie celular de *S. pyogenes*. Los anticuerpos deben ser IgG1 y/o IgG3 para la opsonización, y cualquier subtipo de IgG e IgA para la neutralización de la acción de adhesión y de las toxinas. Una vacuna definida químicamente debe ser definitivamente superior comparada con una vacuna de células completas (atenuadas o muertas), ya que pueden eliminarse los componentes de *S. pyogenes*, que reaccionan de manera cruzada con los tejidos humanos o inhiben la opsonización {Whitnack, E. y col., 1985}, y pueden seleccionarse las proteínas individuales que inducen anticuerpos protectores y/o una respuesta inmune protectora.

30 El enfoque, que se ha utilizado para la presente invención, está basado en la interacción de las proteínas o péptidos del estreptococo grupo A con los anticuerpos presentes en el suero humano. Los anticuerpos producidos frente a *S. pyogenes* por el sistema inmune humano y presentes en el suero humano son indicativos de la expresión *in vivo* de las proteínas antigénicas y de su inmunogenicidad. Además, las proteínas antigénicas, según se identifican por las bibliotecas de expresión de presentación de superficie bacteriana usando combinaciones de sueros preseleccionados, se procesan en un segundo y un tercer ciclo de selección por medio de sueros generados o seleccionados de los individuos. Por consiguiente, la presente invención proporciona una serie eficaz, relevante y completa de antígenos de estreptococo grupo A como una composición farmacéutica, en especial una vacuna que previene la infección por *S. pyogenes*.

40 En el programa de identificación de antígenos para identificar una serie completa de antígenos según la presente invención, se seleccionan al menos dos bibliotecas de expresión de superficie bacteriana diferentes con varias combinaciones o fracciones de plasma u otros líquidos corporales que contienen anticuerpos combinados (combinaciones de anticuerpos). Las combinaciones de anticuerpos se obtienen de una colección de sueros, que se ha probado contra compuestos antigénicos de *S. pyogenes*, tales como extractos de células completas y proteínas de sobrenadantes de cultivos. De preferencia, se usan 2 colecciones de sueros diferentes: 1. Con un repertorio muy estable de anticuerpos: adultos normales, personas clínicamente sanas, quienes no son portadores y quienes superaron contactos previos o son actualmente portadores de *S. pyogenes* sin enfermedad aguda ni síntomas, 2. con anticuerpos inducidos de forma aguda por la presencia del organismo patógeno: pacientes con enfermedad aguda con diferentes manifestaciones (por ejemplo, faringitis, infección de heridas y bacteriemia por *S. pyogenes*). Los sueros deben reaccionar con múltiples antígenos específicos de estreptococos del grupo A para que se consideren hiperinmunes y, por consiguiente, relevantes en el procedimiento de selección aplicado para la presente invención. Los anticuerpos producidos contra los estreptococos por el sistema inmune humano y que están presentes en los sueros humanos son indicativos de la expresión *in vivo* de las proteínas antigénicas y su inmunogenicidad.

55 Las bibliotecas de expresión según se usan en la presente invención deben permitir la expresión de todos los antígenos potenciales, por ejemplo, derivados de todas las proteínas de superficie de *S. pyogenes*. Las bibliotecas de presentación de superficie bacteriana estarán representadas por una biblioteca recombinante de un huésped bacteriano que presenta una serie (total) de secuencias de péptidos expresadas de los estreptococos del grupo A en una serie de proteínas de membrana externa seleccionadas (LamB, BtuB, FhuA) en la membrana del huésped bacteriano {Georgiou, G., 1997; Etz, H. y col., 2001}. Una de las ventajas de usar bibliotecas de expresión recombinantes es que los antígenos reactivos en suero hiperinmune identificados pueden producirse inmediatamente por la expresión de secuencias codificadoras de los clones identificados y seleccionados que expresan los antígenos reactivos en suero hiperinmune sin necesidad de otras etapas de tecnología de ADN recombinante o de clonación.

65 La serie completa de antígenos identificados por medio del programa descrito según la presente invención se analiza además por medio de uno o más ciclos adicionales de selección. Por consiguiente, se usan preparaciones individuales de anticuerpos o anticuerpos generados contra péptidos seleccionados que se han identificado como inmunogénicos. Según una forma de realización de preferencia, las preparaciones de anticuerpos individuales para el segundo ciclo de selección se obtienen de pacientes que han sufrido una infección aguda con estreptococos del grupo A, en especial de

ES 2 330 334 T3

pacientes que muestran un valor de anticuerpos por encima de cierto nivel mínimo, por ejemplo un valor de anticuerpos que es superior al percentil 80, de preferencia superior al percentil 90, especialmente superior al percentil 95 de los sueros humanos (pacientes o individuos sanos) probados. El uso de tales preparaciones de anticuerpos individuales de valor elevado en el segundo ciclo de selección permite una identificación muy selectiva de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de *S. pyogenes*.

Siguiendo el procedimiento de selección de alto rendimiento, las proteínas antigénicas seleccionadas, expresadas como proteínas recombinantes o como productos traducidos *in vitro*, en caso que no puedan expresarse en sistemas de expresión procariotas, o los péptidos antigénicos identificados (producidos de manera sintética) se prueban en una segunda selección por una serie de ensayos de ELISA y transferencia Western para evaluar su inmunogenicidad con una gran colección de sueros humanos (sueros de > 100 no infectados, > 50 pacientes).

Es importante que las preparaciones de anticuerpos individuales (que puede ser también el suero seleccionado) permitan una identificación selectiva de los antígenos reactivos en suero hiperinmune de todos los candidatos prometedores del primer ciclo. Por consiguiente, deben usarse al menos 10 preparaciones de anticuerpos individuales (es decir, preparaciones de anticuerpos (por ejemplo sueros) de al menos 10 individuos diferentes que hayan sufrido una infección del patógeno elegido) para identificar estos antígenos en el segundo ciclo de selección. Por supuesto, es posible usar también menos de 10 preparaciones individuales, sin embargo, la selectividad de la etapa puede no ser óptima con un número bajo de preparaciones de anticuerpos individuales. Por otra parte, si un antígeno reactivo en suero hiperinmune dado (o uno de sus fragmentos antigénicos) es reconocido por al menos 10 preparaciones de anticuerpos individuales, de preferencia al menos 30, especialmente al menos 50 preparaciones de anticuerpos individuales, la identificación del antígeno reactivo en suero hiperinmune es también suficientemente selectiva para una identificación adecuada. La reactividad al suero hiperinmune puede probarse, por supuesto, con tantas preparaciones individuales como sea posible (por ejemplo, con más de 100 o incluso con más de 1.000).

Por consiguiente, la parte relevante de las preparaciones de anticuerpos reactivos en suero hiperinmune debe ser al menos 10, de más preferencia al menos 30, especialmente al menos 50 preparaciones de anticuerpos individuales. Como alternativa (o en combinación) los antígenos reactivos en suero hiperinmune pueden también identificarse de preferencia con al menos el 20%, de preferencia al menos el 30%, especialmente al menos el 40% de las preparaciones de anticuerpos individuales usadas en el segundo ciclo de selección.

Según una forma de realización de preferencia de la presente invención, los sueros a partir de los que se preparan las preparaciones de anticuerpos individuales para el segundo ciclo de selección (o que se usan como preparaciones de anticuerpos), se seleccionan por sus valores contra *S. pyogenes* (por ejemplo contra una preparación de este patógeno, tal como un lisado, componentes de la pared celular y proteínas recombinantes). De preferencia, algunos se seleccionan con un valor de IgA total superior a 4.000 U, especialmente superior a 6.000 U, y/o un valor de IgG superior a 10.000 U, especialmente superior a 12.000 U (U = unidades, calculadas a partir de la lectura de $DO_{405\text{ nm}}$ en una dilución dada) cuando se usa el organismo completo (lisado total o células completas) como antígeno en el ELISA.

Los anticuerpos producidos contra estreptococos por el sistema inmune humano y presentes en sueros humanos son indicativos de la expresión *in vivo* de las proteínas antigénicas y de su inmunogenicidad. El reconocimiento de epítomos lineales por anticuerpos puede basarse en secuencias tan cortas como de 4-5 aminoácidos. Por supuesto, no significa necesariamente que estos péptidos cortos sean capaces de inducir el anticuerpo dado *in vivo*. Por esa razón, los epítomos, polipéptidos y proteínas definidos deben probarse además en animales (principalmente en ratones) para verificar su capacidad para inducir anticuerpos contra las proteínas seleccionadas *in vivo*.

Los antígenos de preferencia están localizados en la superficie celular o se secretan, y por consiguiente están accesibles de manera extracelular. Se espera que los anticuerpos contra proteínas de la pared celular sirvan para dos objetos: inhibir la adhesión y promover la fagocitosis. Los anticuerpos contra proteínas secretadas son ventajosos en la neutralización de sus funciones como toxina o componente de virulencia. Se sabe también que las bacterias se comunican unas con otras a través de proteínas secretadas. Los anticuerpos neutralizantes contra estas proteínas interrumpirán la comunicación cruzada promotora del crecimiento entre o dentro de las especies de estreptococos. Los análisis bioinformáticos (secuencias señal, señales de localización de pared celular, dominios transmembranarios) han demostrado ser muy útiles para evaluar la localización de superficie o la secreción. El enfoque experimental incluye el aislamiento de anticuerpos con los epítomos correspondientes y proteínas del suero humano, y la generación de sueros inmunes en ratones contra (poli)péptidos seleccionados por las selecciones de presentación de superficie bacteriana. Estos sueros se usan posteriormente en un tercer ciclo de selección como reactivos en los siguientes ensayos: tinción de superficie celular de estreptococos del grupo A cultivados bajo condiciones diferentes (FACS, microscopía), determinación de la capacidad de neutralización (toxina, adherencia) y promoción de la opsonización y fagocitosis (ensayo de fagocitosis *in vitro*).

Para este objeto, los clones de bacterias *E. coli* se inyectan directamente en los ratones y se recogen los sueros inmunes y se prueban en el ensayo relevante *in vitro* para anticuerpos opsónicos o neutralizantes funcionales. Como alternativa, los anticuerpos específicos pueden purificarse a partir de sueros humanos o de ratón usando péptidos o proteínas como sustrato.

La defensa del huésped contra *S. pyogenes* se basa principalmente en mecanismos inmunológicos congénitos. La inducción de anticuerpos de alta afinidad de tipo opsónico y neutralizante por medio de la vacunación ayuda al sistema

ES 2 330 334 T3

inmune congénito a eliminar bacterias y toxinas. Esto hace que el procedimiento según la presente invención sea una herramienta óptima para la identificación de proteínas antigénicas de estreptococos del grupo A.

La piel y las membranas mucosas son barreras formidables contra la invasión por los estreptococos. Sin embargo, una vez que se genera una brecha en la piel o las membranas mucosas, la primera línea de defensa celular no adaptativa comienza su acción coordinada a través del complemento y de los fagocitos, especialmente los leucocitos polimorfonucleares (PMN). Estas células pueden considerarse como las piedras angulares en la eliminación de bacterias invasoras. Como los estreptococos del grupo A son principalmente patógenos extracelulares, la principal respuesta adaptativa contra los estreptococos proviene de la rama humoral del sistema inmune, y está mediada a través de tres mecanismos principales: promoción de la opsonización, neutralización de toxinas e inhibición de la adherencia. Se cree que la opsonización es especialmente importante, porque es un requisito para que se produzca una fagocitosis eficaz. Para la opsonización eficaz, la superficie microbiana tiene que estar recubierta con anticuerpos y los factores del complemento para el reconocimiento de los PMN a través de receptores para el fragmento Fc de la molécula de IgG o para C3b activado. Después de la opsonización, los estreptococos son fagocitados y mueren. Los anticuerpos unidos a los antígenos específicos en la superficie celular de las bacterias sirven como ligandos para la unión a los PMN y para promover la fagocitosis. Se espera que los mismos anticuerpos unidos a las adhesinas y a otras proteínas de la superficie celular neutralicen la adhesión y eviten la colonización. La selección de antígenos de la manera prevista por la presente invención es por consiguiente adecuada para identificar los que darán lugar a la protección contra la infección en un modelo animal o en seres humanos.

Según el procedimiento de identificación de antígenos usado en el presente documento, la presente invención puede proporcionar sorprendentemente una serie de ácidos nucleicos completos nuevos y antígenos reactivos en suero hiperinmune nuevos y sus fragmentos, de *S. pyogenes*, entre otras cosas, como se describe a continuación. La invención proporciona las secuencias de nucleótidos que codifican antígenos reactivos en suero hiperinmune cuyas secuencias se presentan en el listado de secuencias Sec. ID N° 1-150 y las correspondientes secuencias de aminoácidos codificadas que representan los antígenos reactivos en suero hiperinmune se presentan en el listado de secuencias Sec. ID N° 151-300.

Se divulga una molécula de ácido nucleico que exhibe el 70% de identidad a lo largo de su longitud total con una secuencia de nucleótidos presentada con las Sec. ID N° 1, 4-8, 10-18, 20, 22, 24-32, 34-35, 38-40, 43-46, 49-51, 53-54, 57-61, 63, 65-71, 73, 75-77, 81-82, 88, 91-94 y 96-150. Los ácidos nucleicos pueden comprender una región que es al menos 80% o al menos 85% idéntica a lo largo de su longitud total a una molécula de ácido nucleico presentada con las Sec. ID N° 1, 4-8, 10-18, 20, 22, 24-32, 34-35, 38-40, 43-46, 49-51, 53-54, 57-61, 63, 65-71, 73, 75-77, 81-82, 88, 91-94 y 96-150. En este aspecto, son posibles moléculas de ácido nucleico al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, ó 96% idénticas a lo largo de la longitud total a la misma. Además, también son posibles las que tienen al menos 97%, las que tienen al menos 98% y al menos 99% ó 99,5% o con 100% de identidad. Además, están contemplados los ácidos nucleicos que codifican antígenos reactivos en suero hiperinmune o sus fragmentos (polipéptidos) que retienen sustancialmente la misma función o actividad biológica que el polipéptido maduro codificado por dichos ácidos nucleicos presentados en las Sec. ID N° 1, 4-8, 10-18, 20, 22, 24-32, 34-35, 38-40, 43-46, 49-51, 53-54, 57-61, 63, 65-71, 73, 75-77, 81-82, 88, 91-94 y 96-150.

La identidad, como se conoce en la técnica y se usa en el presente documento, es la relación entre dos o más secuencias de polipéptidos o dos o más secuencias de polinucleótidos, según se determina por medio de la comparación de las secuencias. En la técnica, identidad también significa el grado de relación de las secuencias entre secuencias de polipéptidos o polinucleótidos, como puede ser el caso, según se determina por la coincidencia entre las hebras de tales secuencias. La identidad puede calcularse fácilmente. Aunque existe una serie de procedimientos para medir la identidad entre dos secuencias de polipéptidos o polinucleótidos, el término es muy conocido por los expertos en la técnica (por ejemplo, Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987). Los procedimientos de preferencia para determinar la identidad están diseñados para dar las mayores coincidencias entre las secuencias probadas. Los procedimientos para determinar la identidad están codificados en programas informáticos. Los procedimientos de los programas informáticos de preferencia para determinar la identidad entre dos secuencias incluyen, pero no se limitan a, el paquete programas GCG {Devereux, J. y col., 1984}, BLASTP, BLASTN, y FASTA {Altschul, S. y col., 1990}.

Se divulgan moléculas de ácido nucleico que exhiben al menos el 96% de identidad con la secuencia de ácido nucleico presentada con la Sec. ID N° 64.

Se divulgan moléculas de ácido nucleico que son idénticas a las secuencias de ácido nucleico presentadas con las Sec. ID N° 3, 36, 47-48, 55, 62, 72, 80, 84, 95.

Las moléculas de ácido nucleico pueden ser también como segunda alternativa una molécula de ácido nucleico que es al menos esencialmente complementaria al ácido nucleico descrito como primera alternativa anteriormente. Según se usa en el presente documento, complementario significa que una hebra de ácido nucleico tiene sus bases apareadas a través del apareamiento de bases de Watson-Crick con una segunda hebra de ácido nucleico. Esencialmente complementaria según se usa en el presente documento significa que no se presenta el apareamiento de bases para todas las bases de las hebras respectivas sino que queda un cierto número o porcentaje de bases no apareadas o apareadas de manera errónea. El porcentaje de bases apareadas correctamente es de preferencia de al menos el 70%, de más preferencia del 80%, aún de más preferencia del 90% y de mayor preferencia cualquier porcentaje superior al 90%.

ES 2 330 334 T3

Debe señalarse que un porcentaje del 70% de bases coincidentes se considera homología y la hibridación que tiene esta extensión de pares de bases coincidentes se considera rigurosa. Las condiciones de hibridación para este tipo de hibridación rigurosa pueden tomarse de Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Inc., 1987). Más particularmente, las condiciones de hibridación pueden ser las siguientes:

- 5 ■ Hibridación realizada por ejemplo en 5 x SSPE, 5 x reactivo de Denhardt, SDS al 0,1%, ADN fragmentado 100 g/ml a 68°C
- Lavado de rigurosidad moderada en 0,2 x SSC, SDS al 0,1% a 42°C
- 10 ■ Lavado de alta rigurosidad en 0,1 x SSC, SDS al 0,1% a 68°C

15 El ADN genómico con un contenido de GC del 50% tiene una T_f aproximada de 96°C. Para el 1% de apareamiento erróneo, la T_f se reduce en aproximadamente 1°C.

Además, cualquiera de las otras condiciones de hibridación que se describen en el presente documento también son en principio aplicables.

20 Por supuesto, todas las moléculas de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican la misma molécula de polipéptido como las identificadas por la presente invención están abarcadas por cualquier divulgación de una secuencia codificadora dada, ya que la degeneración del código genético es directamente aplicable para determinar de manera fehaciente todas las moléculas de ácido nucleico posibles que codifican una molécula de polipéptido dada, aunque la cantidad de tales moléculas de ácido nucleico degeneradas puede ser elevada. Esto es aplicable también para fragmentos de un polipéptido dado, a condición de que los fragmentos codifiquen un polipéptido que sea adecuado para usar con respecto a la vacunación, por ejemplo como una vacuna activa o pasiva.

25 La molécula de ácido nucleico puede ser también como una tercera alternativa un ácido nucleico que comprenda una extensión de al menos 15 bases de la molécula de ácido nucleico según la primera y segunda alternativa de las moléculas de ácido nucleico según se resumió anteriormente. De preferencia, las bases forman una extensión contigua de bases. Sin embargo, la extensión puede estar constituida por dos o más restos que están separados por una serie de bases.

30 La molécula de ácido nucleico puede ser también como una cuarta alternativa una molécula de ácido nucleico que se aparee bajo condiciones de hibridación rigurosas con cualquiera de los ácidos nucleicos según las alternativas primera, segunda y tercera, resumidas anteriormente. Las condiciones de hibridación rigurosas son típicamente las descritas en el presente documento.

35 Finalmente, la molécula de ácido nucleico puede ser también como una quinta alternativa una molécula de ácido nucleico que, salvo por la redundancia código genético, hibridará con cualquiera de las moléculas de ácido nucleico según cualquier molécula de ácido nucleico según las alternativas primera, segunda, tercera y cuarta, resumidas anteriormente. Este tipo de molécula de ácido nucleico se refiere al hecho de que, de preferencia, los ácidos nucleicos codifican los antígenos reactivos en suero hiperinmune o sus fragmentos. Este tipo de molécula de ácido nucleico es particularmente útil en la detección de una molécula de ácido nucleico y por consiguiente en el diagnóstico de los microorganismos respectivos tales como *S. pyogenes* y de cualquier enfermedad o afección de la enfermedad donde esté implicado este tipo de microorganismo. De preferencia, la hibridación se presentará o tendrá lugar bajo condiciones rigurosas como se describió con respecto a la cuarta alternativa descrita anteriormente.

40 Molécula de ácido nucleico según se usa en el presente documento se refiere generalmente a cualquier molécula de ácido ribonucleico o molécula de ácido desoxirribonucleico, que pueden ser ARN o ADN sin modificar o ARN o ADN modificado. Por consiguiente, por ejemplo, molécula de ácido nucleico según se utiliza en el presente documento se refiere a, entre otros, al ADN de hebra única y de hebra doble, ADN que es una mezcla de ARN de hebra única y hebra doble, y ARN que es una mezcla de regiones de hebra única y regiones de hebra doble, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser de hebra única o, más típicamente, de hebra doble, o de hebra triple, o una mezcla de regiones de hebra única y hebra doble. Además, molécula de ácido nucleico según se utiliza en el presente documento se refiere a regiones de triple hebra que comprenden ARN o ADN o ambos, ARN y ADN. Las hebras en tales regiones pueden ser de la misma molécula o de moléculas diferentes. Las regiones pueden incluir todas las de una o más moléculas, pero más típicamente incluyen sólo una región de algunas de las moléculas. Una de las moléculas de una región de triple hélice frecuentemente es un oligonucleótido. Según se usa en el presente documento, el término molécula de ácido nucleico incluye los ADN o ARN según se describen anteriormente que contienen una o más bases modificadas. Por consiguiente, los ADN o ARN con estructuras centrales modificadas por estabilidad o por otras razones son "molécula de ácido nucleico" según lo previsto para el término en el presente documento. Además, Los ADN y ARN que comprenden bases inusuales, tales como la inosina, o bases modificadas, tales como bases tritiadas, para nombrar sólo dos ejemplos, son moléculas de ácido nucleico según se usa el término en el presente documento.

65 Debe apreciarse que se ha realizado una gran diversidad de modificaciones al ADN y ARN que sirven para muchos objetos útiles conocidos por los expertos en la técnica. El término molécula de ácido nucleico según se utiliza en el presente documento abarca tales formas químicamente, enzimáticamente o metabólicamente modificadas de moléculas de ácido nucleico, así como las formas químicas de ADN y ARN características de virus y células, incluidas células

simples y complejas, *inter alia*. El término molécula de ácido nucleico también abarca moléculas de ácido nucleico cortas con frecuencia denominadas oligonucleótido(s). “Polinucleótido” y “ácido nucleico” o “molécula de ácido nucleico” se usan con frecuencia de manera indistinta en el presente documento.

5 Las moléculas de ácido nucleico también abarcan numerosos fragmentos únicos, más largos y más cortos que las secuencias de las moléculas del ácido nucleico presentadas en el listado de secuencias de las regiones codificadoras de *S. pyogenes*, que pueden generarse por medio de procedimientos de clonación convencionales. Para ser único, un fragmento debe tener el tamaño suficiente para distinguirlo de otras secuencias de ácidos nucleicos conocidas, determinado más fácilmente comparando cualquier fragmento seleccionado de *S. pyogenes* con las secuencias de nucleótidos en las bases de datos computerizadas tales como GenBank.

10 Además, pueden realizarse modificaciones a las moléculas de ácido nucleico y de polipéptidos. Por ejemplo, pueden realizarse sustituciones de nucleótidos que no afecten el polipéptido codificado por el ácido nucleico, y por consiguiente está contemplada cualquier molécula de ácido nucleico que codifique un antígeno reactivo en suero hiperinmune o sus fragmentos.

20 Además, cualquiera de las moléculas de ácido nucleico que codifican antígenos reactivos en suero hiperinmune o sus fragmentos proporcionados por la presente invención pueden unirse de manera funcional, usando técnicas convencionales tales como las técnicas de clonación, a cualquier secuencia reguladora deseada, ya sea una secuencia reguladora de *S. pyogenes* o una secuencia reguladora heteróloga, una secuencia líder heteróloga, una secuencia marcadora heteróloga o una secuencia codificadora heteróloga para crear una proteína de fusión.

25 Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención pueden estar en la forma de ARN, tal como ARNm o ARNc, o en la forma de ADN, incluidos, por ejemplo, el ADNc y al ADN genómico obtenido por clonación o producido por técnicas de síntesis química o por una combinación de las mismas. El ADN puede ser de triple hebra, doble hebra o de hebra única. El ADN de hebra única puede ser la hebra codificadora, conocida también como la hebra sentido, o puede ser la hebra no codificadora, también denominada hebra complementaria o antisentido.

30 La presente invención se refiere además a variantes de las moléculas de ácido nucleico descritas anteriormente en el presente documento que codifican fragmentos, análogos y derivados de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos que tienen una secuencia de aminoácidos deducida de *S. pyogenes* presentada en el listado de secuencias. Una variante de la molécula de ácido nucleico puede ser una variante que se presenta en la naturaleza tal como una variante alélica que se presenta en la naturaleza, o puede ser una variante que no se sabe que se presente en la naturaleza. Tales variantes de la molécula de ácido nucleico que no se presentan en la naturaleza pueden producirse por técnicas de mutagénesis, incluidas las aplicadas a moléculas de ácido nucleico, células y organismos.

35 Entre las variantes en este aspecto están las variantes que difieren de las moléculas de ácido nucleico mencionadas anteriormente por sustituciones, deleciones o adiciones del nucleótidos. Las sustituciones, deleciones o adiciones pueden implicar uno o más nucleótidos. Las variantes pueden alterarse en regiones codificadoras o no codificadoras o en ambas. Las alteraciones en las regiones codificadoras pueden producir sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras. Resultan de preferencia las moléculas de ácido nucleico que codifican una variante, un análogo, un derivado o fragmento, o una variante, análogo o derivado de un fragmento, que tiene una secuencia de *S. pyogenes* según se presenta en el listado de secuencias, en las que están sustituidos, delecionados o añadidos, varios, unos pocos, 5 a 10, 1 a 5, 1 a 3, 2, 1 ó ningún aminoácido, en cualquier combinación. Entre éstas, resultan especialmente de preferencia las sustituciones, adiciones y deleciones silenciosas, que no alteran las propiedades y las actividades de los polipéptidos de *S. pyogenes* presentados en el listado de secuencias. También son especialmente de preferencia en este aspecto las sustituciones conservadoras.

50 Los péptidos y los fragmentos pueden incluir también epítopos modificados en los que de preferencia uno o dos de los aminoácidos de un epítipo dado están modificados o reemplazados según las reglas divulgadas en, por ejemplo {Tourdot, S. y col., 2000}, así como las secuencias de ácidos nucleicos que codifican tales epítopos modificados.

55 Está claro que también los epítopos derivados de los presentes epítopos por los intercambios de aminoácidos que mejoran, conservan o al menos no impiden significativamente la capacidad de activación de las células T de los epítopos están cubiertos por los epítopos según la presente invención. Por consiguiente los presentes epítopos también cubren los epítopos, que no contienen la secuencia original según se obtiene del *S. pyogenes*, pero provocan la misma respuesta o de preferencia una respuesta mejor de las células T. Estos epítopos se denominan “heteroclíticos”; necesitan tener una afinidad similar o de preferencia mayor para las moléculas del MHC/HLA, y necesitan la capacidad de estimular los receptores de las células T (TCR) dirigidos al epítipo original de una manera similar o, de preferencia, más potente.

60 Los epítopos heteroclíticos pueden obtenerse por medio de diseño racional, es decir considerando la contribución de residuos individuales para la unión al MHC/HLA como está descrito, por ejemplo por {Rammensee, H. y col., 1999}, combinado con un intercambio sistemático de residuos que potencialmente interactúan con los TCR y probando las secuencias resultantes con las células T dirigidas contra el epítipo original. Tal diseño es posible para un experto en la técnica sin mucha experimentación.

ES 2 330 334 T3

Otra posibilidad incluye la selección de bibliotecas de péptidos con células T dirigidas contra el epítipo original. Un modo de preferencia es la exploración posicional de las bibliotecas de péptidos sintéticos. Tales aproximaciones se han descrito en detalle por ejemplo por {Hemmer, B. y col., 1999} y las referencias presentas en el mismo.

5 Como una alternativa a los epítopos representados por las presentes secuencias de aminoácidos o epítopos heteroclíticos derivados, pueden aplicarse también sustancias que imitan estos epítopos, por ejemplo los “peptidomiméticos” o “retro-inverso-péptidos”.

10 Otro aspecto del diseño de epítopos mejorados es su formulación o modificación con sustancias que aumentan su capacidad para estimular las células T. Estas incluyen epítopos, lípidos o liposomas de células T ayudantes, o las modificaciones de preferencia como se describen en el documento WO 01/78767.

15 Otra manera de aumentar la capacidad de los epítopos para estimular las célula T es su formulación con sustancias inmunoestimuladoras, por ejemplo citocinas o quimiocinas como las interleucinas 2, 7, 12, 18, los interferones (IFN) clase I y II, especialmente el IFN-gamma, GM-CSF, TNF-alfa, fIt3-ligando y otros.

20 Según se analiza además en el presente documento con respecto a los ensayos de moléculas de ácido nucleico, por ejemplo, las moléculas de ácido nucleico de la invención según se analizaron anteriormente, pueden utilizarse como una sonda de hibridación para ARN, ADNc y ADN genómico para aislar los ADNc de longitud total y los clones genómicos que codifican los polipéptidos de la presente invención y para aislar el ADNc y los clones genómicos de otros genes que tienen una similitud de secuencia alta con las moléculas de ácido nucleico de la presente invención. Tales sondas comprenderán por lo general al menos 15 bases. De preferencia, tales sondas tendrán al menos 20, al menos 25 o al menos 30 bases, y pueden tener al menos 50 bases. Las sondas particularmente de preferencia tendrán al menos 30 bases, y tendrán 50 bases o menos, por ejemplo 30, 35, 40, 45 ó 50 bases.

25 Por ejemplo, la región codificadora de una molécula de ácido nucleico puede aislarse seleccionando una biblioteca relevante usando la secuencia de ADN conocida para sintetizar una sonda de oligonucleótidos. A continuación se usa un oligonucleótido marcado que tiene una secuencia complementaria a la de un gen de la presente invención para seleccionar una biblioteca de ADNc, de ADN genómico o de ARNm para determinar con qué miembros de la biblioteca hibrida la sonda.

30 Las moléculas de ácido nucleico y los polipéptidos pueden usarse como reactivos y materiales para el desarrollo de tratamientos y diagnósticos para enfermedades, en particular enfermedades humanas, como se analiza más en el presente documento con relación a los ensayos de moléculas de ácido nucleico, *inter alia*.

35 Las moléculas de ácido nucleico que son oligonucleótidos pueden usarse en los procedimientos del presente documento según se describe, pero de preferencia para PCR, para determinar si los genes de *S. pyogenes* identificados en el presente documento están presentes en su totalidad o en parte o no están presentes, y/o transcriptos en el tejido infectado, tal como la sangre. Se reconoce que tales secuencias también tendrán utilidad en el diagnóstico de la etapa de la infección y del tipo de infección que ha realizado el patógeno. Para este y otros objetos pueden usarse las matrices que comprenden al menos uno de los ácidos nucleicos según se describen en el presente documento.

40 Las moléculas de ácido nucleico pueden usarse para la detección de moléculas de ácido nucleico y organismos o muestras que contienen estos ácidos nucleicos. De preferencia, tal detección es para diagnóstico, de más preferencia para el diagnóstico de una enfermedad relacionada o ligada a la presencia o abundancia de *S. pyogenes*.

45 Los eucariotas (en el presente documento también “individuo(s)”), particularmente mamíferos y especialmente seres humanos, infectados con *S. pyogenes* se pueden detectarse a nivel del ADN por una diversidad de técnicas. Pueden obtenerse candidatos de preferencia para distinguir un *S. pyogenes* de otros organismos.

50 Está contemplado un procedimiento para diagnosticar la enfermedad, que se presenta a partir de la infección con *S. pyogenes*, que comprende determinar a partir de una muestra aislada u obtenida de un individuo un nivel aumentado de expresión de una molécula de ácido nucleico que tiene la secuencia de una molécula de ácido nucleico presentada en el listado de secuencias. La expresión de las moléculas de ácido nucleico puede medirse usando cualquiera de los procedimientos conocidos en la técnica para cuantificar moléculas de ácido nucleico, tales como, por ejemplo, PCR, RT-PCR, protección de RNasa, transferencia Northern, otros procedimientos de hibridación y las matrices descritas en el presente documento.

55 Aislado, según se utiliza en el presente documento, significa separado “por la mano del hombre” de su estado natural; es decir, que, si se presenta en la naturaleza, se ha cambiado o se ha eliminado de su entorno original, o ambos. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico que se presenta en la naturaleza o un polipéptido presente en la naturaleza en un organismo vivo en su estado natural no está “aislado/a”, pero la misma molécula de ácido nucleico o polipéptido separados de los materiales coexistentes de su estado natural está “aislada/o”, según se utiliza el término en el presente documento. Como parte del aislamiento o después del mismo, tales moléculas de ácido nucleico pueden unirse a otras moléculas de ácido nucleico, tales como ADN, para la mutagénesis, para formar proteínas de fusión, y para la propagación o la expresión en un huésped, por ejemplo. Las moléculas de ácido nucleico aisladas, solas o unidas a otras moléculas de ácido nucleico tales como vectores, pueden introducirse en las células huésped, en cultivo o en organismos completos. Introducidos en las células huésped en cultivo o en organismos completos, tales ADN

ES 2 330 334 T3

5 todavía pueden estar aislados, según se usa el término en el presente documento, porque no estarían en su forma o entorno presente en la naturaleza. De manera similar, las moléculas de ácido nucleico y los polipéptidos pueden presentarse en una composición, tales como las formulaciones de medios, las disoluciones para la introducción de moléculas de ácido nucleico o polipéptidos, por ejemplo, en las células, las composiciones o las disoluciones para las reacciones químicas o enzimáticas, por ejemplo, que no son composiciones que se presentan en la naturaleza y, en las mismas, siguen siendo moléculas de ácido nucleico o polipéptidos aislados/os dentro del significado de ese término según se utiliza en el presente documento.

10 Los ácidos nucleicos pueden sintetizarse químicamente. Como alternativa, los ácidos nucleicos pueden aislarse de *S. pyogenes* por medio de procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

15 También se divulga una serie completa de nuevos antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos usando el procedimiento de identificación de antígenos descrito en el presente documento. Se divulga un antígeno reactivo en suero hiperinmune que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una cualquiera de las moléculas de ácidos nucleicos descritas en el presente documento y sus fragmentos. Una serie nueva de antígenos reactivos en suero hiperinmune puede comprender secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo constituido por las secuencias de polipéptidos según se representan en Sec. ID N° 151, 154-158, 160-168, 170, 172, 174 -182, 184-185, 188-190, 193-196, 199-201, 203-204, 207-211, 213, 215-221, 223, 225-227, 231-232, 238, 241-244 y 246-300 y sus fragmentos. También se divulgan antígenos reactivos en suero hiperinmune que comprenden secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo constituido por las secuencias de polipéptidos según se representan en Sec. ID N° 214 y sus fragmentos. Los antígenos reactivos en suero hiperinmune pueden comprender secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo constituido por las secuencias de polipéptidos según se representan en Sec. ID N° 153, 186, 197-198, 205, 212, 222, 230, 234, 245 y sus fragmentos.

25 Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según se divulgan incluyen cualquier serie de polipéptidos presentada en el listado de secuencias así como los polipéptidos que tienen al menos 70% de identidad con un polipéptido presentado en el listado de secuencias, de preferencia al menos 80% u 85% de identidad con un polipéptido presentado en el listado de secuencias, y de más preferencia al menos 90% de similitud (de más preferencia al menos 90% de identidad) con un polipéptido presentado en el listado de secuencias y aún de más preferencia al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 99,5% de similitud (aún de más preferencia al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 99,5% de identidad) con un polipéptido presentado en el listado de secuencias y también incluyen porciones de tales polipéptidos conteniendo tales porciones del polipéptido generalmente al menos 4 aminoácidos y de más preferencia al menos 8, aún de más preferencia al menos 30, aún de más preferencia al menos 50 aminoácidos, por ejemplo 4, 8, 10, 20, 30, 35, 40, 45 ó 50 aminoácidos.

35 La invención también se refiere a los fragmentos, análogos y derivados de estos antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. Los términos “fragmento”, “derivado” y “análogo” cuando se refieren a un antígeno cuya secuencia de aminoácidos se presenta en el listado de secuencias, significan un polipéptido que retiene esencialmente la misma función o actividad biológica que tal antígeno reactivo en suero hiperinmune y su fragmento.

40 El fragmento, derivado o análogo de un antígeno reactivo en suero hiperinmune puede ser 1) uno en el que están sustituidos uno o más de los residuos de aminoácidos con un residuo conservado o no conservado (de preferencia un residuo de aminoácido conservado) y tales residuos de aminoácidos sustituidos pueden o no ser uno codificado por el código genético, o 2) uno en el que uno o más de los residuos de aminoácidos incluyen un grupo sustituyente, o 3) uno en el que el antígeno reactivo en suero hiperinmune maduro o su fragmento está fusionado con otro compuesto, tal como un compuesto para aumentar la semivida del antígeno reactivo en suero hiperinmune y su fragmento (por ejemplo, polietilenglicol), o 4) uno en el que los aminoácidos adicionales están fusionados con el antígeno reactivo en suero hiperinmune maduro o su fragmento, tales como una secuencia líder o secretora o una secuencia que se utiliza para la purificación del antígeno reactivo en suero hiperinmune maduro o su fragmento o una secuencia de proproteína. Se considera que tales fragmentos, derivados y análogos están dentro del alcance de los expertos en la técnica a partir de las enseñanzas del presente documento.

55 La presente invención también divulga antígenos de diferentes aislamientos de *S. pyogenes*. Tales homólogos pueden aislarse fácilmente basándose en las secuencias de los ácidos nucleicos y de aminoácidos divulgadas en el presente documento. Hasta la fecha hay distinguidos más de 80 serotipos de proteína M y el tipificado se basa en la región variable en el extremo 5' del gen *emm* (véase por ejemplo Vitali y col., 2002). Por consiguiente, puede determinarse la presencia de cualquier antígeno para cada serotipo M. Además es posible determinar la variabilidad de un antígeno particular en los diversos serotipos M como se describe para el gen *sic* (Hoe y col., 2001). La influencia de los diferentes serotipos M en el tipo de enfermedad que causan está resumido en una reciente revisión (Cunningham, 2000). En particular, pueden distinguirse dos grupos de serotipos:

- 1) Los que causan faringitis y escarlatina (por ejemplo los tipos M 1, 3, 5, 6, 14, 18, 19, 24)
- 2) Los que causan piodermia e infecciones estreptocócicas de la piel (por ejemplo los tipos M 2, 49, 57, 59, 60, 61)

ES 2 330 334 T3

Esto puede servir como base para identificar la relevancia de un antígeno para el uso como una vacuna o en general como un fármaco dirigido a una enfermedad específica.

La información por ejemplo de la página web de la CDC (<http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/emmtypes.htm>) ofrece un dendrograma que muestra la relación de diversos serotipos M. Otras referencias relevantes se encuentran en Vitali y col., *Journal of Clinical Microbiology* 40: 679-681. (2002) (procedimiento de tipificación molecular de emm), Enright y col., *Infection and Immunity* 69: 2416-2427. (2001) (procedimiento de tipificación molecular alternativo (MLST)), Hoe y col., *The Journal of Infectious Diseases* 183: 633-639. (2001) (ejemplo para la variación de un antígeno (sic) en muchos serotipos diferentes) y Cunningham, *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS* 13: 470-511. (2000) (revisión sobre la patogénesis del GAS).

Todos los tipos de emm se presentan en su totalidad y puede descargarse de la dirección anterior.

El dendrograma se construyó por el uso secuencial de la versión 10.1 del paquete de programas Wisconsin, Genetics Computes Group (GCG), los programas Pileup, Distances y Growtree de Madison. Básicamente, se usaron 22 residuos de secuencia señal más otros 83 residuos del extremo N terminal para las alineaciones que incluyeron las secuencias seleccionadas de las bases de datos. Las secuencias seleccionadas incluyen las denominaciones nuevas de emm 103-124 (descritas en la tabla a continuación) así como sus coincidencias de proteína M "clásicas" más próximas. Aunque este análisis está limitado porque los extremos C terminales están truncados arbitrariamente, este es un resultado típico ya que el dendrograma separa los grupos de secuencias de cepas M positivas para el factor de opacidad de las secuencias de cepas M negativas para el factor de opacidad. tipo de emm/denominación anterior - número de acceso de GenBank - países donde se aisló - coincidencia de secuencia de proteína M N terminal más cercana (% de identidad):

emm103/st2034 U74320 PNG, Bra, Egy, Mal, Nep, NZ, US M87 (66%)
emm104/st2034 AF056300 PNG, Egy, Mal, Nep, NZ, US M66 (72%)
emm105/st4529 AF060227 Mal, Nep, NZ, US M5 (45%)
emm106/st4532 AF077666 Mal, Egy, Iran, Nep M27G (71%)
emm107/st4264 AF163686 Mal, NZ M25 (52%)
emm108/st4547 AF052426 Mal, Bra, Egy, Ira, NZ M70 (84%) emm109/st3018 AF077667 Mal, Egy, NZ M28 (74%)
emm110/st4935 U92492 Ind, Bul, NZ, Rus, US M13 (60%)
emm111/st4973 AF128960 Ind, Bra, Nep, US M80 (40%)
emm112/stCmuk16 AF091806 Thi, Bra, Rus, US M27L/77 (59%) emm113/st2267 AF078068 NZ, Thai, Chi M13 (50%)
emm114/st2967 U50338 US, Can, Gam, NZ, PNG M73 (80%)
emm115/st2980 AF028712 US, Bra, Rus M36 (64%)
emm116/st2370 AF156180 US, Nep, NZ M52 (60%)
emm117/st436 AF058801 US M13 (59%)
emm118/st448 AF058802 US, Bra, Egy, Nep, NZ M49 (79%)
emm119/st3365 AF083874 US, Bra, Nep M52 (59%)
emm120/st1135 AF296181 Egy M56 (78%)
emm121/st1161 AF296182 Egy M64 (64%)
emm122/st1432 AF222860 Egy, Rus, Nep M18 (40%)
emm123/st6949 AF213451 Arg, US, NZM80 (68%)
st1160/emm124 AF149048 and AF018178 Egy, Mal, NZM2 (82%).

ES 2 330 334 T3

Abreviaturas: Arg, Argentina; Bra, Brasil; Bul, Bulgaria; Cab, Canadá; Chi, Chile; Egy, Egipto; Gam, Gambia; Ind, India; Ira, Irán; Mal, Malasia; Nep, Nepal; NZ, Nueva Zelanda; PNG, Papua Nueva Guinea; Thi, Tailandia; Rus, Rusia; US, Estados Unidos. %: Coincidencia de la secuencia de proteína M madura más cercana a 50 residuos predichos del extremo N terminal maduro del tipo Lancefield caracterizado serológicamente.

5

Tipos de emm y tipos de secuencias:

En muchos casos las cepas de referencia de la secuencia de emm provinieron directamente de la colección de tipos M de la Dra. Rebecca Lancefield. Tales cepas se denominan RCL.

10

Las secuencias que comienzan con “emm” indican que los aislamientos representados por este tipo han sido analizados por varios laboratorios de referencia además de los laboratorios de estreptococos de la CDC. Cada uno de los “nuevos” tipos de emm, emm94 hasta emm124 están representados por múltiples aislamientos independientes recuperados de manifestaciones graves de la enfermedad, son no tipificables por la proteína M con todas las reservas de sueros de tipificación disponibles para los laboratorios internacionales de referencia del GAS, y demuestran propiedades antifagocíticas *in vitro* al multiplicarse en sangre humana normal. Las cepas con secuencias de emm que comienzan con “st” (tipo de secuencia) todavía no han sido validadas completamente por todos los laboratorios de referencia.

15

20 *Genética del GAS:*

Desde hace mucho tiempo se sabe que el antisuero contra las cepas positivas para el factor de la opacidad del suero (SOF+) inhibe la actividad del OF de una manera específica de cepa. Por consiguiente, se analizaron regiones variables de 500-2700 bases del gen sof (factor de opacidad del suero) que representan al menos 60 genes sof distintos de cepas de GAS positivas para el factor de opacidad (y curiosamente, un homólogo encontrado comúnmente en aislamientos de emm12 negativos para OF y en la cepa de referencia emm/tipo M 12). Se encontró que las secuencias del gen sof son también notablemente variables entre las diferentes cepas de GAS, aunque usualmente están bien conservadas dentro de un tipo de emm. Las cepas importantes incluyen por consiguiente emm1, emm100, emm101, emm102, emm103, emm104, emm105, emm106, emm107, emm108, emm109, emm11, emm110, emm111, emm112, emm113, emm114, emm115, emm116, emm117, emm118, emm119, emm12, emm120, emm121, emm122, emm123, emm124, emm13L, emm14, emm15, emm17, emm18, emm19, emm2, emm22, emm23, emm24, emm25, emm26, emm27G, emm28, emm29, emm3, emm30, emm31, emm32, emm33, emm34, emm36, emm37, emm38, emm39, emm4, emm40, emm41, emm42, emm43, emm44, emm46, emm47, emm48, emm49, emm5, emm50, emm51, emm52, emm53, emm54, emm55, emm56, emm57, emm58, emm59, emm6, emm60, emm61, emm62, emm63, emm64, emm65, emm66, emm67, emm68, emm69, emm70, emm71, emm72, emm73, emm74, emm75, emm76, emm77, emm78, emm79, emm8, emm80, emm81, emm82, emm83, emm84, emm85, emm86, emm87, emm88, emm89, emm9, emm90, emm91, emm92, emm93, emm94, emm95, emm96, emm97, emm98, emm99, st1389, st1731, st1759, st1815, st1967, st1969, st1rp31, sti11014, st2037, st204, st211, st213, st2147, st1207, st245, st2460, st2461, st2463, st2904, st2911, st2917, st2926, st2940, st369, st3757, st3765, st3850, st5282, st6735, st7700, st809, st833, st854, st980584, stck249, stck401, std432, std633, stIL103, stIL62, stns292, stns554, sts104, stc1400, stc1741, stc36, stc3852, stc5344, stc5345, stc57, stc6979, stc74a, stc839, stg10, stg11, stg1389, stg166b, stg1750, stg2078, stg3390, stg4222, stg4545, stg480, stg4831, stg485, stg4974, stg5063, stg6, stg62647, stg643, stg652, stg653, stg663, stg840, stg93464, stg97, stL1376, stL1929 y stL2764.

45

Dentro de la divulgación en este aspecto están los antígenos reactivos en suero hiperinmune presentados en el listado de secuencias, las variantes, los análogos, los derivados y sus fragmentos, y las variantes, los análogos y los derivados de los fragmentos. Además, son factibles los polipéptidos de fusión que comprenden tales antígenos reactivos en suero hiperinmune, las variantes, los análogos, los derivados y sus fragmentos, y las variantes, los análogos y los derivados de los fragmentos. Tales polipéptidos y proteínas de fusión, así como las moléculas de ácido nucleico que los codifican, pueden generarse fácilmente usando las técnicas convencionales, incluidas las técnicas recombinantes convencionales para la producción y expresión de un ácido polinucleico recombinante que codifica una proteína de fusión.

50

Entre las variantes de preferencia están las que varían de una referencia por sustituciones conservadoras de aminoácidos.

55

Tales sustituciones son las que sustituyen un aminoácido dado en un polipéptido por otro aminoácido de características similares. Las sustituciones conservadoras que se observan típicamente son los reemplazos, uno por otro, entre los aminoácidos alifáticos Ala, Val, Leu e Ile; los intercambios de los residuos hidroxilo Ser y Thr, el intercambio de los residuos ácidos Asp y Glu, la sustitución entre los residuos amida Asn y Gln, el intercambio de los residuos básicos Lys y Arg y los reemplazos entre los residuos aromáticos Phe y Tyr.

60

Además particularmente de preferencia en este aspecto están las variantes, los análogos, los derivados y los fragmentos, y las variantes, los análogos y los derivados de los fragmentos, que tienen la secuencia de aminoácidos de cualquier polipéptido presentado en el listado de secuencias, en la que ningún residuo de aminoácido, varios, unos pocos, 5 a 10, 1 a 5, 1 a 3, 2 ó 1 están sustituidos, delecionados o añadidos, en cualquier combinación. Resultan especialmente de preferencia entre éstas las sustituciones, adiciones y deleciones silenciosas, que no alteran las pro-

65

ES 2 330 334 T3

5 piedades y actividades del polipéptido de la presente invención. También son especialmente de preferencia en este aspecto las sustituciones conservadoras. Los polipéptidos más altamente de preferencia son los que tienen una secuencia de aminoácidos presentada en el listado de secuencias sin sustituciones. Las sustituciones de aminoácidos específicamente adecuadas son las que están contenidas en los homólogos para las secuencias divulgadas en el listado de secuencias según la presente solicitud. Un derivado de secuencia adecuado de un antígeno o de un epítipo según se divulga en el presente documento incluye por consiguiente una o más variaciones presentes en una o más cepas o serotipos de *S. pyogenes* (de preferencia 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 intercambios de aminoácidos basados en tales variaciones homólogas). Tales antígenos comprenden secuencias que pueden ser secuencias que se presentan en la naturaleza o secuencias artificiales creadas nuevas. Estas variantes de antígenos de preferencia se basan en tales variaciones de secuencias que se presentan en la naturaleza, por ejemplo formando una “secuencia maestra” para las regiones antigénicas de los polipéptidos según la presente invención. Los ejemplos adecuados para tales variaciones o intercambios homólogos se presentan en la tabla 5 en la sección de ejemplos. Por ejemplo, una secuencia dada de *S. pyogenes* puede modificarse incluyendo una o más de tales variaciones creando de esta manera una variante artificial (es decir, que no se presenta en la naturaleza) de este antígeno dado (que se presenta en la naturaleza) o la secuencia del epítipo.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de la presente invención se proporcionan de preferencia en una forma aislada, y de preferencia se purifican hasta homogeneidad.

20 Son posibles los polipéptidos que comprenden fragmentos de los polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos presentada en el listado de secuencias, y los fragmentos de variantes y los derivados de los polipéptidos presentados en el listado de secuencias. En este aspecto, un fragmento es un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es enteramente la misma que parte, pero no toda la secuencia de aminoácidos del antígeno reactivo en suero hiperinmune mencionado anteriormente y su fragmento, y sus variantes o derivados, análogos y fragmentos. 25 Tales fragmentos pueden ser “independientes”, es decir, pueden no ser parte o pueden no estar fusionados a otros aminoácidos o polipéptidos, o pueden estar comprendidos dentro de un polipéptido más grande del que forman una parte o una región. También resultan de preferencia en este aspecto los fragmentos caracterizados por los atributos estructurales o funcionales del polipéptido de la presente invención, es decir los fragmentos que comprenden la hélice alfa y las regiones que forman la hélice alfa, la lámina beta y las regiones que forman la lámina beta, giros y las regiones que forman giros, enrollamientos y las regiones que forman enrollamientos, regiones hidrófilas, regiones hidrófobas, regiones alfa anfipáticas, regiones beta anfipáticas, regiones flexibles, regiones que forman la superficie, regiones de unión al sustrato y regiones de índice antigénico alto del polipéptido de la presente invención, y las combinaciones de tales fragmentos. Las regiones de preferencia son las que median las actividades de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de la presente invención. Los más altamente de preferencia en este aspecto son los 30 fragmentos que tienen una actividad química, biológica u otra actividad del antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos de la presente invención, incluidos los que tienen una actividad similar o una actividad mejorada, o con una actividad indeseable disminuida. Son particularmente de preferencia los fragmentos que comprenden receptores o dominios de enzimas que confieren una función esencial para la viabilidad del *S. pyogenes* o la capacidad para causar enfermedad en los seres humanos. Otros fragmentos de polipéptidos de preferencia son los que comprenden o contienen determinantes antigénicos o inmunogénicos en un animal, especialmente en un ser humano.

Un fragmento antigénico se define como un fragmento del antígeno identificado que es por sí mismo antigénico o puede convertirse en antigénico cuando se proporciona como un hapteno. Por consiguiente, también los antígenos o fragmentos antigénicos que muestran uno o (para fragmentos más largos) solamente unos pocos intercambios de aminoácidos están permitidos con la presente invención, a condición de que las capacidades antigénicas de tales fragmentos con los intercambios de aminoácidos no se deterioren gravemente en el(los) intercambio(s), es decir, que sean adecuados para provocar una respuesta inmune apropiada en un individuo vacunado con este antígeno y sean identificados por las preparaciones de anticuerpos del individuo a partir del suero del individuo.

50 Los ejemplos contemplados de fragmentos de un antígeno reactivo en suero hiperinmune se seleccionan del grupo constituido por las secuencias de aminoácidos de la columna “aa inmunogénicos predichos” y “localización de la región inmunogénica identificada” de la Tabla 1; los epítipos reactivos al suero de la Tabla 2, en especial los péptidos que comprenden los aminoácidos 4-44, 57-65, 67-98, 101-107, 109-125, 131-144, 146-159, 168-173, 181-186, 191-200, 206-213, 229-245, 261-269, 288-301, 304-317, 323-328, 350-361, 374-384, 388-407, 416-425 y 1-114 de Sec. ID N° 151; 5-17, 49-64, 77-82, 87-98, 118-125, 127-140, 142-150, 153-159, 191-207, 212-218, 226-270, 274-287, 297-306, 325-331, 340-347, 352-369, 377-382, 390-395 y 29-226 de Sec. ID N° 152; 4-16, 20-26, 32-74, 76-87, 93-108, 116-141, 148-162, 165-180, 206-219, 221-228, 230-236, 239-245, 257-268, 313-328, 330-335, 353-359, 367-375, 394-403, 414-434, 437-444, 446-453, 456-464, 478-487, 526-535, 541-552, 568-575, 577-584, 589-598, 610-618, 624-643, 653-665, 667-681, 697-718, 730-748, 755-761, 773-794, 806-821, 823-831, 837-845, 862-877, 879-889, 896-919, 924-930, 935-940, 947-955, 959-964, 969-986, 991-1002, 1012-1036, 1047-1056, 1067-1073, 1079-1085, 1088-1111, 1130-1135, 1148-1164, 1166-1173, 1185-1192, 1244-1254 y 919-929 de Sec. ID N° 153; 5-44, 62-74, 78-83, 99-105, 107-113, 124-134, 161-174, 176-194, 203-211, 216-237, 241-247, 253-266, 272-299, 323-349, 353-360 y 145-305 de Sec. ID N° 154; 15-39, 52-61, 72-81, 92-97 y 71-81 de Sec. ID N° 155; 13-19, 21-31, 40-108, 115-122, 125-140, 158-180, 187-203, 210-223, 235-245 y 173-186 de Sec. ID N° 156; 5-12, 19-27, 29-39, 59-67, 71-78, 80-88, 92-104, 107-124, 129-142, 158-168, 185-191, 218-226, 230-243, 256-267, 272-277, 283-291, 307-325, 331-344, 346-352 y 316-331 de Sec. ID N° 157; 6-28, 43-53, 60-76, 93-103 y 21-99 de Sec. ID N° 158; 10-30, 120-126, 145-151, 159-169, 174-182, 191-196, 201-206, 214-220, 222-232, 254-272, 292-307, 313-323, 332-353, 361-369, 389-396, 401-415, 428-439, 465-481, 510-517, 560-568 y 9-264 de Sec. ID N° 159; 5-29, 39-45, 107-128 y 1-112

ES 2 330 334 T3

de Sec. ID N° 160; 4-38, 42-50, 54-60, 65-71, 91-102 y 21-56 de Sec. ID N° 161; 4-13, 19-25, 41-51, 54-62, 68-75, 79-89, 109-122, 130-136, 172-189, 192-198, 217-224, 262-268, 270-276, 281-298, 315-324, 333-342, 353-370, 376-391 y 23-39 de Sec. ID N° 162; 6-41, 49-58, 62-103, 117-124, 147-166, 173-194, 204-211, 221-229, 255-261, 269-284, 288-310, 319-325, 348-380, 383-389, 402-410, 424-443, 467-479, 496-517, 535-553, 555-565, 574-581, 583-591 y 474-489 de Sec. ID N° 163; 8-35, 52-57, 66-73, 81-88, 108-114, 125-131, 160-167, 174-180, 230-235, 237-249, 254-262, 278-285, 308-314, 321-326, 344-353, 358-372, 376-383, 393-411, 439-446, 453-464, 471-480, 485-492, 502-508, 523-529, 533-556, 558-563, 567-584, 589-597, 605-619, 625-645, 647-666, 671-678, 690-714, 721-728, 741-763, 766-773, 777-787, 792-802, 809-823, 849-864 y 37-241, 409-534, 582-604, 743-804 de Sec. ID N° 164; 4-17, 24-36, 38-44, 59-67, 72-90, 92-121, 126-149, 151-159, 161-175, 197-215, 217-227, 241-247, 257-264, 266-275, 277-284, 293-307, 315-321, 330-337, 345-350, 357-366, 385-416 y 202-337 de Sec. ID N° 165; 4-20, 22-46, 49-70, 80-89, 96-103, 105-119, 123-129, 153-160, 181-223, 227-233, 236-243, 248-255, 261-269, 274-279, 283-299, 305-313, 315-332, 339-344, 349-362, 365-373, 380-388, 391-397, 402-407 y 1-48 de Sec. ID N° 166; 18-37, 41-63, 100-106, 109-151, 153-167, 170-197, 199-207, 212-229, 232-253, 273-297 y 203-217 de Sec. ID N° 167; 20-26, 54-61, 80-88, 94-101, 113-119, 128-136, 138-144, 156-188, 193-201, 209-217, 221-229, 239-244, 251-257, 270-278, 281-290, 308-315, 319-332, 339-352, 370-381, 388-400, 411-417, 426-435, 468-482, 488-497, 499-506, 512-521 y 261-273 de Sec. ID N° 168; 6-12, 16-36, 50-56, 86-92, 115-125, 143-152, 163-172, 193-203, 235-244, 280-289, 302-315, 325-348, 370-379, 399-405, 411-417, 419-429, 441-449, 463-472, 482-490, 500-516, 536-543, 561-569, 587-594, 620-636, 647-653, 659-664, 677-685, 687-693, 713-719, 733-740, 746-754, 756-779, 792-799, 808-817, 822-828, 851-865, 902-908, 920-938, 946-952, 969-976, 988-1005, 1018-1027, 1045-1057, 1063-1069, 1071-1078, 1090-1099, 1101-1109, 1113-1127, 1130-1137, 1162-1174, 1211-1221, 1234-1242, 1261-1268, 1278-1284, 1312-1317, 1319-1326, 1345-1353, 1366-1378, 1382-1394, 1396-1413, 1415-1424, 1442-1457, 1467-1474, 1482-1490, 1492-1530, 1537-1549, 1559-1576, 1611-1616, 1624-1641 y 1-414, 443-614, 997-1392 de Sec. ID N° 169; 14-42, 70-75, 90-100, 158-181 y 1-164 de Sec. ID N° 170; 4-21, 30-36, 54-82, 89-97, 105-118, 138-147 y 126-207 de Sec. ID N° 171; 4-21, 31-66, 96-104, 106-113, 131-142 y 180-204 de Sec. ID N° 172; 5-23, 31-36, 38-55, 65-74, 79-88, 101-129, 131-154, 156-165, 183-194, 225-237, 245-261, 264-271, 279-284, 287-297, 313-319, 327-336, 343-363, 380-386 y 11-197, 204-219, 258-372 de Sec. ID N° 173; 4-20, 34-41, 71-86, 100-110, 113-124, 133-143, 150-158, 160-166, 175-182, 191-197, 213-223, 233-239, 259-278, 298-322 y 195-289 de Sec. ID N° 174; 4-10, 21-35, 44-52, 54-62, 67-73, 87-103, 106-135, 161-174, 177-192, 200-209, 216-223, 249-298, 304-312, 315-329 y 12-130 de Sec. ID N° 175; 10-27, 33-38, 48-55, 70-76, 96-107, 119-133, 141-147, 151-165, 183-190, 197-210, 228-236, 245-250, 266-272, 289-295, 297-306, 308-315, 323-352, 357-371, 381-390, 394-401, 404-415, 417-425, 427-462, 466-483, 485-496, 502-507, 520-529, 531-541, 553-570, 577-588, 591-596, 600-610, 619-632, 642-665, 671-692, 694-707 y 434-444 de Sec. ID N° 176; 6-14, 16-25, 36-46, 52-70, 83-111, 129-138, 140-149, 153-166, 169-181, 188-206, 212-220, 223-259, 261-269, 274-282, 286-293, 297-306, 313-319, 329-341, 343-359, 377-390, 409-415, 425-430 y 360-375 de Sec. ID N° 177; 4-26, 28-48, 54-62, 88-121, 147-162, 164-201, 203-237, 245-251 y 254-260 de Sec. ID N° 178; 12-21, 26-32, 66-72, 87-93, 98-112, 125-149, 179-203, 209-226, 233-242, 249-261, 266-271, 273-289, 293-318, 346-354, 360-371, 391-400 y 369-382 de Sec. ID N° 179; 11-38, 44-65, 70-87, 129-135, 140-163, 171-177, 225-232, 238-249, 258-266, 271-280, 284-291, 295-300, 329-337, 344-352, 405-412, 416-424, 426-434, 436-455, 462-475, 478-487 y 270-312 de Sec. ID N° 180; 5-17, 34-45, 59-69, 82-88, 117-129, 137-142, 158-165, 180-195, 201-206, 219-226, 241-260, 269-279, 292-305, 312-321, 341-347, 362-381, 396-410, 413-432, 434-445, 447-453, 482-487, 492-499, 507-516, 546-552, 556-565, 587-604 y 486-598 de Sec. ID N° 181; 4-15, 17-32, 40-47, 67-78, 90-98, 101-107, 111-136, 161-171, 184-198, 208-214, 234-245, 247-254, 272-279, 288-298, 303-310, 315-320, 327-333, 338-349, 364-374 y 378-396 de Sec. ID N° 182; 5-27, 33-49, 51-57, 74-81, 95-107, 130-137, 148-157, 173-184 y 75-235 de Sec. ID N° 183; 6-23, 47-53, 57-63, 75-82, 97-105, 113-122, 124-134, 142-153, 159-164, 169-179, 181-187, 192-208, 215-243, 247-257, 285-290, 303-310 y 30-51 de Sec. ID N° 184; 17-29, 44-52, 59-73, 77-83, 86-92, 97-110, 118-153, 156-166, 173-179, 192-209, 225-231, 234-240, 245-251, 260-268, 274-279, 297-306, 328-340, 353-360, 369-382, 384-397, 414-423, 431-436, 452-465, 492-498, 500-508, 516-552, 554-560, 568-574, 580-586, 609-617, 620-626, 641-647 y 208-219 de Sec. ID N° 185; 4-26, 32-45, 58-72, 111-119, 137-143, 146-159, 187-193, 221-231, 235-242, 250-273, 290-304, 311-321, 326-339, 341-347, 354-368, 397-403, 412-419, 426-432, 487-506, 580-592, 619-628, 663-685, 707-716, 743-751, 770-776, 787-792, 850-859, 866-873, 882-888, 922-931, 957-963, 975-981, 983-989, 1000-1008, 1023-1029, 1058-1064, 1089-1099, 1107-1114, 1139-1145, 1147-1156, 1217-1226, 1276-1281, 1329-1335, 1355-1366, 1382-1394, 1410-1416, 1418-1424, 1443-1451, 1461-1469, 1483-1489, 1491-1501, 1515-1522, 1538-1544, 1549-1561, 1587-1593, 1603-1613, 1625-1630, 1636-1641, 1684-1690, 1706-1723, 1765-1771, 1787-1804, 1850-1857, 1863-1894, 1897-1910, 1926-1935, 1937-1943, 1960-1983, 1991-2005, 2008-2014, 2018-2039 y 396-533, 1342-1502, 1672-1920 de Sec. ID N° 186; 4-25, 45-50, 53-65, 79-85, 87-92, 99-109, 126-137, 141-148, 156-183, 190-203, 212-217, 221-228, 235-242, 247-277, 287-293, 300-319, 321-330, 341-361, 378-389, 394-406, 437-449, 455-461, 472-478, 482-491, 507-522, 544-554, 576-582, 587-593, 611-621, 626-632, 649-661, 679-685, 696-704, 706-716, 726-736, 740-751, 759-766, 786-792, 797-802, 810-822, 824-832, 843-852, 863-869, 874-879, 882-905 y 1-113, 210-232, 250-423, 536-564 de Sec. ID N° 187; 4-16, 33-39, 43-49, 54-85, 107-123, 131-147, 157-169, 177-187, 198-209, 220-230, 238-248, 277-286, 293-301, 303-315, 319-379, 383-393, 402-414, 426-442, 439-449, 470-478, 483-497, 502-535, 552-566, 571-582, 596-601, 608-620, 631-643, 651-656, 663-678, 680-699, 705-717, 724-732, 738-748, 756-763, 766-772, 776-791, 796-810, 819-827, 829-841, 847-861, 866-871, 876-882, 887-894, 909-934, 941-947, 957-969, 986-994, 998-1028, 1033-1070, 1073-1080, 1090-1096, 1098-1132, 1134-1159, 1164-1172, 1174-1201 y 617-635 de Sec. ID N° 188; 7-25, 30-40, 42-64, 70-77, 85-118, 120-166, 169-199, 202-213, 222-244 y 190-203 de Sec. ID N° 189; 4-11, 15-53, 55-93, 95-113, 120-159, 164-200, 210-243, 250-258, 261-283, 298-319, 327-340, 356-366, 369-376, 380-386, 394-406, 409-421, 425-435, 442-454, 461-472, 480-490, 494-505, 507-514, 521-527, 533-544, 566-574 y 385-398 de Sec. ID N° 190; 5-36, 66-72, 120-127, 146-152, 159-168, 172-184, 205-210, 221-232, 234-243, 251-275, 295-305, 325-332, 367-373, 470-479, 482-487, 520-548, 592-600, 605-615, 627-642, 655-662, 664-698, 718-725, 734-763, 776-784, 798-809, 811-842, 845-852, 867-872, 879-888, 900-928, 933-940, 972-977, 982-1003 y 12-190, 276-

ES 2 330 334 T3

283, 666-806 de Sec. ID N° 191; 4-38, 63-68, 100-114, 160-173, 183-192, 195-210, 212-219, 221-238, 240-256, 258-266, 274-290, 301-311, 313-319, 332-341, 357-363, 395-401, 405-410, 420-426, 435-450, 453-461, 468-475, 491-498, 510-518, 529-537, 545-552, 585-592, 602-611, 634-639, 650-664 y 30-80, 89-105, 111-151 de Sec. ID N° 192; 7-29, 31-39, 47-54, 63-74, 81-94, 97-117, 122-127, 146-157, 168-192, 195-204, 216-240, 251-259 y 195-203 de Sec. ID N° 193; 5-16, 28-34, 46-65, 79-94, 98-105, 107-113, 120-134, 147-158, 163-172, 180-186, 226-233, 237-251, 253-259, 275-285, 287-294, 302-308, 315-321, 334-344, 360-371, 399-412, 420-426 y 32-50 de Sec. ID N° 194; 8-20, 30-36, 71-79, 90-96, 106-117, 125-138, 141-147, 166-174 y 75-90 de Sec. ID N° 195; 4-13, 15-33, 43-52, 63-85, 98-114, 131-139, 146-174, 186-192, 198-206, 227-233 y 69-88 de Sec. ID N° 196; 4-22, 29-35, 59-68, 153-170, 213-219, 224-238, 240-246, 263-270, 285-292, 301-321, 327-346, 356-371, 389-405, 411-418, 421-427, 430-437, 450-467, 472-477, 482-487, 513-518, 531-538, 569-576, 606-614, 637-657, 662-667, 673-690, 743-753, 760-767, 770-777, 786-802 y 96-230, 361-491, 572-585 de Sec. ID N° 197; 4-12, 21-36, 48-55, 74-82, 121-127, 195-203, 207-228, 247-262, 269-278, 280-289 y 102-210 de Sec. ID N° 198; 13-20, 23-31, 38-44, 78-107, 110-118, 122-144, 151-164, 176-182, 190-198, 209-216, 219-243, 251-256, 289-304, 306-313 y 240-248 de Sec. ID N° 199; 5-26, 34-48, 57-77, 84-102, 116-132, 139-145, 150-162, 165-173, 176-187, 192-205, 216-221, 234-248, 250-260 y 182-198 de Sec. ID N° 200; 10-19, 26-44, 53-62, 69-87, 90-96, 121-127, 141-146, 148-158, 175-193, 204-259, 307-313, 334-348, 360-365, 370-401, 411-439, 441-450, 455-462, 467-472, 488-504 y 41-56 de Sec. ID N° 201; 5-21, 36-42, 96-116, 123-130, 138-144, 146-157, 184-201, 213-228, 252-259, 277-297, 308-313, 318-323, 327-333 y 202-217 de Sec. ID N° 202; 6-26, 33-51, 72-90, 97-131, 147-154, 164-171, 187-216, 231-236, 260-269, 275-283 y 1-127 de Sec. ID N° 203; 4-22, 24-38, 44-58, 72-88, 99-108, 110-117, 123-129, 131-137, 142-147, 167-178, 181-190, 206-214, 217-223, 271-282, 290-305, 320-327, 329-336, 343-352, 354-364, 396-402, 425-434, 451-456, 471-477, 485-491, 515-541, 544-583, 595-609, 611-626, 644-656, 660-681, 683-691, 695-718 y 297-458 de Sec. ID N° 204; 5-43, 92-102, 107-116, 120-130, 137-144, 155-163, 169-174, 193-213 y 24-135 de Sec. ID N° 205; 4-25, 61-69, 73-85, 88-95, 97-109, 111-130, 135-147, 150-157, 159-179, 182-201, 206-212, 224-248, 253-260, 287-295, 314-331, 338-344, 365-376, 396-405, 413-422, 424-430, 432-449, 478-485, 487-494, 503-517, 522-536, 544-560, 564-578, 585-590, 597-613, 615-623, 629-636, 640-649, 662-671, 713-721 y 176-330 de Sec. ID N° 206; 31-37, 41-52, 58-79, 82-105, 133-179, 184-193, 199-205, 209-226, 256-277, 281-295, 297-314, 322-328, 331-337, 359-367, 379-395, 403-409, 417-432, 442-447, 451-460, 466-472 y 46-62, 296-341 de Sec. ID N° 207; 23-29, 56-63, 67-74, 96-108, 122-132, 139-146, 152-159, 167-178, 189-196, 214-231, 247-265, 274-293, 301-309, 326-332, 356-363, 378-395, 406-412, 436-442, 445-451, 465-479, 487-501, 528-555, 567-581, 583-599, 610-617, 622-629, 638-662, 681-686, 694-700, 711-716 y 667-684 de Sec. ID N° 208; 20-51, 53-59, 109-115, 140-154, 185-191, 201-209, 212-218, 234-243, 253-263, 277-290, 303-313, 327-337, 342-349, 374-382, 394-410, 436-442, 464-477, 486-499, 521-530, 536-550, 560-566, 569-583, 652-672, 680-686, 698-704, 718-746, 758-770, 774-788, 802-827, 835-842, 861-869 y 258-416 de Sec. ID N° 209; 7-25, 39-45, 59-70, 92-108, 116-127, 161-168, 202-211, 217-227, 229-239, 254-262, 271-278, 291-300 y 178-295 de Sec. ID N° 210; 4-20, 27-33, 45-51, 53-62, 66-74, 81-88, 98-111, 124-130, 136-144, 156-179, 183-191 y 283-195 de Sec. ID N° 211; 12-24, 27-33, 43-49, 55-71, 77-85, 122-131, 168-177, 179-203, 209-214, 226-241 y 63-238 de Sec. ID N° 212; 4-19, 37-50, 120-126, 131-137, 139-162, 177-195, 200-209, 211-218, 233-256, 260-268, 271-283, 288-308 y 1-141 de Sec. ID N° 213; 11-17, 40-47, 57-63, 96-124, 141-162, 170-207, 223-235, 241-265, 271-277, 281-300, 312-318, 327-333, 373-379 y 231-368 de Sec. ID N° 214; 9-33, 41-48, 57-79, 97-103, 113-138, 146-157, 165-186, 195-201, 209-215, 223-229, 237-247, 277-286, 290-297, 328-342 y 247-260 de Sec. ID N° 215; 7-15, 39-45, 58-64, 79-84, 97-127, 130-141, 163-176, 195-203, 216-225, 235-247, 254-264, 271-279 y 64-72 de Sec. ID N° 216; 4-12, 26-42, 46-65, 73-80, 82-94, 116-125, 135-146, 167-173, 183-190, 232-271, 274-282, 300-306, 320-343, 351-362, 373-383, 385-391, 402-409, 414-426, 434-455, 460-466, 473-481, 485-503, 519-525, 533-542, 554-565, 599-624, 645-651, 675-693, 717-725, 751-758, 767-785, 792-797, 801-809, 819-825, 831-836, 859-869, 890-897 y 222-362, 756-896 de Sec. ID N° 217; 11-17, 22-28, 52-69, 73-83, 86-97, 123-148, 150-164, 166-177, 179-186, 188-199, 219-225, 229-243, 250-255 y 153-170 de Sec. ID N° 218; 4-61, 71-80, 83-90, 92-128, 133-153, 167-182, 184-192, 198-212 y 56-73 de Sec. ID N° 219; 4-19, 26-37, 45-52, 58-66, 71-77, 84-92, 94-101, 107-118, 120-133, 156-168, 170-179, 208-216, 228-238, 253-273, 280-296, 303-317, 326-334 y 298-312 de Sec. ID N° 220; 7-13, 27-35, 38-56, 85-108, 113-121, 123-160, 163-169, 172-183, 188-200, 206-211, 219-238, 247-254 y 141-157 de Sec. ID N° 221; 23-39, 45-73, 86-103, 107-115, 125-132, 137-146, 148-158, 160-168, 172-179, 185-192, 200-207, 210-224, 233-239, 246-255, 285-334, 338-352, 355-379, 383-389, 408-417, 423-429, 446-456, 460-473, 478-503, 522-540, 553-562, 568-577, 596-602, 620-636, 640-649, 655-663 y 433-440, 572-593 de Sec. ID N° 222; 4-42, 46-58, 64-76, 118-124, 130-137, 148-156, 164-169, 175-182, 187-194, 203-218, 220-227, 241-246, 254-259, 264-270, 275-289, 296-305, 309-314, 322-334, 342-354, 398-405, 419-426, 432-443, 462-475, 522-530, 552-567, 593-607, 618-634, 636-647, 653-658, 662-670, 681-695, 698-707, 709-720, 732-742, 767-792, 794-822, 828-842, 851-866, 881-890, 895-903, 928-934, 940-963, 978-986, 1003-1025, 1027-1043, 1058-1075, 1080-1087, 1095-1109, 1116-1122, 1133-1138, 1168-1174, 1179-1186, 1207-1214, 1248-1267 y 17-319, 417-563 de Sec. ID N° 223; 6-19, 23-33, 129-138, 140-150, 153-184, 190-198, 206-219, 235-245, 267-275, 284-289, 303-310, 322-328, 354-404, 407-413, 423-446, 453-462, 467-481, 491-500 y 46-187 de Sec. ID N° 224; 4-34, 39-57, 78-86, 106-116, 141-151, 156-162, 165-172, 213-237, 252-260, 262-268, 272-279, 296-307, 332-338, 397-403, 406-416, 431-446, 448-453, 464-470, 503-515, 519-525, 534-540, 551-563, 578-593, 646-668, 693-699, 703-719, 738-744, 748-759, 771-777, 807-813, 840-847, 870-876, 897-903, 910-925, 967-976, 979-992 y 21-244, 381-499, 818-959 de Sec. ID N° 225; 19-29, 65-75, 90-109, 111-137, 155-165, 169-175 y 118-136 de Sec. ID N° 226; 15-20, 30-36, 55-63, 73-79, 90-117, 120-127, 136-149, 166-188, 195-203, 211-223, 242-255, 264-269, 281-287, 325-330, 334-341, 348-366, 395-408, 423-429, 436-444, 452-465 y 147-155 de Sec. ID N° 227; 11-18, 21-53, 77-83, 91-98, 109-119, 142-163, 173-181, 193-208, 216-227, 238-255, 261-268, 274-286, 290-297, 308-315, 326-332, 352-359, 377-395, 399-406, 418-426, 428-438, 442-448, 458-465, 473-482, 488-499, 514-524, 543-553, 564-600, 623-632, 647-654, 660-669, 672-678, 710-723, 739-749, 787-793, 820.-_828, 838-860, 889-895, 901-907, 924-939, 956-962, 969-976, 991-999, 1012-1018, 1024-1029, 1035-1072, 1078-1091, 1142-1161 y 74-438 de Sec. ID N° 228; 4-31, 41-52, 58-63, 65-73, 83-88, 102-117, 123-130, 150-172, 177-195, 207-217, 222-235, 247-253, 295-

ES 2 330 334 T3

305, 315-328, 335-342, 359-365, 389-394, 404-413 y 156-420 de Sec. ID N° 229; 4-42, 56-69, 98-108, 120-125, 210-216, 225-231, 276-285, 304-310, 313-318, 322-343 y 79-348 de Sec. ID N° 230; 12-21, 24-30, 42-50, 61-67, 69-85, 90-97, 110-143, 155-168 y 53-70 de Sec. ID N° 231; 4-26, 41-54, 71-78, 88-96, 116-127, 140-149, 151-158, 161-175, 190-196, 201-208, 220-226, 240-247, 266-281, 298-305, 308-318, 321-329, 344-353, 370-378, 384-405, 418-426, 429-442, 457-463, 494-505, 514-522 y 183-341 de Sec. ID N° 232; 4-27, 69-77, 79-101, 117-123, 126-142, 155-161, 171-186, 200-206, 213-231, 233-244, 258-263, 269-275, 315-331, 337-346, 349-372, 376-381, 401-410, 424-445, 447-455, 463-470, 478-484, 520-536, 546-555, 558-569, 580-597, 603-618, 628-638, 648-660, 668-683, 717-723, 765-771, 781-788, 792-806, 812-822 y 92-231, 618-757 de Sec. ID N° 233; 11-47, 63-75, 108-117, 119-128, 133-143, 171-185, 190-196, 226-232, 257-264, 278-283, 297-309, 332-338, 341-346, 351-358, 362-372 y 41-170 de Sec. ID N° 234; 6-26, 50-56, 83-89, 108-114, 123-131, 172-181, 194-200, 221-238, 241-259, 263-271, 284-292, 304-319, 321-335, 353-358, 384-391, 408-417, 424-430, 442-448, 459-466, 487-500, 514-528, 541-556, 572-578, 595-601, 605-613, 620-631, 634-648, 660-679, 686-693, 702-708, 716-725, 730-735, 749-755, 770-777, 805-811, 831-837, 843-851, 854-860, 863-869, 895-901, 904-914, 922-929, 933-938, 947-952, 956-963, 1000-1005, 1008-1014, 1021-1030, 1131-1137, 1154-1164, 1166-1174 y 20-487, 757-1153 de Sec. ID N° 235; 10-34, 67-78, 131-146, 160-175, 189-194, 201-214, 239-250, 265-271, 296-305 y 26-74, 91-100, 105-303 de Sec. ID N° 236; 9-15, 19-32, 109-122, 143-150, 171-180, 186-191, 209-217, 223-229, 260-273, 302-315, 340-346, 353-359, 377-383, 389-406, 420-426, 460-480 y 10-223, 231-251, 264-297, 312-336 de Sec. ID N° 237; 5-28, 76-81, 180-195, 203-209, 211-219, 227-234, 242-252, 271-282, 317-325, 350-356, 358-364, 394-400, 405-413, 417-424, 430-436, 443-449, 462-482, 488-498, 503-509, 525-537 y 22-344 de Sec. ID N° 238; 5-28, 42-54, 77-83, 86-93, 98-104, 120-127, 145-159, 166-176, 181-187, 189-197, 213-218, 230-237, 263-271, 285-291, 299-305, 326-346, 368-375, 390-395 y 1-151 de Sec. ID N° 239; 6-34, 48-55, 58-64, 84-101, 121-127, 143-149, 153-159, 163-170, 173-181, 216-225, 227-240, 248-254, 275-290, 349-364, 375-410, 412-418, 432-438, 445-451, 465-475, 488-496, 505-515, 558-564, 571-579, 585-595, 604-613, 626-643, 652-659, 677-686, 688-696, 702-709, 731-747, 777-795, 820-828, 836-842, 845-856, 863-868, 874-882, 900-909, 926-943, 961-976, 980-986, 992-998, 1022-1034, 1044-1074, 1085-1096, 1101-1112, 1117-1123, 1130-1147, 1181-1187, 1204-1211, 1213-1223, 1226-1239, 1242-1249, 1265-1271, 1273-1293, 1300-1308, 1361-1367, 1378-1384, 1395-1406, 1420-1428, 1631-1637, 1648-1654, 1675-1689, 1692-1698, 1700-1706, 1712-1719, 1743-1756 y 91-263 de Sec. ID N° 240; 4-16, 75-90, 101-136, 138-144, 158-164, 171-177, 191-201, 214-222, 231-241, 284-290, 297-305, 311-321, 330-339, 352-369, 378-385, 403-412, 414-422, 428-435, 457-473, 503-521, 546-554, 562-568, 571-582, 589-594, 600-608, 626-635, 652-669, 687-702, 706-712, 718-724, 748-760, 770-775 y 261-272 de Sec. ID N° 241; 4-19, 30-41, 46-57, 62-68, 75-92, 126-132, 149-156, 158-168, 171-184, 187-194, 210-216, 218-238, 245-253, 306-312, 323-329, 340-351, 365-373, 384-391, 399-405, 422-432, 454-465, 471-481, 502-519, 530-541, 550-562, 566-572, 576-582, 593-599, 620-634, 637-643, 645-651, 657-664, 688-701 y 541-551 de Sec. ID N° 242; 6-11, 17-25, 53-58, 80-86, 91-99, 101-113, 123-131, 162-169, 181-188, 199-231, 245-252 y 84-254 de Sec. ID N° 243; 13-30, 71-120, 125-137, 139-145, 184-199 y 61-78 de Sec. ID N° 244; 9-30, 38-53, 63-70, 74-97, 103-150, 158-175, 183-217, 225-253, 260-268, 272-286, 290-341, 352-428, 434-450, 453-460, 469-478, 513-525, 527-534, 554-563, 586-600, 602-610, 624-640, 656-684, 707-729, 735-749, 757-763, 766-772, 779-788, 799-805, 807-815, 819-826, 831-855 y 568-580 de Sec. ID N° 245; 11-21, 29-38 y 5-17 de Sec. ID N° 246; 2-9 de Sec. ID N° 247; 4-10, 16-28 y 7-18, 26-34 de Sec. ID N° 248; 10-16 y 1-15 de Sec. ID N° 249; 4-11 de Sec. ID N° 250; 4-40, 42-51 y de Sec. ID N° 251; 4-21 y 22-29 de Sec. ID N° 252; 2-11 Sec. ID N° 253; 9-17, 32-44 y 1-22 de Sec. ID N° 254; 19-25, 27-32 y 15-34 de Sec. ID N° 255; 4-12, 15-22 y 11-33 de Sec. ID N° 256; 10-17, 24-30, 39-46, 51-70 y 51-61 de Sec. ID N° 257; 6-19 de Sec. ID N° 258; 6-11, 21-27, 31-54 y 11-29 de Sec. ID N° 259; 4-10, 13-45 y 11-35 de Sec. ID N° 260; 4-14, 23-32 y 11-35 de Sec. ID N° 261; 14-39, 45-51 y 15-29 de Sec. ID N° 262; 4-11, 14-28 y 4-17 de Sec. ID N° 263; 4-16 y 2-16 de Sec. ID N° 264; 4-10, 12-19, 39-50 y 6-22 de Sec. ID N° 265; 2-13 de Sec. ID N° 266; 4-11, 22-65 y 3-19 de Sec. ID N° 267; 17-23, 30-35, 39-46, 57-62 y 30-49 de Sec. ID N° 268; 4-19 y 14-22 de Sec. ID N° 269; 2-9 de Sec. ID N° 270; 7-18, 30-43 y 4-12 de Sec. ID N° 271; 4-30, 39-47 y 5-22 de Sec. ID N° 272; 6-15 y 14-29 de Sec. ID N° 273; 4-34 y 23-35 de Sec. ID N° 274; 4-36, 44-57, 65-72 y 14-27 de Sec. ID N° 275; 4-18 y 11-20 de Sec. ID N° 276; 5-19 de Sec. ID N° 277; 18-36 y 6-20 de Sec. ID N° 278; 4-10, 19-34, 41-84, 96-104 y 50-63 de Sec. ID N° 279; 4-9, 19-27 y 8-21 de Sec. ID N° 280; 4-16, 18-28 y 22-30 de Sec. ID N° 281; 4-15 y 21-35 de Sec. ID N° 282; 4-17 y 3-13 de Sec. ID N° 283; 4-12 y 4-18 de Sec. ID N° 284; 4-24, 31-36 y 29-45 de Sec. ID N° 285; 12-22, 34-49 y 21-32 de Sec. ID N° 286; 4-17 y 22-32 de Sec. ID N° 287; 4-16, 25-42 y 7-28 de Sec. ID N° 288; 4-10 y 7-20 de Sec. ID N° 289; 4-11, 16-36, 39-54 y 28-44 de Sec. ID N° 290; 5-20, 29-54 y 14-29 de Sec. ID N° 291; 24-33 y 10-22 de Sec. ID N° 292; 10-51, 54-61 y 43-64 de Sec. ID N° 293; 7-13 y 2-17 de Sec. ID N° 294; 11-20 y 6-20 de Sec. ID N° 295; 4-30, 34-41 y 19-28 de Sec. ID N° 296; 11-21 de Sec. ID N° 297; 4-16, 21-26 y 9-38 de Sec. ID N° 298; 4-12, 15-27, 30-42, 66-72 y 10-24 de Sec. ID N° 299; 8-17 y 11-20 de Sec. ID N° 300; y 2-19 de Sec. ID N° 246; 1-12 de Sec. ID N° 247; 21-38 de Sec. ID N° 248; 2-22 de Sec. ID N° 254; 15-33 de Sec. ID N° 255; 11-32 de Sec. ID N° 256; 11-28 de Sec. ID N° 259; 10-27 de Sec. ID N° 260; 9-26 de Sec. ID N° 261; 4-16 de Sec. ID N° 263; 1-18 de Sec. ID N° 266; 12-29 de Sec. ID N° 273; 6-23 de Sec. ID N° 276; 1-21 de Sec. ID N° 277; 47-64 de Sec. ID N° 279; 28-45 de Sec. ID N° 285; 18-35 de Sec. ID N° 287; 14-31 de Sec. ID N° 291; 7-24 de Sec. ID N° 292; 8-25 de Sec. ID N° 299; 1-20 de Sec. ID N° 300; 18-33 de Sec. ID N° 151; 62-72 de Sec. ID N° 151; 118-131 de Sec. ID N° 152; 195-220 de Sec. ID N° 154; 215-240 de Sec. ID N° 154; 255-280 de Sec. ID N° 154, 72-81 de Sec. ID N° 155; 174-186 de Sec. ID N° 156; 317-331 de Sec. ID N° 157; 35-59 de Sec. ID N° 158; 54-84 de Sec. ID N° 158; 79-104 de Sec. ID N° 158; 33-58 de Sec. ID N° 159; 81-101 de Sec. ID N° 159; 136-150 de Sec. ID N° 159; 173-186 de Sec. ID N° 159; 231-251 de Sec. ID N° 159; 22-48 de Sec. ID N° 161; 24-39 de Sec. ID N° 162; 475-489 de Sec. ID N° 163; 38-56 de Sec. ID N° 164; 583-604 de Sec. ID N° 164; 202-223 de Sec. ID N° 165; 222-247 de Sec. ID N° 165; 242-267 de Sec. ID N° 165; 262-287 de Sec. ID N° 165; 282-307 de Sec. ID N° 165; 302-327 de Sec. ID N° 165; 25-48 de Sec. ID N° 166; 204-217 de Sec. ID N° 167; 259-276 de Sec. ID N° 168; 121-139 de Sec. ID N° 169; 260-267 de Sec. ID N° 169; 215-240 de Sec. ID N° 169; 115-140 de Sec. ID N° 170; 182-204 de Sec. ID N° 172; 144-153 de Sec. ID N° 173; 205-219 de Sec. ID N°

ES 2 330 334 T3

173; 196-206 de Sec. ID N° 174; 240-249 de Sec. ID N° 174; 272-287 de Sec. ID N° 174; 199-223 de Sec. ID N° 174; 218-237 de Sec. ID N° 174; 226-249 de Sec. ID N° 175; 287-306 de Sec. ID N° 175; 430-449 de Sec. ID N° 176; 361-375 de Sec. ID N° 177; 241-260 de Sec. ID N° 178; 483-502 de Sec. ID N° 181; 379-396 de Sec. ID N° 182; 31-51 de Sec. ID N° 184; 1436-1460 de Sec. ID N° 186; 1455-1474 de Sec. ID N° 186; 1469-1487 de Sec. ID N° 186; 215-229 de Sec. ID N° 187; 534-561 de Sec. ID N° 187; 59-84 de Sec. ID N° 187; 79-104 de Sec. ID N° 187; 618-635 de Sec. ID N° 188; 191-203 de Sec. ID N° 189; 386-398 de Sec. ID N° 190; 65-83 de Sec. ID N° 191; 90-105 de Sec. ID N° 192; 112-136 de Sec. ID N° 192; 290-209 de Sec. ID N° 193; 33-50 de Sec. ID N° 194; 76-90 de Sec. ID N° 195; 70-88 de Sec. ID N° 196; 418-442 de Sec. ID N° 197; 574-585 de Sec. ID N° 197; 87-104 de Sec. ID N° 198; 124-148 de Sec. ID N° 198; 141-152 de Sec. ID N° 198; 241-248 de Sec. ID N° 199; 183-198 de Sec. ID N° 200; 40-57 de Sec. ID N° 201; 202-217 de Sec. ID N° 202; 50-74 de Sec. ID N° 203; 69-93 de Sec. ID N° 203; 88-112 de Sec. ID N° 203; 107-127 de Sec. ID N° 203; 74-92 de Sec. ID N° 205; 207-232 de Sec. ID N° 206; 227-252 de Sec. ID N° 206; 247-272 de Sec. ID N° 206; 47-60 de Sec. ID N° 207; 297-305 de Sec. ID N° 207; 312-337 de Sec. ID N° 207; 667-384 de Sec. ID N° 208; 279-295 de Sec. ID N° 210; 179-198 de Sec. ID N° 211; 27-51 de Sec. ID N° 213; 46-70 de Sec. ID N° 213; 65-89 de Sec. ID N° 213; 84-108 de Sec. ID N° 213; 112-141 de Sec. ID N° 213; 248-260 de Sec. ID N° 215; 59-78 de Sec. ID N° 216; 154-170 de Sec. ID N° 218; 57-73 de Sec. ID N° 219; 297-314 de Sec. ID N° 220; 142-157 de Sec. ID N° 221; 428-447 de Sec. ID N° 222; 573-593 de Sec. ID N° 222; 523-544 de Sec. ID N° 223; 46-70 de Sec. ID N° 223; 65-89 de Sec. ID N° 223; 84-108 de Sec. ID N° 223; 122-151 de Sec. ID N° 223; 123-142 de Sec. ID N° 224; 903-921 de Sec. ID N° 225; 119-136 de Sec. ID N° 226; 142-161 de Sec. ID N° 227; 258-277 de Sec. ID N° 228; 272-300 de Sec. ID N° 228; 295-322 de Sec. ID N° 228; 311-343 de Sec. ID N° 229; 278-304 de Sec. ID N° 229; 131-150 de Sec. ID N° 230; 195-218 de Sec. ID N° 230; 53-70 de Sec. ID N° 231; 184-208 de Sec. ID N° 232; 222-246 de Sec. ID N° 232; 241-265 de Sec. ID N° 232; 260-284 de Sec. ID N° 232; 279-303 de Sec. ID N° 232; 317-341 de Sec. ID N° 232; 678-696 de Sec. ID N° 233; 88-114 de Sec. ID N° 235; 464-481 de Sec. ID N° 235; 153-172 de Sec. ID N° 236; 137-155, 166-184 de Sec. ID N° 236; 215-228 de Sec. ID N° 236; 37-51 de Sec. ID N° 237; 53-75 de Sec. ID N° 237; 232-251 de Sec. ID N° 237; 318-336 de Sec. ID N° 237; 305-315 de Sec. ID N° 238; 131-156 de Sec. ID N° 238; 258-275 de Sec. ID N° 241; 107-137 de Sec. ID N° 243; 138-162 de Sec. ID N° 243; 157-181 de Sec. ID N° 243; 195-227 de Sec. ID N° 243; 62-78 de Sec. ID N° 244; 567-584 de Sec. ID N° 245, y los fragmentos que comprenden al menos 6, de preferencia más de 8, especialmente más de 10 aminoácidos de dichas secuencias.

Todos los fragmentos lineales de un antígeno particular reactivos en suero hiperinmune pueden identificarse analizando la secuencia completa del antígeno proteico por una serie de péptidos solapados por 1 aminoácido con una longitud de al menos 10 aminoácidos. Posteriormente, pueden identificarse los epítomos no lineales por el análisis del antígeno proteico con sueros hiperinmunes usando la proteína de longitud total expresada o sus polipéptidos de dominios. Asumiendo que un dominio definido de una proteína es suficiente para formar la estructura tridimensional independiente de la proteína nativa, el análisis del respectivo polipéptido de dominio recombinante o producido sintéticamente con el suero hiperinmune permitirá la identificación de epítomos conformacionales dentro de los dominios individuales de proteínas de múltiples dominios. Para los antígenos en los que un dominio tiene epítomos lineales así como conformacionales, pueden usarse experimentos de competición con péptidos correspondientes a los epítomos lineales para confirmar la presencia de epítomos conformacionales.

Además, están contempladas las moléculas de ácido nucleico que codifican los fragmentos mencionados anteriormente, las moléculas de ácido nucleico que hibridan con moléculas de ácido nucleico que codifican los fragmentos, en particular las que hibridan bajo condiciones rigurosas, y las moléculas de ácido nucleico, tales como los cebadores de PCR, para amplificar moléculas de ácido nucleico que codifican los fragmentos. Al respecto, las moléculas de ácido nucleico de preferencia son las que corresponden a los fragmentos de preferencia, según se analizó anteriormente.

Se divulgan vectores que comprenden una molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico, las células huésped que están manipuladas genéticamente con los vectores y la producción de antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos por técnicas recombinantes.

Puede usarse una gran diversidad de vectores de expresión para expresar un antígeno reactivo en suero hiperinmune o sus fragmentos. Por lo general, puede usarse cualquier vector adecuado para mantener, propagar o expresar los ácidos nucleicos para expresar un polipéptido en un huésped para la expresión en este aspecto. El vector puede ser, por ejemplo, un vector plasmídico, un vector de fago de hebra única o de doble hebra, un vector viral de ADN o ARN de hebra única o de doble hebra. Los plásmidos de partida divulgados en el presente documento están disponibles comercialmente, disponibles públicamente, o pueden construirse a partir de plásmidos disponibles por medio de la aplicación de rutina de procedimientos bien conocidos, publicados. Entre los vectores de preferencia, en ciertos aspectos, están aquellos para la expresión de moléculas de ácido nucleico y de antígenos reactivos en suero hiperinmune o sus fragmentos. Las construcciones de ácidos nucleicos en células huésped pueden usarse de una manera convencional para producir el producto genético codificado por la secuencia recombinante. Como alternativa, los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden producirse sintéticamente por medio de sintetizadores de péptidos convencionales. Las proteínas maduras pueden expresarse en células de mamífero, levaduras, bacterias, o en otras células bajo el control de promotores adecuados. También pueden utilizarse sistemas de traducción libres de células para producir tales proteínas usando ARN derivados de la construcción de ADN.

Las células huésped pueden manipularse genéticamente para incorporar moléculas de ácido nucleico y para expresar las moléculas de ácido nucleico de la presente invención. Los ejemplos representativos de huéspedes adecuados incluyen las células bacterianas, tales como células de estreptococos, estafilococos, *E. coli*, *Streptomyces* y *Bacillus*

ES 2 330 334 T3

subtilis; células fúngicas, tales como células de levadura y células de *Aspergillus*; células de insectos tales como células de *Drosophila* S2 y de *Spodoptera* Sf9; células de animales tales como células CHO, COS, Hela, C127, 3T3, BHK, 293 y células del melanoma de Bowes; y células de plantas.

5 Se divulga un procedimiento para producir un antígeno de *S. pyogenes* reactivo en suero hiperinmune y uno de sus fragmentos que comprende expresar a partir de la célula huésped un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos codificado por las moléculas de ácido nucleico proporcionadas por la presente invención. También se contempla un procedimiento para producir una célula, que expresa un antígeno de *S. pyogenes* reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos que comprende transformar o transfectar una célula huésped adecuada con el
10 vector de manera tal que la célula transformada o transfectada exprese el polipéptido codificado por el ácido nucleico contenido en el vector.

El polipéptido puede expresarse en una forma modificada, tal como una proteína de fusión, y puede incluir no sólo señales de secreción sino también otras regiones funcionales heterólogas. Por consiguiente, por ejemplo, puede
15 añadirse una región de aminoácidos adicionales, en particular aminoácidos cargados, a los extremos N o C terminales del polipéptido para mejorar la estabilidad y la persistencia en la célula huésped, durante la purificación o durante la manipulación y el almacenamiento posteriores. También, pueden añadirse regiones al polipéptido para facilitar la purificación. Tales regiones pueden eliminarse antes de la preparación final del polipéptido. La adición de restos de péptidos a los polipéptidos para engendrar la secreción o la excreción, para mejorar la estabilidad o para facilitar la
20 purificación, entre otras, son técnicas familiares y de la rutina en la técnica. Una proteína de fusión de preferencia comprende una región heteróloga de inmunoglobulina que es útil para solubilizar o purificar los polipéptidos. Por ejemplo, el documento EP-A-O 464 533 (documento equivalente canadiense 2045869) divulga las proteínas de fusión que comprenden diversas porciones de la región constante de moléculas de inmunoglobina junto con otra proteína o parte de de la misma. En el descubrimiento de fármacos, por ejemplo, se han fusionado proteínas con las porciones Fc
25 de anticuerpos con el objeto de realizar ensayos de selección de alto rendimiento para identificar antagonistas. Véase por ejemplo, {Bennett, D. y col., 1995} y {Johanson, K. y otros., 1995}.

El antígeno de *S. pyogenes* reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos puede recuperarse y purificarse de cultivos de células recombinantes por medio de procedimientos bien conocidos, incluidos la precipitación con
30 sulfato de amonio o etanol, la extracción ácida, la cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, la cromatografía de fosfocelulosa, la cromatografía de interacción hidrófoba, la cromatografía de hidroxipatita y la cromatografía con lectinas.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según la presente invención pueden producirse
35 por medio de síntesis química así como por medios biotecnológicos. Los últimos comprenden la transfección o la transformación de una célula huésped con un vector que contiene un ácido nucleico según la presente invención y el cultivo de la célula huésped transfectada o transformada bajo condiciones conocidas por los expertos en la técnica. El procedimiento de producción puede comprender también una etapa de purificación para purificar o aislar el polipéptido a producir.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden usarse para la detección del organismo u organismos en una muestra que contiene estos organismos o sus polipéptidos derivados. De preferencia, tal detección
40 es para diagnóstico, de más preferencia para el diagnóstico de una enfermedad, de mayor preferencia para el diagnóstico de una enfermedad relacionada o ligada a la presencia o a la abundancia de bacterias gram positivas, especialmente bacterias seleccionadas del grupo constituido por estreptococos, estafilococos y lactococos. De más preferencia, los microorganismos se seleccionan del grupo que comprende *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus mutans*, en especial el microorganismo es *Streptococcus pyogenes*.

También están contemplados los ensayos de diagnóstico tales como los ensayos cuantitativos y de diagnóstico para
50 detectar los niveles de antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos en células y tejidos, incluida la determinación de niveles normales y anormales. Por consiguiente, por ejemplo, puede utilizarse un ensayo de diagnóstico según la invención para detectar la sobreexpresión del polipéptido comparado con muestras de tejidos de control normales para detectar la presencia de una infección, por ejemplo, y para identificar el organismo infectante. Las técnicas de ensayo que pueden utilizarse para determinar los niveles de un polipéptido, en una muestra obtenida de un huésped
55 son bien conocidas por los expertos en la técnica. Tales procedimientos de ensayo incluyen los radioinmunoensayos, los ensayos de unión competitiva, los análisis de transferencia Western y los ensayos ELISA. Entre estos, los ELISA son frecuentemente de preferencia. Un ensayo ELISA comprende inicialmente preparar un anticuerpo específico para el polipéptido, de preferencia un anticuerpo monoclonal. Además, generalmente se prepara un anticuerpo informador que se une al anticuerpo monoclonal. El anticuerpo informador está unido a un reactivo detectable tal como un reactivo
60 radioactivo, fluorescente o enzimático, tal como la enzima peroxidasa del rábano picante.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden usarse también con el objeto o con respecto a una matriz. Más particularmente, al menos uno de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden inmovilizarse en un soporte. Dicho soporte comprende típicamente una diversidad de antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos en el que la diversidad pueda crearse usando uno o varios de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos y/o diferentes antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. El aspecto característico de tal matriz así como de cualquier matriz en general es el hecho de que en una región o posición característica o predefinida en dicho soporte o una de sus superficies, está inmovilizado un polipéptido ca-

ES 2 330 334 T3

racterístico. Por esto, cualquier actividad en una posición o región característica de una matriz puede correlacionarse con un polipéptido específico. El número de diferentes antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos inmovilizados en un soporte puede variar desde tan pocos como 10 hasta varios miles de antígenos diferentes reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. La densidad de antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos por cm^2 es, en una forma de realización de preferencia, tan baja como 10 péptidos/polipéptidos por cm^2 hasta al menos 400 diferentes péptidos/polipéptidos por cm^2 y más particularmente al menos 1000 antígenos reactivos en suero hiperinmune diferentes y sus fragmentos por cm^2 .

La fabricación de tales matrices es conocida por los expertos en la técnica y, por ejemplo, está descrita en la Patente de EEUU 5.744.309. La matriz comprende de preferencia un soporte sólido plano, poroso o no poroso que tiene al menos una primera superficie. Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según se divulgan en el presente documento, se inmovilizan en dicha superficie. Los materiales de soporte de preferencia son, entre otros, vidrio o celulosa. También está dentro de la presente invención el uso de la matriz para cualquiera de las aplicaciones de diagnóstico descritas en el presente documento. Aparte de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, también pueden usarse las moléculas de ácido nucleico para la generación de una matriz como se describió anteriormente. Esto se aplica también a una matriz hecha de anticuerpos, de preferencia anticuerpos monoclonales como, entre otros, los descritos en el presente documento.

También se divulga un anticuerpo dirigido a cualquiera de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, a los derivados o a sus fragmentos. Están incluidos, por ejemplo, los anticuerpos monoclonales y policlonales, anticuerpos quiméricos, de cadena única y anticuerpos humanizados, así como los fragmentos Fab, o el producto de una biblioteca de expresión de Fab. El anticuerpo puede ser quimérico, es decir que diferentes partes del mismo provienen de diferentes especies o al menos las respectivas secuencias se toman de diferentes especies.

Los anticuerpos generados contra los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos que corresponden a una secuencia pueden obtenerse por la inyección directa de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos en un animal o administrando los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos a un animal, de preferencia un animal no humano. El anticuerpo obtenido de esa manera se unirá a continuación por sí mismo a los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. De esta manera, puede usarse incluso una secuencia que codifica solamente un fragmento de un antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos para generar los anticuerpos que se unen al antígeno nativo completo reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos. Tales anticuerpos pueden usarse a continuación para aislar los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de tejidos que expresan esos antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos.

Para la preparación de anticuerpos monoclonales, puede usarse cualquier técnica conocida en la técnica que proporcione los anticuerpos producidos por cultivos de líneas celulares continuas. (Como se describió originalmente en {Kohler, G. y col., 1975}.

Las técnicas descritas para la producción de anticuerpos de cadena única (Patente de EEUU N° 4.946.778) pueden adaptarse para producir anticuerpos de cadena única contra los antígenos inmunogénicos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según esta invención. También, pueden usarse ratones transgénicos u otros organismos no humanos tales como otros mamíferos no humanos, para expresar anticuerpos humanizados contra los antígenos inmunogénicos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según esta invención.

Como alternativa, podría utilizarse la tecnología de presentación de fagos o la presentación ribosómica para seleccionar los genes de anticuerpos con actividades de unión hacia los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos ya sea de repertorios de v-genes de linfocitos amplificados por PCR de seres humanos seleccionados por poseer los antígenos diana respectivos o de bibliotecas nuevas {McCafferty, J. y col., 1990}; {Marks, J. y col., 1992}. La afinidad de estos anticuerpos puede mejorarse también mezclando las cadenas {Clackson, T. y col., 1991}.

Si están presentes dos dominios de unión al antígeno, cada dominio puede estar dirigido contra un epítipo diferente - denominados anticuerpos "biespecíficos".

Los anticuerpos descritos anteriormente pueden utilizarse para aislar o para identificar los clones que expresan los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos o para purificar los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos por unión del anticuerpo a un soporte sólido para aislamiento y/o purificación por cromatografía de afinidad.

Por consiguiente, entre otros, los anticuerpos contra los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden utilizarse para inhibir y/o para tratar infecciones, particularmente las infecciones bacterianas y especialmente las infecciones que se presentan a partir del *S. pyogenes*.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos incluyen los derivados antigénicamente, epitópicamente o inmunológicamente equivalentes. El término "derivado antigénicamente equivalente" según se utiliza en el presente documento abarca un antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos o su equivalente que será reconocido específicamente por ciertos anticuerpos que, cuando se generan contra la proteína o el antígeno reactivo al suero hiperinmune y sus fragmentos, interfieren con la interacción entre el patógeno y el huésped mamífero. El término "derivado inmunológicamente equivalente" según se utiliza en el presente documento abarca un péptido

o su equivalente que cuando se utiliza en una formulación adecuada para generar anticuerpos en un vertebrado, los anticuerpos actúan para interferir con la interacción entre el patógeno y el huésped mamífero.

5 Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, tales como un derivado antigénicamente o inmunológicamente equivalente o una de sus proteínas de fusión pueden usarse como un antígeno para inmunizar un ratón u otro animal tal como una rata o un pollo. La proteína de fusión puede proporcionar estabilidad a los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. El antígeno puede asociarse, por ejemplo por conjugación, con una proteína vehículo inmunogénica, por ejemplo la albúmina sérica bovina (BSA) o la hemocianina de la lapa (KLH). Como alternativa, un péptido antigénico que comprende múltiples copias de la proteína o del antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos, o un antígeno reactivo en suero hiperinmune antigénicamente o inmunológicamente equivalente y sus fragmentos, pueden ser suficientemente antigénicos para mejorar la inmunogenicidad para evitar el uso de un vehículo.

15 De preferencia el anticuerpo o su derivado se modifica para hacerlo menos inmunogénico en el individuo. Por ejemplo, si el individuo es un ser humano el anticuerpo puede ser de más preferencia "humanizado", en el que la o las regiones que determinan la complementariedad del anticuerpo derivado del hibridoma se han trasplantado en un anticuerpo monoclonal humano, por ejemplo como está descrito en {Jones, P. y col., 1986} o {Tempest, P. y col., 1991}.

20 El uso de un polinucleótido de la invención en la inmunización genética utilizará de preferencia un procedimiento de administración adecuado tal como la inyección directa del ADN del plásmido en el músculo, la administración del ADN complejado con vehículos proteicos específicos, la coprecipitación del ADN con fosfato de calcio, el encapsulamiento del ADN en diversas formas de liposomas, el bombardeo de partículas {Tang, D. y col., 1992}, {Eisenbraun, M. y col., 1993} y la infección *in vivo* usando vectores retrovirales clonados {Seeger, C. y col., 1984}.

25 Se divulga un péptido que se une a cualquiera de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según la presente invención, y un procedimiento para la fabricación de tales péptidos por el que el procedimiento se caracteriza por el uso de los antígenos reactivos al suero al hiperinmune y sus fragmentos y las etapas básicas son conocidas por el experto en la técnica.

30 Tales péptidos pueden generarse usando procedimientos según el estado de la técnica tales como la presentación de fagos o la presentación de ribosomas. En el caso de presentación de fagos, se genera básicamente una biblioteca de péptidos, en la forma de fagos, y este tipo de biblioteca se pone en contacto con la molécula diana, en el presente caso un antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos. Posteriormente se retiran los péptidos que se unen a la molécula diana, de preferencia como un complejo con la molécula diana, a partir de la reacción respectiva. Los expertos en la técnica saben que las características de unión, al menos hasta cierto punto, dependen de la configuración experimental utilizada en particular, tal como la concentración de sal y otras similares. Tras separar los péptidos unidos a la molécula diana con una afinidad más alta o una fuerza mayor, de los miembros no unidos de la biblioteca, y opcionalmente también tras eliminar la molécula diana del complejo de la molécula diana y el péptido, el o los péptidos respectivos pueden posteriormente caracterizarse. Antes de la caracterización se realiza opcionalmente una etapa de amplificación tal como, por ejemplo propagando los fagos que codifican los péptidos. La caracterización comprende de preferencia la secuenciación de los péptidos unidos a la diana. Básicamente, los péptidos no están limitados en sus longitudes, sin embargo, de preferencia se obtienen péptidos de preferencia que tienen longitudes desde aproximadamente 8 hasta 20 aminoácidos en los procedimientos respectivos. El tamaño de las bibliotecas puede ser de aproximadamente 10^2 hasta 10^{18} , de preferencia de 10^8 hasta 10^{15} péptidos diferentes, sin embargo, no está limitado a estos.

35 Una forma particular de antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos que se unen a la diana son las llamadas "anticalinas" que están descritas, entre otros, en la solicitud de patente Alemana DE 197 42 706 A1.

40 Están contemplados los ácidos nucleicos funcionales que interactúan con cualquiera de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, y un procedimiento para la fabricación de tales ácidos nucleicos funcionales por el que el procedimiento se caracteriza por el uso de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos y las etapas básicas son conocidas por los expertos en la técnica. Los ácidos nucleicos funcionales son de preferencial los aptámeros y los spiegelmeros.

45 Los aptámeros son ácidos D-nucleicos que tienen hebra única o doble hebra y que interactúan específicamente con una molécula diana. La fabricación o la selección de aptámeros están descritas, por ejemplo, la patente Europea EP 0 533 838. Básicamente se realizan las siguientes etapas. Primero, se proporciona una mezcla de ácidos nucleicos, es decir aptámeros potenciales, por la que cada ácido nucleico comprende típicamente un segmento de varios, de preferencia al menos ocho nucleótidos posteriormente aleatorizados. Posteriormente se pone esta mezcla en contacto con la molécula diana por lo que el o los ácidos nucleicos se unen a la molécula diana, tal como basándose en la mayor afinidad hacia la diana o con una fuerza mayor a esta, comparado con la mezcla candidata. El o los ácidos nucleicos unidos se separan posteriormente del resto de la mezcla. Opcionalmente, el o los ácidos nucleicos obtenidos de esta manera se amplifican usando, por ejemplo la reacción en cadena de la polimerasa. Estas etapas pueden repetirse varias veces dando al final una mezcla que tiene una mayor relación de ácidos nucleicos que se unen específicamente a la diana a partir de la que se selecciona posteriormente de manera opcional el ácido nucleico de unión final. Estos ácidos nucleicos de unión específica se denominan aptámeros. Es obvio que en cualquier etapa del procedimiento para la

generación o la identificación de los aptámeros pueden tomarse muestras de la mezcla de ácidos nucleicos individuales para determinar la secuencia de los mismos usando técnicas convencionales. Los aptámeros pueden estabilizarse tal como, por ejemplo, introduciendo grupos químicos definidos conocidos por los expertos en la técnica de generación de aptámeros. Tal modificación puede por ejemplo residir en la introducción de un grupo amino en la posición 2' del resto de azúcar de los nucleótidos. Los aptámeros se usan actualmente como agentes terapéuticos. Sin embargo, los aptámeros seleccionados o generados de esta manera pueden utilizarse para la validación de dianas y/o como sustancias líder para el desarrollo de medicamentos, de preferencia de los medicamentos basados en moléculas pequeñas. Esto se realiza actualmente por un ensayo de competición por el que la interacción específica entre la molécula diana y el aptámero se inhibe por medio de un fármaco candidato por el que tras reemplazar el aptámero del complejo de la diana y el aptámero, puede asumirse que el fármaco candidato respectivo permite una inhibición específica de la interacción entre la diana y el aptámero y, si la interacción es específica, dicho fármaco candidato será, al menos en principio, adecuado para bloquear la diana y disminuir de esta manera su disponibilidad o actividad biológica en un sistema respectivo que comprende tal diana. La molécula pequeña obtenida de esta manera puede someterse a continuación a otra derivatización y modificación para optimizar sus características físicas, químicas, biológicas y/o médicas tales como la toxicidad, la especificidad, la biodegradabilidad y la biodisponibilidad.

Los spiegelmeros y su generación o fabricación se basados en un principio similar. La fabricación de spiegelmeros se describe en la solicitud de patente internacional WO 98/08856. Los spiegelmeros son ácidos L-nucleicos, que significa que están compuestos de L-nucleótidos más que de D-nucleótidos como están los aptámeros. Los spiegelmeros se caracterizan por el hecho de tener una estabilidad muy alta en un sistema biológico y, comparable a los aptámeros, interactúan específicamente con la molécula diana contra la que están dirigidos. En el proceso de generación de spiegelmeros, se crea una población heterógena de ácidos D-nucleicos y esta población se pone en contacto con la antípoda óptica de la molécula diana, en el presente caso por ejemplo con el D-enantiómero del L-enantiómero que se presenta en la naturaleza de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según la presente invención. Posteriormente, se separan los ácidos D-nucleicos que no interactúan con la antípoda óptica de la molécula diana. Pero los ácidos D-nucleicos que interactúan con la antípoda óptica de la molécula diana se separan, opcionalmente se determinan y/o se secuencian y posteriormente se sintetizan los ácidos L-nucleicos correspondientes basándose en la información de la secuencia de ácido nucleico obtenida de los ácidos D-nucleicos. Estos ácidos L-nucleicos que son idénticos en términos de secuencia a los ácidos D-nucleicos mencionados anteriormente que interactúan con la antípoda óptica de la molécula diana, tendrán interacción específicamente con la molécula diana que se presenta en la naturaleza más que con su antípoda óptica. De manera similar al procedimiento para la generación de aptámeros, es también posible repetir las diversas etapas varias veces y por consiguiente enriquecer los ácidos nucleicos que interactúan específicamente con la antípoda óptica de la molécula diana.

Están contemplados los ácidos nucleicos funcionales que interactúan con cualquiera de las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento, y un procedimiento para la fabricación de tales ácidos nucleicos funcionales por el que el procedimiento está caracterizado por el uso de las moléculas de ácido nucleico y sus secuencias respectivas y las etapas básicas son conocidas por los expertos en la técnica. Los ácidos nucleicos funcionales son de preferencia ribozimas, oligonucleótidos antisentido y siARN.

Las ribozimas son ácidos nucleicos catalíticamente activos que están constituidos de preferencia por ARN que comprenden básicamente dos restos. El primer resto muestra una actividad catalítica mientras que el segundo resto es responsable de la interacción específica con el ácido nucleico diana, en el presente caso el ácido nucleico que codifica los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según la presente invención. Tras la interacción entre el ácido nucleico diana y el segundo resto de la ribozima, típicamente por hibridación y apareamiento de bases de Watson-Crick de las extensiones esencialmente complementarias de bases en las dos hebras en hibridación, el resto catalíticamente activo pueden activarse, que significa que cataliza, de manera intramolecular o intermolecular, el ácido nucleico diana en caso de que la actividad catalítica de la ribozima sea una actividad de fosfodiesterasa. Posteriormente, puede haber otra degradación del ácido nucleico diana que al final da lugar a la degradación del ácido nucleico diana así como de la proteína derivada de dicho ácido nucleico diana. Las ribozimas, su uso y los principios del diseño son conocidos por los expertos en la técnica y están descritos, por ejemplo en {Doherty, E. y col., 2001} y {Lewin, A. y col., 2001}.

La actividad y el diseño de los oligonucleótidos antisentido para la fabricación de un medicamento y como agente de diagnóstico, respectivamente, están basados en un modo de acción similar. Básicamente, los oligonucleótidos antisentido hibridan basándose en la complementariedad de las bases, con un ARN diana, de preferencia con un ARNm, activando de este modo la RNasa H. La RNasa H se activa por ADN acoplado a fosfodiéster y a fosforotioato. El ADN acoplado a fosfodiéster, sin embargo, se degradada rápidamente por las nucleasas celulares a excepción del ADN acoplado a fosforotioato. Estos derivados de ADN resistentes, que no se presentan en la naturaleza no inhiben la RNasa H tras la hibridación con el ARN. Es decir, los polinucleótidos antisentido son sólo eficaces como complejos híbridos de ADN ARN. Los ejemplos para este tipo de oligonucleótidos antisentido están descritos, entre otras, en las patentes de EEUU 5.849.902 y 5.989.912. Es decir, en base a la secuencia del ácido nucleico de la molécula diana que en el presente caso son las moléculas de ácido nucleico para los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, ya sea a partir de la proteína diana de la que en principio puede deducirse una secuencia de ácido nucleico respectiva, o conociendo la secuencia del ácido nucleico como tal, en particular el ARNm, pueden diseñarse los oligonucleótidos antisentido adecuados basándose en el principio de complementariedad de las bases.

Resultan particularmente de preferencia los oligonucleótidos antisentido que tienen una extensión corta de ADN de fosforotioato (3 a 9 bases). Se requiere un mínimo de 3 bases de ADN para la activación de la RNasa H bacteriana y se requiere un mínimo de 5 bases para la activación de la RNasa H de mamífero. En estos oligonucleótidos quiméricos hay una región central que forma un sustrato para la RNasa H que está flanqueada por "brazos" de hibridación que comprenden los nucleótidos modificados que no forman los sustratos para la RNasa H. Los brazos de hibridación de los oligonucleótidos quiméricos pueden modificarse tal como por medio de 2'-O-metilo o 2'-flúor. Los enfoques alternativos utilizaron enlaces metilfosfonato o fosforamidato en dichos brazos. Otras formas de realización de oligonucleótidos antisentido útiles en la práctica de la presente invención son P-metoxioligonucleótidos, P-metoxioligodesoxirribonucleótidos parciales o P-metoxioligonucleótidos.

Son de importancia y de utilidad particular los oligonucleótidos antisentido como se describen más particularmente en las dos patentes de EEUU mencionadas anteriormente. Estos oligonucleótidos contienen nucleótidos unidos 5'→3' que no se presentan en la naturaleza. En realidad los oligonucleótidos tienen dos tipos de nucleótidos: 2'-desoxifosforotioato, que activan la RNasa H, y nucleótidos modificados en 2', que no lo hacen. Los enlaces entre los nucleótidos modificados en 2' pueden ser fosfodiésteres, fosforotioato o P-etoxifosfodiéster. La activación de la RNasa H se lleva a cabo por una región activadora de RNasa H contigua, que contiene entre 3 y 5 nucleótidos 2'-desoxifosforotioato para activar la RNasa H bacteriano y entre 5 y 10 nucleótidos 2'-desoxifosforotioato para activar la RNasa eucariota y, particularmente, la RNasa H de mamífero. La protección de la degradación se consigue haciendo que las bases de los extremos 5' y 3' terminales sean altamente resistentes a las nucleasas y, opcionalmente, por la colocación de un grupo de bloqueo 3' terminal.

Más particularmente, el oligonucleótido antisentido comprende un extremo 5' y un extremo 3'; y desde 11 hasta 59 nucleótidos unidos 5'→3' seleccionados independientemente del grupo constituido por nucleótidos fosfodiéster modificados en 2' y nucleótidos P-alquiloxifosfotriéster modificados en 2'; y en el que el nucleósido 5' terminal está unido a una región activadora de la RNasa H de entre de tres y diez desoxirribonucleótidos contiguos unidos por fosforotioato, y en el que el extremo 3' de dicho oligonucleótido se selecciona del grupo constituido por un desoxirribonucleótido invertido, una extensión contigua de uno a tres ribonucleótidos fosforotioato modificados en 2', un grupo biotina y un nucleótido P-alquiloxifosfotriéster.

También puede usarse un oligonucleótido antisentido en el que no es el nucleósido 5' terminal el que está unido a una región de activación de la RNasa H sino el nucleósido 3' terminal según se especificó anteriormente. También, el extremo 5' se selecciona del grupo particular más que el extremo 3' de dichos oligonucleótidos.

Los ácidos nucleicos así como los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden utilizarse como o para la fabricación de composiciones farmacéuticas, en especial vacunas. De preferencia tal composición farmacéutica, de preferencia vacuna es para la prevención o el tratamiento de las enfermedades causadas por, relacionadas o asociada con *S. pyogenes*. En otro aspecto la invención se refiere a un procedimiento para inducir una respuesta inmunológica en un individuo, en particular un mamífero, que comprende inocular el individuo con los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de la invención, o uno de sus fragmentos o variantes, adecuados para producir anticuerpos para proteger a dicho individuo de la infección, particularmente de la infección del *Streptococcus* y más particularmente de las infecciones por *S. pyogenes*.

Otro aspecto más de la invención se refiere a un procedimiento para inducir una respuesta inmunológica en un individuo que comprende administrar, a través de terapia génica o de otra manera, un ácido nucleico que codifica funcionalmente los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, o uno de sus fragmentos o variantes, para expresar los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, o uno de sus fragmentos o variantes *in vivo* para inducir una respuesta inmunológica para producir anticuerpos o una respuesta de células T mediada por células, ya sea células T productoras de citocinas o células T citotóxicas, para proteger a dicho individuo de la enfermedad, ya sea que esa enfermedad esté o no esté establecida dentro del individuo. Una manera de administrar el gen es haciéndolo penetrar en las células deseadas acelerándolo como un recubrimiento en partículas o de otra manera.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición inmunológica que, cuando se introduce en un huésped capaz de tener una respuesta inmunológica inducida dentro del mismo, induce una respuesta inmunológica en tal huésped, en la que la composición comprende el DNA recombinante que codifica y expresa un antígeno de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de la presente invención. La respuesta inmunológica puede utilizarse de manera terapéutica o profiláctica y puede tener la forma de inmunidad por anticuerpos o de inmunidad celular tal como la que se presenta a partir de células T CD4+ o CTL.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de la invención o uno de sus fragmentos pueden fusionarse con una coproteína que no pueda por sí misma producir anticuerpos, pero que es capaz de estabilizar a la primera proteína y de producir una proteína fusionada que tendrá propiedades inmunogénicas y protectoras. Esta proteína recombinante fusionada comprende además de preferencia una coproteína antigénica, tal como la glutatión-S-transferasa (GST) o la beta-galactosidasa, coproteínas relativamente grandes que solubilizan la proteína y facilitan la producción y la purificación de la misma. Además, la coproteína puede actuar como un adyuvante en el sentido de proporcionar una estimulación generalizada del sistema inmune. La coproteína puede unirse al extremo amino o al extremo carboxi terminal de la primera proteína.

ES 2 330 334 T3

También, por medio de esta invención se proporcionan procedimientos que usan la molécula de ácido nucleico descrita o sus fragmentos particulares en tales experimentos genéticos de inmunización en modelos animales de infección con *S. pyogenes*. Tales fragmentos serán particularmente útiles para identificar los epítomos de proteínas capaces de provocar una respuesta inmune profiláctica o terapéutica. Este enfoque puede permitir la posterior preparación de anticuerpos monoclonales de valor particular a partir de los órganos requeridos del animal que resiste o aclara con éxito la infección para el desarrollo de agentes profilácticos o de tratamientos terapéuticos de la infección por *S. pyogenes* en los mamíferos, particularmente en los seres humanos.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden usarse como un antígeno para la vacunación de un huésped para producir los anticuerpos específicos que protegen contra la invasión de bacterias, por ejemplo bloqueando la adherencia de las bacterias al tejido dañado. Los ejemplos de daños de tejidos incluyen las heridas en la piel o el tejido conectivo por ejemplo causadas por daños mecánicos, químicos o térmicos o por la implantación de dispositivos permanentes, o heridas en las membranas mucosas, tales como la boca, las glándulas mamarias, la uretra o la vagina.

La presente invención también incluye una formulación de vacuna que comprende la proteína recombinante inmunogénica junto con un vehículo adecuado. Puesto que la proteína puede degradarse en el estómago, se administra de preferencia por vía parenteral, incluyendo, por ejemplo, la administración subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen las disoluciones estériles acuosas y no acuosas para inyección que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica con el líquido corporal, de preferencia la sangre, del individuo; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión o agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes monodosis o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en estado liofilizado que requiere solamente la adición del vehículo líquido estéril inmediatamente antes del uso. La formulación de vacuna puede también incluir sistemas adyuvantes para mejorar la inmunogenicidad de la formulación, tales como sistemas de aceite en agua y otros sistemas conocidos en la técnica. La dosificación dependerá de la actividad específica de la vacuna y puede determinarse fácilmente por medio de la experimentación rutinaria.

La presente invención divulga una composición farmacéutica que comprende tal antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos según se proporciona en la presente invención para *S. pyogenes*. Tal composición farmacéutica puede comprender uno o más antígenos o sus fragmentos reactivos en suero hiperinmune contra *S. pyogenes*. Opcionalmente, tales antígenos o sus fragmentos reactivos en suero hiperinmune de *S. pyogenes* pueden también combinarse con antígenos contra otros patógenos en una composición farmacéutica de combinación. De preferencia, dicha composición farmacéutica es una vacuna para prevenir o tratar una infección causada por *S. pyogenes* y/u otros patógenos contra los que se han incluido los antígenos en la vacuna.

La presente invención divulga una composición farmacéutica que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un antígeno reactivo en suero hiperinmune o uno de sus fragmentos según se identificaron anteriormente para *S. pyogenes*. Tal composición farmacéutica puede comprender una o más moléculas de ácido nucleico que codifican los antígenos o sus fragmentos reactivos en suero hiperinmune contra *S. pyogenes*. Opcionalmente, tales moléculas de ácido nucleico de *S. pyogenes* que codifican los antígenos reactivos en suero hiperinmune o sus fragmentos pueden también combinarse con moléculas de ácido nucleico que codifican antígenos contra otros patógenos en una composición farmacéutica de combinación. De preferencia, dicha composición farmacéutica es una vacuna para prevenir o tratar una infección causada por *S. pyogenes* y/u otros patógenos contra los que se han incluido los antígenos en la vacuna.

La composición farmacéutica puede contener cualquier sustancia auxiliar adecuada, tales como sustancias tampoadoras, estabilizadores u otros componentes activos, especialmente los componentes conocidos relacionados con la composición farmacéutica y/o la producción de vacunas.

Un vehículo o excipiente de preferencia para los antígenos reactivos en suero hiperinmune, sus fragmentos o una de sus moléculas de ácido nucleico codificadoras según la presente invención es un compuesto inmunoestimulador para estimular más la respuesta inmune al antígeno reactivo en suero hiperinmune dado, su fragmento o su molécula de ácido nucleico codificadora. De preferencia, el compuesto inmunoestimulador en la preparación farmacéutica según la presente invención se selecciona del grupo de sustancias policatiónicas, en especial los péptidos policatiónicos, moléculas de ácidos nucleicos inmunoestimuladoras, de preferencia desoxinucleótidos inmunoestimuladores, alumbre, coadyuvantes completos de Freund, coadyuvantes incompletos de Freund, compuestos neuroactivos, en especial la hormona de crecimiento humana, o sus combinaciones.

También está dentro del ámbito de la presente invención que la composición farmacéutica, en especial la vacuna, comprenda aparte de los antígenos reactivos en suero hiperinmune, sus fragmentos y/o sus moléculas de ácido nucleico codificadoras según la presente invención, otros compuestos biológicamente o farmacéuticamente activos. De preferencia, la composición de vacuna comprende al menos un péptido policatiónico. El o los compuestos policatiónicos a usar según la presente invención puede ser cualquiera de los compuestos policatiónicos que muestre los efectos característicos según el documento WO 97/30721. Los compuestos policatiónicos de preferencia se seleccionan de polipéptidos básicos, policaciones orgánicas, poliaminoácidos básicos o sus mezclas. Estos poliaminoácidos deben tener una longitud de cadena de al menos 4 residuos de aminoácidos (documento WO 97/30721). Son especialmente de preferencia las sustancias como la polilisina, poliarginina y los polipéptidos que contienen más del 20%,

ES 2 330 334 T3

especialmente más del 50% de aminoácidos básicos en un intervalo de más de 8, especialmente más de 20, residuos de aminoácidos o sus mezclas. Otras policonjugaciones de preferencia y sus composiciones farmacéuticas se describen en el documento WO 97/30721 (por ejemplo polietilimina) y en el documento WO 99/38528. De preferencia, estos polipéptidos contienen entre 20 y 500 residuos de aminoácidos, especialmente entre 30 y 200 residuos.

Estos compuestos policatiónicos pueden producirse químicamente o de manera recombinante o pueden obtenerse de fuentes naturales.

Los (poli)péptidos catiónicos pueden también ser antimicrobianos con propiedades como se resumen en {Ganz, T., 1999}. Estos (poli)péptidos pueden ser de origen procarionta o animal o de plantas o pueden producirse químicamente o de manera recombinante (documento WO 02/13857). Los péptidos pueden también pertenecer a la clase de las defensinas (documento WO 02/13857). Las secuencias de tales péptidos pueden encontrarse, por ejemplo, en las bases de datos de secuencias de antimicrobianos en la siguiente dirección de internet: <http://www.bbcm.univ.trieste.it/~tossi/pag2.html>.

Tales péptidos de defensa del huésped o defensivos son también una forma de preferencia del polímero policatiónico según la presente invención. Generalmente, se usa como polímero policatiónico un compuesto que permite como producto final la activación (o regulación por disminución) del sistema inmune adaptativo, de preferencia mediada por células presentadoras de antígeno (APC) (incluidas las células dendríticas).

Resultan especialmente de preferencia para uso como sustancias policatiónicas en la presente invención los péptidos antimicrobianos derivados de la catelicidina o sus derivados (solicitud de patente internacional WO 02/13857, en especial los péptidos antimicrobianos derivados de catelicidina de mamífero, de preferencia de ser humano, de bovino o del ratón).

Los compuestos policatiónicos derivados de fuentes naturales incluyen HIV-REV o HIV-TAT (péptidos catiónicos derivados, péptidos de antenapedia, quitosano u otros derivados de la quitina) u otros péptidos derivados de estos péptidos o proteínas por medio de producción bioquímica o recombinante. Otros compuestos policatiónicos de preferencia son la catelina o sustancias relacionadas o derivadas de la catelina. Por ejemplo, la catelina de ratón es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos NH₂-RLAGLLRKGGEKIGEKLLKIGOKIKNFFQKLVPQPE-COOH. Las sustancias relacionadas o derivadas de la catelina contienen toda o partes de la secuencia de la catelina con al menos 15-20 residuos de aminoácidos. Las derivaciones pueden incluir la sustitución o la modificación de los aminoácidos naturales por aminoácidos que no están entre los 20 aminoácidos convencionales. Por otra parte, pueden introducirse otros residuos catiónicos en tales moléculas de catelina. Es de preferencia que estas moléculas de catelina estén combinadas con el antígeno. Sorprendentemente, estas moléculas de catelina han resultado ser también eficaces como adyuvante para un antígeno sin la adición de otros adyuvantes. Por consiguiente, es posible usar tales moléculas de catelina como adyuvantes eficaces en las formulaciones de vacunas con o sin otras sustancias inmunoadyuvantes.

Otra sustancia policatiónica de preferencia a utilizar según la presente invención es un péptido sintético que contiene al menos 2 motivos KKK separados por un conector de 3 a 7 aminoácidos hidrófobos (solicitud de patente internacional WO 02/32451).

La composición farmacéutica contemplada o las vacunas de la presente invención pueden comprender además ácido(s) nucleico(s) inmunostimulador(es). Los ácidos nucleicos inmunostimuladores son por ejemplo los ácidos nucleicos neutros o artificiales que contienen CpG, las extensiones cortas de ácidos nucleicos no derivados de vertebrados o en la forma de oligonucleótidos cortos (ODN) que contienen dinucleótidos de citosina-guanina (CpG) no metilados en un cierto contexto de bases (por ejemplo como se describe en el documento WO 96/02555). Como alternativa, también los ácidos nucleicos basados en la inosina y la citidina como por ejemplo se describen en el documento WO 01/93903, o los ácidos desoxinucleicos que contienen residuos desoxiinosina y/o desoxiuridina (descritos en los documentos WO 01/93905 y WO 02/95027) pueden usarse de preferencia como ácidos nucleicos inmunostimuladores para la presente invención. De preferencia, las mezclas de diferentes ácidos nucleicos inmunostimuladores pueden usarse según la presente invención.

También está dentro de la presente invención que cualquiera de los compuestos policatiónicos mencionados anteriormente esté combinado con cualquiera de los ácidos nucleicos inmunostimuladores como se mencionó anteriormente. De preferencia, tales combinaciones son según las descritas en los documentos WO 01/93905, WO 02/32451, WO 01/54720, WO 01/93903, WO 02/13857 y WO 02/95027 y en la solicitud de patente austríaca A 1924/2001.

Además o como alternativa tal composición de vacuna puede comprender aparte de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, y sus moléculas de ácido nucleico codificadoras según la presente invención un compuesto neuroactivo. De preferencia, el compuesto neuroactivo es el factor de crecimiento humano como se describe, por ejemplo en el documento WO 01/24822. También de preferencia, el compuesto neuroactivo se combina con cualquiera de los compuestos policatiónicos y/o ácidos nucleicos inmunostimuladores según se mencionó anteriormente.

Está contemplada una composición farmacéutica. Tal composición farmacéutica es, por ejemplo, la vacuna de la invención descrita en el presente documento. Una composición farmacéutica es también una composición farmacéutica que comprende cualquiera de los siguientes compuestos o sus combinaciones: las moléculas de ácido nucleico

ES 2 330 334 T3

según la presente invención, los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos según la presente invención, el vector según la presente invención, las células según la presente invención, el anticuerpo según la presente invención, los ácidos nucleicos funcionales según la presente invención y los péptidos de unión tales como las anticinas según la presente invención, cualquiera de los agonistas y antagonistas seleccionados según se describe en el presente documento. Con relación a los mismos, cualquiera de estos compuestos puede utilizarse en combinación con un vehículo o vehículos no estériles o estériles para uso con las células, los tejidos o los organismos, tales como un vehículo farmacéutico adecuado para la administración a un sujeto. Tales composiciones comprenden, por ejemplo, un aditivo del medio o una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos de la invención y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Tales vehículos pueden incluir, pero no se limitan a, disolución salina, disolución salina tamponada, dextrosa, agua, glicerol, etanol y sus combinaciones. La formulación debe adaptarse al modo de administración.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse de cualquier manera eficaz y conveniente, incluidas por ejemplo, la administración por vía tópica, oral, anal, vaginal, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intranasal o intradérmica, entre otras.

En la terapia o como un profiláctico, el agente activo puede administrarse a un individuo como una composición inyectable, por ejemplo como una dispersión acuosa estéril, de preferencia isotónica.

Como alternativa, la composición puede formularse para la aplicación tópica, por ejemplo en la forma de pomadas, cremas, lociones, pomadas oculares, gotas oculares, gotas óticas, colutorios, vendajes y suturas impregnadas y aerosoles, y puede contener los aditivos convencional adecuados, incluidos, por ejemplo, los conservantes, los disolventes para ayudar a la penetración del fármaco, y los emolientes en pomadas y cremas. Tales formulaciones tópicas pueden también contener vehículos convencionales compatibles, por ejemplo crema o bases de pomadas, y etanol o alcohol olefílico para las lociones. Tales vehículos pueden constituir desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 98% en peso de la formulación; más usualmente constituirán hasta aproximadamente el 80% en peso de la formulación.

Además de la terapia descrita anteriormente, las composiciones de esta invención pueden utilizarse generalmente como un agente de tratamiento de heridas para evitar la adhesión de bacterias a las proteínas de la matriz expuestas en el tejido de la herida y para el uso profiláctico en el tratamiento dental como una alternativa a, o conjuntamente con, la profilaxis con antibióticos.

Una composición de vacuna está convenientemente en forma inyectable. Los adyuvantes convencionales pueden usarse para aumentar la respuesta inmune. Una monodosis adecuada para la vacunación es de 0,05-5 μg de antígeno/kg, y tal dosis se administra de preferencia 1-3 veces y con un intervalo de 1-3 semanas.

Con el intervalo de dosis indicado, no deberían observarse efectos toxicológicos adversos con los compuestos de la invención que imposibilitarían su administración a los individuos adecuados.

Además, se divulgan los envases y kits farmacéuticos y de diagnóstico que comprenden uno o más recipientes rellenos con uno o más de los componentes de las composiciones de la invención mencionadas anteriormente. El (los) componente(s) pueden estar presentes en una cantidad, dosificación, formulación o combinación útil. Asociado con tal(es) recipiente(s) puede haber un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, reflejando la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o la venta del producto para la administración a seres humanos.

Con respecto a la presente invención cualquier uso relacionado con enfermedad según se divulga en el presente documento tal como, por ejemplo, el uso de la composición farmacéutica o de la vacuna, es particularmente una enfermedad o una afección de enfermedad que está causada por, ligada o asociada con los estreptococos, de más preferencia, *S. pyogenes*. Con respecto a esto, debe señalarse que *S. pyogenes* comprende varias cepas, incluidas las divulgadas en el presente documento. Una enfermedad relacionada, causada o asociada con la infección bacteriana a prevenir y/o tratar según la presente invención incluye entre otras la faringitis bacteriana, la escarlatina, el impétigo, la fiebre reumática, la fascitis necrotizante y la sepsis en los seres humanos.

Se divulga además un procedimiento de selección que usa cualquiera de los antígenos reactivos en suero hiperinmune o los ácidos nucleicos según la presente invención. Los procedimientos de selección como tales son conocidos por los expertos en la técnica y pueden diseñarse para seleccionar un agonista o un antagonista. De preferencia se selecciona un antagonista que en el presente caso inhibe o evita la unión de cualquier antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos según la presente invención a una pareja de interacción. Tal pareja de interacción puede ser una pareja de interacción que se presenta en la naturaleza o una pareja de interacción que no se presenta en la naturaleza.

Se divulga un procedimiento para seleccionar compuestos para identificar los que aumentan (agonista) o bloquean (antagonista) la función de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos o las moléculas de ácido nucleico de la presente invención, tales como su interacción con una molécula de unión. El procedimiento de selección puede implicar alto rendimiento.

ES 2 330 334 T3

Por ejemplo, para seleccionar agonistas o antagonistas, la pareja de interacción de la molécula de ácido nucleico y del ácido nucleico, respectivamente, según la presente invención, tal vez una mezcla de reacción sintética, un compartimiento celular, tal como una membrana, una envoltura celular o pared celular, o una preparación de cualquiera de los mismos, pueden prepararse a partir de una célula que expresa una molécula que se une a los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. La preparación se incuba con los antígenos reactivos en suero hiperinmune marcados y sus fragmentos en ausencia o en presencia de una molécula candidata que puede ser un agonista o un antagonista. La capacidad de la molécula candidata de unirse a la molécula de unión se refleja en la disminución de la unión del ligando marcado. Es más probable que las moléculas que se unen gratuitamente, es decir, sin inducir los efectos funcionales de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, sean buenos antagonistas. Las moléculas que se unen bien y provocan los efectos funcionales que son los mismos o prácticamente los mismos con relación a los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos son buenos agonistas.

Los efectos funcionales de los potenciales agonistas y antagonistas pueden medirse, por ejemplo, determinando la actividad de un sistema informador tras la interacción de la molécula candidata con una célula o una preparación celular adecuada, y comparando el efecto con el de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos o de las moléculas que provocan los mismos efectos que los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos. Los sistemas informadores que pueden ser útiles al respecto incluyen, pero no se limitan a, sustratos colorimétricos marcados convertidos en el producto, un gen informador que es sensible a los cambios en la actividad funcional de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, y los ensayos de unión conocidos en la técnica.

Otro ejemplo de un ensayo para antagonistas es un ensayo competitivo que combina los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos y un antagonista potencial con las moléculas de unión unidas a membrana, moléculas de unión recombinantes, sustratos o ligandos naturales, o miméticos de sustratos o de ligandos, bajo condiciones adecuadas para un ensayo competitivo de inhibición. Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden marcarse por ejemplo por medio de radioactividad o un compuesto colorimétrico, de tal manera que pueda determinarse exactamente la cantidad de moléculas de antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, unidas a una molécula de unión o convertidas en un producto para evaluar la eficacia del antagonista potencial.

Los antagonistas potenciales incluyen moléculas orgánicas pequeñas, péptidos, polipéptidos y anticuerpos que se unen a un antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos de la invención y de ese modo inhiben o extinguen su actividad. Los antagonistas potenciales también pueden ser moléculas orgánicas pequeñas, un péptido, un polipéptido tal como una proteína estrechamente relacionada o un anticuerpo que se une a los mismos sitios en una molécula de unión sin inducir la actividad funcional de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos.

Los antagonistas potenciales incluyen una molécula pequeña que se une al sitio de unión de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos y lo ocupa evitando de este modo la unión a moléculas de unión celulares, de manera tal que se impide la actividad biológica normal. Los ejemplos de moléculas pequeñas incluyen, pero no se limitan a, moléculas orgánicas pequeñas, péptidos o moléculas análogas a péptidos. Otros antagonistas potenciales incluyen las moléculas antisentido.

Otros antagonistas potenciales incluyen las moléculas antisentido (véase {Okano, H. y col., 1991}; OLIGO-DEOXYNUCLEOTIDES AS ANTISENSE INHIBITORS OF GENE EXPRESSION; CRC Press, Boca Raton, FL (1988), para una descripción de estas moléculas).

Los antagonistas potenciales de preferencia incluyen los derivados de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos de la invención.

Según se utiliza en el presente documento la actividad de un antígeno reactivo en suero hiperinmune y sus fragmentos es su capacidad para unirse a cualquiera de sus parejas de interacción o el alcance de tal capacidad para unirse a su pareja de interacción o a cualquier pareja de interacción.

Es posible el uso de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos, las moléculas de ácido nucleico o los inhibidores para interferir con la interacción física inicial entre un patógeno y un huésped mamífero responsable de las secuelas de la infección. En particular las moléculas de la invención pueden utilizarse: i) en la prevención de la adhesión del *S. pyogenes* a las proteínas de la matriz extracelular de mamíferos en los dispositivos permanentes o a las proteínas de la matriz extracelular en heridas; ii) para bloquear la invasión de las células del mamífero mediada por proteínas, por ejemplo, iniciando la fosforilación de las tirosina cinasas de mamífero. {Rosenshine, I. y col., 1992} para bloquear la adhesión bacteriana entre las proteínas de la matriz extracelular de mamífero y las proteínas bacterianas que median el daño tisular; iv) para bloquear la progresión normal de la patogénesis en las infecciones iniciadas con excepción de las causadas por la implantación de dispositivos permanentes o por otras técnicas quirúrgicas.

Cada una de las secuencias de ADN codificadoras proporcionadas en el presente documento puede utilizarse en el descubrimiento y el desarrollo de compuestos antibacterianos. La proteína codificada tras la expresión puede utilizarse como diana para la selección de los fármacos antibacterianos. Además, las secuencias de ADN que codifican las regiones amino terminal de la proteína codificada o Shine-Delgarno u otras secuencias que facilitan la traducción del respectivo ARNm pueden utilizarse para construir secuencias antisentido para controlar la expresión de la secuencia codificadora de interés.

ES 2 330 334 T3

Los antagonistas y agonistas pueden utilizarse, por ejemplo, para inhibir las enfermedades que se presentan a partir de la infección con estreptococos, especialmente *S. pyogenes*, tales como la sepsis.

5 Está contemplado un dispositivo de afinidad, tal dispositivo de afinidad comprende al menos un material de soporte y cualquiera de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos que está unido al material de soporte. Debido a la especificidad de los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos por sus células diana o moléculas diana o sus parejas de interacción, los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos permiten una eliminación selectiva de su(s) pareja(s) de interacción de cualquier tipo de muestra aplicada al material de soporte a condición de que se cumplan las condiciones para la unión. La muestra puede ser una muestra biológica o médica, 10 incluyendo, pero no limitado a, caldo de fermentación, residuo celular, preparación de células, preparación de tejidos, preparación de órganos, sangre, orina, linfa, licor y similares.

Los antígenos reactivos en suero hiperinmune y sus fragmentos pueden unirse a la matriz de una manera covalente o no covalente. El material de soporte adecuado es conocido por los expertos en la técnica y puede seleccionarse del 15 grupo que comprende celulosa, silicio, vidrio, aluminio, perlas paramagnéticas, almidón y dextrano.

La presente invención se ilustra además por medio de las siguientes figuras, los ejemplos y el listado de secuencias de los que pueden tomarse otras características, formas de realización y ventajas. Debe entenderse que los presentes ejemplos se presentan sólo a manera de ilustración y no como limitación de la divulgación. 20

Con respecto a la presente invención

La Figura 1 muestra la caracterización del suero humano específico de *S. pyogenes*.

25 La Figura 2 muestra la caracterización de la biblioteca genómica de fragmentos pequeños, LSPy-70, de *Streptococcus pyogenes* SF370/M1.

La Figura 3 muestra la selección de células bacterianas por MACS usando IgG humanas biotinizadas.

30 La Figura 4 muestra un ejemplo para el estudio de distribución de genes con los antígenos identificados.

La Figura 5 muestra la tinción de superficie celular por citometría de flujo.

35 La Figura 6 muestra el valor protector de antígenos recombinantes identificados de *S. pyogenes*.

La Tabla 1 muestra el resumen de todas las selecciones realizadas con bibliotecas genómicas de *S. pyogenes* y suero humano.

40 La Tabla 2 muestra la serología de epítomos con suero humano.

La Tabla 3 muestra el resumen del análisis de distribución de genes para los antígenos identificados en cincuenta cepas de *S. pyogenes*.

45 La Tabla 4 resume la información sobre las proteínas antigénicas utilizadas para los experimentos de inmunización.

La Tabla 5 muestra la variabilidad de las proteínas antigénicas en seis cepas diferentes de *S. pyogenes*.

A continuación se describen con más detalle las figuras a las que puede hacerse referencia en la memoria descriptiva. 50

La Figura 1 muestra la caracterización del suero humano para *S. pyogenes* según se mide por medio de ELISA.

55 La Figura 2 muestra la distribución de tamaños de fragmentos de la biblioteca genómica de fragmentos pequeños de *Streptococcus pyogenes* SF370/M1, LSPy-70. Después de la secuenciación se fragmentaron 576 secuencias de clones seleccionados aleatoriamente para eliminar los residuos del vector y se graficó el número de clones con diversos tamaños de fragmentos genómicos. (B) Ilustración gráfica de la distribución de la misma serie de clones secuenciados aleatoriamente de LSPy-70 sobre el cromosoma de *S. pyogenes*. Los círculos azules indican secuencias coincidentes a ORFs anotados en orientación +/+. Los rectángulos rojos representan clones completamente coincidentes a las secuencias cromosómicas no codificadoras en orientación +/+. Los diamantes verdes ubican a todos los clones con secuencias complementarias o quiméricas. Las distancias numéricas en pares de bases están indicadas sobre cada 60 genoma circular para la orientación. La división de diversas series de clones dentro de la biblioteca se presenta en números y porcentaje al pie de la figura.

65 La Figura 3A muestra la selección del separador MACS con IgG humanas biotinizadas. Se seleccionó la biblioteca LSPy-70 en pMAL9.1 con 10 µg de (P4-IgG) de suero humano biotinizada en el primer ciclo y con 1 µg en el segundo ciclo de selección. Como control negativo, no se añadió suero a las células de la biblioteca para la selección. La cantidad de células seleccionadas después del 1º y del 2º ciclo de elución se muestra para cada ciclo de selección. La Figura 3B muestra la reactividad de los clones específicos (1-52) aislados por presentación de superficie bacteriana

según se analizó por medio del análisis de transferencia Western con el suero humano (P4-IgG) utilizado para la selección del MACS en una dilución de 1:3.000. Como un control de carga también se analizó la misma transferencia con anticuerpos dirigidos contra la proteína de plataforma LamB en una dilución de 1:5.000. LB, extracto de un clon que expresa LamB sin el inserto del péptido extraño.

La Figura 4A muestra los tipos de emm de *S. pyogenes* analizados para el estudio de distribución de genes. La Figura 4B muestra el análisis de PCR para la distribución de genes de los genes Spy0269 con los respectivos oligonucleótidos. El tamaño predicho de los fragmentos de PCR es de 1.000 pares de bases. 1-50, cepas de *S. pyogenes* según se presentan bajo A; N, sin adición de ADN genómico; P, ADN genómico de *S. pyogenes* SF310, que sirvió como molde para la construcción de la biblioteca.

Figura 5. Detección de la unión de anticuerpos específicos en la superficie celular de estreptococos grupo A por citometría de flujo. En la Figura 5A se incubó suero preinmune de ratón y suero policlonal generado contra el lisado *S. pyogenes* con la cepa SF370/M1 de *S. pyogenes* y se analizó por citometría de flujo. El control representa el nivel de unión no específica del anticuerpo secundario a la superficie de las células de *S. pyogenes*. Los histogramas en las figuras 5B y 5C indican la fluorescencia aumentada por la unión específica de los anticuerpos anti-Spy0012 (B) o anti Spy1315 y anti-Spy1798 (C) con respecto al suero de control contra las dos proteínas de plataforma LamB y FhuA, respectivamente.

Figura 6. Se inmunizaron ratones NMRI con 3 dosis consecutivas de proteína recombinante (50 μ g/dosis) separadas por dos semanas los días 0, 14 y 28. Como control negativo, se inmunizaron los ratones con PBS en presencia de adyuvante. La proteína M1 (Spy2018) sirvió como control positivo para el experimento de desafío. El desafío bacteriano se realizó con 5×10^7 células de *S. pyogenes* AP1 i.v. y la supervivencia de los ratones se observó diariamente durante A) 18 días, B) 21 días y C) 19 días, respectivamente.

Tabla 1: *Proteínas inmunogénicas identificadas por presentación de superficie bacteriana.*

A, biblioteca LSPy-70 en LamB con IC3-IgG (1588), B, biblioteca LSPy-70 en LamB con IC3-IgA (1539), C, biblioteca LSPy-70 en LamB con IC6-IgG (1173), D, biblioteca LSPy-70 en LamB con P4-IgG (1138), E, biblioteca LSPy-70 en LamB con P4-IgA (981), F, biblioteca LSPy-150 en btuB con IC3-IgG (991), G, biblioteca LSPy-150 en btuB con IC6-IgG (1036), H, biblioteca LSPy-150 en btuB con P4-IgG (681), I, biblioteca LSPy-400 en fhuA con IC3-IgG (559), K, biblioteca LSPy-400 en fhuA con IC6-IgG (543), L, biblioteca LSPy-400 en fhuA con P4-IgG (20), *, la predicción de las secuencias antigénicas de más 5 aminoácidos de longitud se realizó con el programa ANTIGENIC {Kolaskar, A. y col., 1990}.

Tabla 2: *Serología de epítomos con suero humano.*

Se muestra la reactividad inmunológica de los péptidos sintéticos individuales que representan los epítomos seleccionados con los sueros humanos individuales. El grado de reactividad es patrón/codificado gris; blanco: - (< 50 U), gris: + (50-119 U), diagonal: ++ (120-199 U), cruzado diagonal: +++ (200-1000 U) y cruzado vertical: ++++ (> 1000U). Las unidades de ELISA (U) se calculan a partir de las lecturas de $DO_{545\text{ nm}}$ y la dilución del suero después de la corrección del fondo. Puntuación, suma de todas las reactividades (adición de la cantidad de todos los +); los sueros P1 a P10 son de pacientes con faringitis aguda y los sueros N1 a N10 son de adultos sanos. P y N se utilizan como controles internos. Nombres de los péptidos: SP00012, ORF Spy0012 anotado; SPA0450, ORF potencial nuevo en el marco de lectura alternativo de Spy0450; SPC0406, ORF potencial nuevo en el complemento de Spy0406; SPN0001, ORF potencial nuevo en la región no codificadora.

Tabla 3: *Distribución de genes en las cepas de S. pyogenes.*

Se probaron cincuenta cepas de *S. pyogenes* según se muestra en la Figura 4A por PCR con los oligonucleótidos específicos para los genes que codifican los antígenos relevantes. Se secuenció el fragmento de PCR de un fragmento de PCR seleccionado para confirmar la amplificación del fragmento de ADN correcto. *, número de sustituciones de aminoácidos en la cepa M89 con respecto a *S. pyogenes* SF370 (M1). #, cepa alternativa utilizada para la secuenciación, porque el gen no estaba presente en M89.

Tabla 4: *Proteínas recombinantes utilizadas para los experimentos de inmunización en ratones NMRI.*

La inmunización con los antígenos recombinantes y el desafío con *S. pyogenes* AP1 patógeno se realizó como se describe en Procedimientos experimentales. A, Se administran los aminoácidos del antígeno respectivo contenido dentro de la proteína recombinante como se utiliza para los experimentos de inmunización en animales con relación a la proteína de longitud total. B, El porcentaje de supervivencia se representa como protección y los paréntesis describen el porcentaje de protección del control negativo (inmunizado con PBS) seguido por el porcentaje de protección del control positivo (Spy2018). C, Se seleccionó Spy0269 por el hecho de que los ratones mostraron mejor supervi-

ES 2 330 334 T3

vencia aunque al final del período de observación todos los ratones murieron. Esto se refleja por medio del tiempo de supervivencia promedio medido en días: 14,6 (Spy0269), 11,6 (PBS) y 19,3 días (Spy2018).

5 Tabla 5: *Variación de las secuencias de las proteínas antigénicas de S. pyogenes.*

Las proteínas antigénicas se analizaron para verificar los intercambios de aminoácidos en seis cepas diferentes de *S. pyogenes* como se presenta en Procedimientos experimentales. El número de los residuos indica la posición del aminoácido en la proteína de longitud total.

10

En el caso de Spy1666, se presentan los cambios en comparación con un gen homólogo en *Streptococcus pneumoniae* TIGR4 (SP0334), porque el gen está muy conservado en *S. pyogenes* así como en *S. pneumoniae*. A, residuos de aminoácidos en proteínas de *S. pyogenes* SF370. B, residuo(s) de aminoácidos, que pueden presentarse en cualquiera de los genes analizados de las otras cinco cepas de *S. pyogenes*, si son diferentes de *S. pyogenes* SF370. C, residuos de Spy0416 implicados en la actividad catalítica.

15

Los cambios en estos residuos se anticipan para hacer a la enzima inactiva y por consiguiente se intercambian de manera experimental con alanina, serina, treonina de glicina para producir una proteína recombinante enzimáticamente inactiva.

20

Ejemplos

Ejemplo 1

25

Preparación de anticuerpos a partir del suero humano

Los anticuerpos producidos contra estreptococos del grupo A por el sistema inmune humano y presentes en los sueros humanos son indicativos de la expresión *in vivo* de las proteínas antigénicas y de su inmunogenicidad. Estas moléculas son esenciales para la identificación de antígenos individuales en el enfoque según se describe en la presente invención, que está basado en la interacción de los anticuerpos antiestreptocócicos específicos y los correspondientes péptidos o proteínas de *S. pyogenes*. Para acceder a los repertorios de anticuerpos relevantes, se recogieron sueros humanos de

30

35

I. pacientes con infecciones agudas por *S. pyogenes*, tales como faringitis, infección de heridas y bacteriemia. (Se mostró que *S. pyogenes* era el agente causante por medio de pruebas microbiológicas médicas),

40

II. adultos sanos no infectados, ya que las infecciones por estreptococos del grupo A son comunes, y los anticuerpos están presentes como consecuencia de la inmunización natural a partir de contactos previos con los estreptococos.

Los sueros se caracterizaron para los anticuerpos anti *S. pyogenes* por una serie de ensayos de ELISA y de inmunotransferencia. Se usaron varios antígenos estreptocócicos para mostrar que los títulos medidos no eran un resultado de la suma de anticuerpos con reactividad cruzada. Con ese objeto se usaron dos preparaciones de antígenos diferentes: extracto de células completas o proteínas del sobrenadante del cultivo preparadas a partir de *S. pyogenes* SF370/M1 cultivado durante la noche (fase estacionaria) en medio de cultivo THB (caldo de Todd-Hewitt). Se determinaron los niveles de anticuerpos IgG e IgA. Se seleccionaron los sueros para otro análisis por inmunotransferencia basado en los valores de anticuerpos totales contra las dos preparaciones de antígenos.

50

Los valores se compararon en diluciones dadas donde la respuesta era lineal (Figura 1). Los sueros se clasificaron en base a la reactividad contra los múltiples componentes estreptocócicos, y los más altos se seleccionaron para otro análisis por inmunotransferencia. Este amplio enfoque de caracterización de anticuerpos ha dado lugar a la identificación inequívoca de sueros antiestreptocócicos hiperinmunes.

55

Recientemente se ha informado que no sólo los anticuerpos IgG del suero, sino también los IgA pueden ser reconocidos por los receptores de FcRIII de los PMN y pueden promover la opsonización {Phillips-Quagliata, J. y col., 2000; Shibuya, A. y col., 2000}. El papel principal de los anticuerpos IgA es la neutralización, principalmente en la superficie de la mucosa. El nivel IgA del suero refleja la calidad, la cantidad y la especificidad de la IgA dimérica secretora. Por esa razón la muestra de suero no sólo se analizó para la IgG antiestreptocócica, sino también para los niveles de IgA. En los ensayos de ELISA se usaron reactivos secundarios altamente específicos para detectar anticuerpos del tipo de alta afinidad, tales como IgG e IgA, pero se evitó la IgM. La producción de anticuerpos IgM se produce durante la respuesta humoral adaptativa primaria, y da como resultado anticuerpos de baja afinidad, mientras que los anticuerpos IgG e IgA ya han experimentado la maduración de la afinidad, y son más valiosos para luchar o prevenir las enfermedades.

65

Procedimientos experimentales

Síntesis de péptidos

5 Los péptidos se sintetizaron en pequeña escala (4 mg de resina; hasta 288 en paralelo) usando la química de Fmoc convencional en una resina de amida Rink (PepChem, Tübingen, Alemania) usando un sintetizador SyroII (Multisynth, Witten, Alemania). Después de organizar la secuencia, los péptidos se alargaron con Fmoc-ácido épsilon amino-hexanoico (como conector) y biotina (Sigma, St. Louis, MO; activada como un aminoácido normal). Los péptidos se escindieron de la resina con TFA al 93%, trietilsilano al 5% y agua al 2% durante una hora. Los péptidos se secaron bajo vacío y se liofilizaron tres veces desde acetonitrilo/agua (1:1). La presencia de la masa correcta se verificó por espectrometría de masas en un Reflex III MALDI-TOF (Bruker, Bremen Alemania). Los péptidos se utilizaron sin otra purificación.

Ensayo de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA)

15 Para la caracterización del suero: Se recubrieron las placas de ELISA (Maxisorb, Millipore) con proteína total 5-10 µg/ml diluida en el tampón de recubrimiento (carbonato de sodio 0,1M, pH 9,2). Se realizaron tres diluciones del suero (2.000X, 10.000X, 50.000X) en PBS-BSA.

20 Para la serología de los péptidos: Los péptidos marcados con biotina estaban recubriendo las placas de ELISA con estreptavidina (EXICON) en una concentración de 10 µg/ml según las instrucciones del fabricante. Los sueros se probaron en dos diluciones, 200X y 1.000X.

25 Se usaron anticuerpos secundarios IgG antihumano o IgA antihumano altamente específicos conjugados con peroxidasa del rábano picante (HRP) según las recomendaciones del fabricante (dilución: 1.000x). Los complejos antígeno-anticuerpo se cuantificaron midiendo la conversión del sustrato (ABTS) al producto coloreado en base a las lecturas de DO_{405 nm} en un lector automatizado de ELISA (TECAN SUNRISE). Tras el recubrimiento manual, las placas de péptidos se procesaron y se analizaron por medio del robot de ELISA Gemini 160 (TECAN) con un lector incorporado (GENIOS, TECAN).

Inmunotransferencia

35 Se prepararon muestras del lisado bacteriano total y del sobrenadante del cultivo de *S. pyogenes* SF370/M1 cultivado *in vitro*. Se separaron 10 a 25 µg de proteína total/carril por SDS-PAGE usando el sistema de electroforesis Mini-Protean 3 Cell de BioRad y se transfirieron las proteínas a una membrana de nitrocelulosa (ECL, Amersham Pharmacia). Tras bloquear durante la noche en leche al 5%, se añadieron los antisueros en una dilución 2.000x y se usó IgG anti ratón marcada con HRPO para la detección.

Preparación de extractos de antígenos bacterianos

40 Lisado bacteriano total: Las bacterias se lisaron por ciclos repetidos de congelación-descongelación: incubación en mezcla de hielo seco/etanol hasta la congelación (1 minuto), a continuación descongelación a 37°C (5 minutos): repetido 3 veces. A continuación de esto se sometió a sonicación y se realizó la recogida del sobrenadante por centrifugación (3.500 rpm, 15 minutos, 4°C).

45 Sobrenadante del cultivo: Tras eliminar las bacterias, se precipitó el sobrenadante de los cultivos bacterianos creciendo durante la noche con etanol helado (100%): 1 parte de sobrenadante/3 partes de etanol incubado durante la noche a -20°C. El precipitado se recogió por centrifugación (2.600 g, durante 15 minutos) y se secó. Los sedimentos secos se disolvieron en PBS para ELISA, o en urea y tampón de muestra de SDS para la SDS-PAGE y la inmunotransferencia. La concentración de proteínas de las muestras se determinó por el ensayo de Bradford.

50 Purificación de los anticuerpos para la selección genómica. Se seleccionaron cinco sueros de los pacientes y del grupo no infectado en base a los valores antiestreptocócicos generales para generar una combinación de sueros utilizada en el procedimiento de selección. Los anticuerpos contra las proteínas de *E. coli* se eliminaron incubando el suero inactivado con calor con célula completas de *E. coli* (DH5alfa, transformado con pHIE11, cultivada bajo las mismas condiciones usadas para la presentación de superficie bacteriana). Se generaron preparaciones de IgG altamente enriquecidas de los sueros combinados, deplecionados por medio de cromatografía de afinidad de proteína G, según las instrucciones del fabricante (UltraLink Immobilized Protein G, Pierce). Los anticuerpos IgA se purificaron también por cromatografía de afinidad usando IgA antihumana marcada con biotina (Southern Biotech) inmovilizada en estreptavidina-agarosa (GIBCO BRL). La eficacia de la depleción y la purificación se controló por SDS-PAGE, transferencia Western, ELISA y mediciones de concentración de proteínas.

65

Ejemplo 2

*Generación de bibliotecas de ADN genómico altamente aleatorizadas, de fragmentos pequeños, de marco seleccionado de *Streptococcus pyogenes**

5

Procedimientos experimentales

Preparación de ADN genómico de estreptococos. Se inocularon 50 ml de medio de caldo de Todd-Hewitt con bacterias *S. pyogenes* SF370/M1 de un cultivo en profundidad congelado y se cultivó con aireación y agitación durante 18 horas a 37°C. A continuación se recogió el cultivo, se centrifugó a 1.600x g durante 15 minutos y se retiró el sobrenadante. Se lavaron los sedimentos bacterianos 3 veces con PBS y se resuspendieron cuidadosamente en 0,5 ml de disolución de Lisozima (100 mg/ml). Se añadieron 0,1 ml de RNasa A 10 mg/ml tratada con calor y 20 U de RNasa T1, se mezcló cuidadosamente y la disolución se incubó durante 1 hora a 37°C. Tras la adición de 0,2 ml de disolución de SDS al 20% y 0,1 ml de Proteinasa K (10 mg/ml) se incubó el tubo durante la noche a 55°C. A continuación se añadió 1/3 del volumen de NaCl saturado y se incubó la disolución durante 20 minutos a 4°C. Se sedimentó el extracto en una microcentrífuga (13.000 rpm) y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo. La disolución se extrajo con PhOH/CHCl₃/IAA (25:24:1) y con CHCl₃/IAA (24:1). Se precipitó el ADN a temperatura ambiente añadiendo 0,6x el volumen de isopropanol, se transfirió desde la disolución con una pipeta Pasteur estéril a tubos que contenían etanol helado al 80%. Se recuperó el ADN centrifugando el precipitado a 10-12.000x g, a continuación se secó al aire y se disolvió en H₂Odd.

Preparación de fragmentos pequeños de ADN genómico. Los fragmentos de ADN genómico se cortaron mecánicamente en tamaños de fragmentos de tamaños en el intervalo entre 150 y 300 pb usando un sonicador con punta o “cup-horn” (sonicator UV 2200 Sonoplus de Bandelin equipado con punta BB5, pulsos de 10 segundos con una salida de potencia del 100%) o en fragmentos de tamaños entre 50 y 70 pb mediante el tratamiento suave con DNasa I (Novagen). Se observó que la sonicación dio como resultado una distribución de tamaños de los fragmentos mucho más estrecha cuando se rompió el ADN en fragmentos del intervalo de tamaños de 150-300 pb. Sin embargo, a pesar de la extensa exposición del ADN a la fuerza de corte hidromecánica inducida por ondas ultrasónicas, la posterior disminución en los tamaños de los fragmentos no pudo alcanzarse de manera eficaz y reproducible. Por consiguiente, se obtuvieron tamaños de fragmentos de 50 a 70 pb por medio del tratamiento suave con DNasa I usando un kit de escisión aleatoria de Novagen. Se preparó una dilución 1:20 de DNasa I con el kit proporcionado y se llevó a cabo la digestión en presencia de MnCl₂ en un volumen de 60 µl a 20°C durante 5 minutos para asegurar la escisión de la doble hebra por medio de la enzima. Las reacciones se interrumpieron con 2 µl de EDTA 0,5M y se evaluó la eficiencia de la fragmentación en un gel de TAE-agarosa al 2%. Este tratamiento dio como resultado la fragmentación total del ADN genómico en fragmentos de aproximadamente 50-70 pb. A continuación se generaron los extremos romos de los fragmentos dos veces usando Polimerasa de ADN T4 en presencia de 100 µM de cada dNTP para asegurar el lavado eficaz de los extremos. Los fragmentos se usaron inmediatamente en reacciones de unión o se congelaron a -20°C para su uso posterior.

Descripción de los vectores. El vector pMAL4.31 se construyó en una estructura central de pASK-IBA {Skerra, A., 1994} con el gen de beta-lactamasa (*bla*) intercambiado con el gen de la resistencia a la Kanamicina. Además se clonó el gen *bla* en el sitio de clonación múltiple. La secuencia que codifica la beta-lactamasa madura está precedida por la secuencia del péptido líder de *ompA* para permitir la secreción eficaz a través de la membrana citoplásmica. Además una secuencia que codifica los primeros 12 aminoácidos (secuencia espaciadora) de la beta-lactamasa madura sigue a la secuencia del péptido líder de *ompA* para evitar la fusión de secuencias inmediatamente después del sitio de escisión de líder de la peptidasa, ya que por ejemplo los grupos de aminoácidos cargados positivamente en esta región disminuirían o impedirían la translocación a través de la membrana citoplásmica {Kajava, A. y col., 2000}. Un sitio de restricción de *SmaI* servirá para la inserción de la biblioteca. Un sitio de *FseI* secuencia arriba y un sitio de *NotI* secuencia abajo, que se utilizaron para la recuperación del fragmento seleccionado, flanquean el sitio de *SmaI*. Los tres sitios de restricción se insertan después de la secuencia que codifica la secuencia espaciadora de 12 aminoácidos de manera tal que el gen *bla* se transcribe en el marco de lectura -1 dando como resultado un codón de parada de 15 pb después del sitio de *NotI*. Una inserción de +1 pb restablece el ORF de *bla* de manera que la proteína beta-lactamasa se produce con una consiguiente obtención de la resistencia a la Ampicilina.

El vector pMAL9.1 se construyó clonando el gen *lamB* en el sitio de clonación múltiple de pEH1 {Hashemzadeh-Bonehi, L. y col., 1998}. Posteriormente, se insertó una secuencia en *lamB* después del aminoácido 154, que contenía los sitios de restricción de *FseI*, *SmaI* y *NotI*. El marco de lectura para esta inserción se construyó de manera tal que la transferencia de los fragmentos de ADN seleccionado del marco escindidos por medio de digestión con *FseI* y *NotI* del plásmido pMAL4.31 da un marco de lectura continuo de *lamB* y el inserto respectivo.

El vector pMAL10.1 se construyó clonando el gen *btuB* en el sitio de clonación múltiple de pEH1. Posteriormente, se insertó una secuencia en *btuB* después del aminoácido 236, que contenía los sitios de restricción de *FseI*, *XbaI* y *NotI*. El marco de lectura para esta inserción se eligió de manera tal que la transferencia de los fragmentos de ADN seleccionados del marco escindidos por la digestión con *FseI* y *NotI* del plásmido pMAL4.31 da un marco de lectura continuo de *btuB* y el inserto respectivo.

El vector pHIE11 se construyó clonando el gen *fhuA* en el sitio de clonación múltiple de pEH1. A partir de entonces, se insertó una secuencia en *fhuA* después del aminoácido 405, que contenía los sitios de restricción de *FseI*, *XbaI* y

ES 2 330 334 T3

NotI. El marco de lectura para esta inserción se eligió de manera tal que la transferencia de los fragmentos de ADN seleccionados del marco escindidos por la digestión con *FseI* y *NotI* del plásmido pMAL4.31 da un marco de lectura continuo de *fhuA* y el inserto respectivo.

5 *Clonación y evaluación de la biblioteca para la selección del marco.* Se unieron fragmentos de ADN genómico de *S. pyogenes* en el sitio de *SmaI* del vector pMAL4.31. El ADN recombinante se electroporó en células de *E. coli* DH10B electrocompetentes (GIBCO BRL) y los transformantes se plaquearon en agar LB suplementado con Kanamicina (50 µg/ml) y Ampicilina (50 µg/ml). Las placas se incubaron durante la noche a 37°C y se recogieron las colonias para la extracción de ADN a gran escala. Se almacenó una placa representativa y se conservó para recoger las colonias para el análisis por PCR de las colonias y la secuenciación a gran escala. Se usó un ensayo de PCR de colonias únicas para determinar inicialmente la distribución bruta de tamaño de los fragmentos así como la eficacia de la inserción. A partir de los datos de la secuenciación se evaluó el tamaño preciso de los fragmentos, la integridad de la unión en el sitio de inserción así como la exactitud de la selección del marco (*regla 3n+1*).

15 *Clonación y evaluación de la biblioteca para la presentación de superficie bacteriana.* Los fragmentos de ADN genómico se escindieron del vector pMAL4.31, que contenía la biblioteca de *S. pyogenes* con las enzimas de restricción *FseI* y *NotI*. A continuación se transfirió la población completa de fragmentos en los plásmidos pMAL9.1 (LamB), pMAL10.1 (BtuB) o pHIE11 (FhuA), que se habían digerido con *FseI* y *NotI*. Usando estas dos enzimas de restricción, que reconocen una secuencia rica en GC de 8 pb, el marco de lectura que se había seleccionado en el vector pMAL4.31 se mantiene en cada uno de los vectores de la plataforma. A continuación se transformó la biblioteca de plásmidos en células de *E. coli* DH5alfa por electroporación. Las células se plaquearon en placas grandes de agar LB suplementado con Kanamicina 50 µg/ml y se cultivaron durante la noche a 37°C a una densidad que da colonias únicas claramente visibles. A continuación se rasparon las células de la superficie de estas placas, se lavaron con medio LB fresco y se almacenaron en alícuotas a -80°C para la selección de la biblioteca.

25 *Resultados*

Bibliotecas para la selección del marco. Se generaron tres bibliotecas (LSPy70, LSPy150 y LSPy300) en el vector de pMAL4.31 con tamaños de aproximadamente 70, 150 y 300 pb, respectivamente. Para cada biblioteca, la unión y posterior transformación de aproximadamente 1 µg de ADN del plásmido pMAL4.31 y 50 ng de ADN genómico fragmentado de *S. pyogenes* dio 4×10^5 a 2×10^6 clones después de la selección del marco. Para evaluar la aleatoriedad de las bibliotecas, se secuenciaron aproximadamente 600 clones de LSPy70 elegidos aleatoriamente. El análisis bioinformático mostró que de estos clones sólo unos pocos estaban presentes más de una vez. Además, se mostró que el 90% de los clones entraban en el intervalo de tamaños entre 16 y 61 pb con un tamaño promedio de 34 pb (Figura 2). Todas las secuencias siguieron la regla $3n+1$, mostrando que todos los marcos de los clones se seleccionaron adecuadamente.

Bibliotecas de presentación de superficie bacteriana. La presentación de péptidos en la superficie de *E. coli* requería la transferencia de los insertos de las bibliotecas de LSPy del vector de selección del marco pMAL4.31 a los plásmidos de presentación pMAL9.1 (LamB), pMAL10.1 (BtuB) o pHIE11 (FhuA). Los fragmentos de ADN genómico se escindieron por restricción con *FseI* y *NotI* y la unión de insertos de 5 ng con 0,1 µg de ADN del plásmido y la posterior transformación en células DH5alfa dio como resultado $2-5 \times 10^6$ clones. Los clones se rasparon de las placas de LB y se congelaron sin otra amplificación.

45 Ejemplo 3

Identificación de secuencias de péptidos altamente inmunogénicas de S. pyogenes usando bibliotecas genómicas presentadas de superficie bacteriana y suero humano

50 *Procedimientos experimentales*

Selección por MACS. Se cultivaron aproximadamente $2,5 \times 10^8$ células de una biblioteca dada en 5 ml de medio LB suplementado con Kanamicina 50 µg/ml durante 2 horas a 37°C. La expresión se indujo por la adición de IPTG 1 mM durante 30 minutos. Las células se lavaron dos veces con medio LB fresco y se resuspendieron aproximadamente 2×10^7 células en 100 µl de medio LB y se transfirieron a un tubo Eppendorf.

Se añadieron 10 µg de IgG humanas, biotiniladas purificadas del suero a las células y la suspensión se incubó durante la noche a 4°C con agitación suave. Se añadieron 900 µl de medio LB, la suspensión se mezcló y se centrifugó posteriormente durante 10 minutos a 6.000 rpm a 4°C (Para las selecciones de IgA, se usaron 10 µg de IgA purificadas y éstas se capturaron con anticuerpos secundarios IgG antihumano biotinilado). Las células se lavaron una vez con 1 ml de LB y a continuación se resuspendieron en 100 µl de medio LB. Se añadieron 10 µl de microperlas de MACS acopladas a estreptavidina (Miltenyi Biotech, Alemania) y la incubación continuó durante 20 minutos a 4°C. A partir de entonces se añadieron 900 µl de medio LB y se cargó la suspensión celular microperlas de MACS en la columna de MS equilibrada (Miltenyi Biotech, Alemania) que se fijó al imán. (Las columnas de MS se equilibraron lavando una vez con 1 ml de EtOH al 70% y dos veces con 2 ml de medio LB).

ES 2 330 334 T3

A continuación se lavó la columna tres veces con 3 ml de medio LB. Tras retirar el imán, se eluyeron las células lavando con 2 ml de medio LB. Tras lavar la columna con 3 ml de medio LB, se cargó el eluato de 2 ml por segunda vez en la misma columna y se repitieron los procesos de lavado y elución. El proceso de carga, lavado y elución se realizó por tercera vez, dando como resultado un eluato final de 2 ml.

5 A continuación se realizó un segundo ciclo de selección. Se recogieron las células del eluato final mediante centrifugación y se resuspendieron en 1 ml de medio LB suplementado con Kanamicina 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$. El cultivo se incubó a 37°C durante 90 minutos y a continuación se indujo con IPTG 1 mM durante 30 minutos. Posteriormente se recogieron las células, se lavaron una vez con 1 ml de medio LB y se suspendieron en 10 μl de medio LB. Puesto que el volumen se redujo, se añadió 1 μg de IgG biotiniladas, humanas y la suspensión se incubó durante la noche a 4°C con agitación suave. Todas las otras etapas fueron exactamente iguales al primer ciclo de selección. Las células seleccionadas tras dos ciclos de selección se plaquearon en placas de agar LB suplementado con Kanamicina 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y se cultivaron durante la noche a 37°C.

15 *Evaluación de los clones seleccionados por secuenciación y análisis de transferencia Western.* Los clones seleccionados se cultivaron durante la noche a 37°C en 3 ml de medio LB suplementado con Kanamicina 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para preparar el ADN de plásmido usando procedimientos convencionales. La secuenciación se realizó en MWG (Alemania) o en colaboración con TIGR (EEUU).

20 Para el análisis de transferencia Western se separaron aproximadamente 10 a 20 μg de proteína celular total por SDS-PAGE al 10% y se transfirieron a la membrana HybondC (Amersham Pharmacia Biotech, Inglaterra). Las proteínas de fusión de LamB, BtuB o FhuA se detectaron usando suero humano como el anticuerpo primario en una dilución de aproximadamente 1:5.000 y anticuerpos IgG o IgA anti humano acoplados a HRP en una dilución de 1:5.000 como anticuerpos secundarios. La detección se realizó usando el kit de detección ECL (Amersham Pharmacia Biotech, Inglaterra). Como alternativa, se usaron anticuerpos anti FhuA de conejo o anti LamB de ratón como anticuerpos primarios en combinación con los anticuerpos secundarios respectivos acoplados a HRP para la detección de las proteínas de fusión.

Resultados

30 *Selección de bibliotecas de presentación de superficie bacteriana por clasificación celular activada por magnetismo (MACS) usando Ig biotiniladas.* Las bibliotecas LSPy70 en pMAL9.1, LSPy150 en pMAL10.1 y LSPy300 en pHIE11 se seleccionaron con combinaciones de IgG e IgA humanas, biotiniladas, de sueros de pacientes o sueros de individuos sanos (véase Ejemplo 1: *Preparación de anticuerpos a partir de suero humano*). El procedimiento de selección se realizó como se describió en Procedimientos experimentales. La Figura 3A muestra un ejemplo representativo de una selección con la biblioteca LSPy-70 y P4-IgG. Como puede observarse a partir del recuento de colonias después del primer ciclo de selección de la selección por MACS, el número total de células recuperadas al final se reduce drásticamente desde 3×10^7 células hasta aproximadamente 5×10^4 células, mientras que la selección sin anticuerpos adicionales mostró una reducción hasta aproximadamente 2×10^3 células (Figura 3A). Tras el segundo ciclo, se recuperó una cantidad de células similar con P4-IgG, mientras que se recuperaron menos de 10 células cuando no se añadieron IgG de suero humano, mostrando claramente que la selección fue dependiente de los anticuerpos específicos de *S. pyogenes*. Para evaluar el rendimiento de la selección, se tomaron aleatoriamente aproximadamente 50 clones seleccionados y se sometieron al análisis de transferencia Western con el mismo suero, combinado (Figura 3B). Este análisis reveló que el 70% de los clones seleccionados mostraron reactividad con los anticuerpos presentes en el suero relevante mientras que la cepa de control que expresa LamB sin un inserto específico de *S. pyogenes* no reaccionó con el mismo suero. En general, se observó que la tasa de reactividad se mantuvo dentro del intervalo del 35 al 75%. El análisis por PCR de las colonias mostró que todos los clones seleccionados contenían un inserto en el intervalo de tamaños esperado.

50 La posterior secuenciación de un número mayor de clones tomados aleatoriamente (600 a 1200 por selección) dio lugar a la identificación del gen y de la correspondiente secuencia del péptido o proteína que se reconoció específicamente por el suero humano para la selección. La frecuencia con la que se selecciona un clon específico refleja al menos en parte la abundancia y/o afinidad de los anticuerpos específicos en el suero usado para selección y reconocimiento del epítipo presentado por este clon. Al respecto, es llamativo que los clones derivados de algunos ORF (por ejemplo Spy0433, Spy2025) se tomaron más de 80 veces, indicando su propiedad altamente inmunogénica. La Tabla 1 resume los datos obtenidos para las 15 selecciones realizadas. Todos los clones que se presentan en la Tabla 1 se han verificado por análisis de transferencia Western usando extractos de células completas de clones únicos para mostrar la reactividad indicada por la combinación de suero humano usada en la respectiva selección. Como puede observarse de la Tabla 1, regiones características de los ORF identificados se identifican como inmunogénicas, puesto que se presentan fragmentos de las proteínas de tamaños variables en la superficie por las proteínas de plataforma.

65 Vale la pena destacar además que la mayoría de los genes identificados por la selección por presentación de superficie bacteriana codifican proteínas que están unidas a la superficie de *S. pyogenes* y/o se secretan. Esto está de acuerdo con el papel esperado de las proteínas unidas o secretadas en la virulencia de *S. pyogenes*.

Ejemplo 4

Evaluación de la reactividad de las secuencias de péptidos altamente inmunogénicos con sueros humanos individuales

5 En el análisis se incluyeron aproximadamente sueros de 100 pacientes y de 60 adultos sanos. Tras el análisis bioinformático de los clones seleccionados, se diseñaron y se sintetizaron los péptidos correspondientes. En el caso de epítomos con más de 28 residuos de aminoácidos, se construyeron péptidos superpuestos. Todos los péptidos se sintetizaron con un marcador de biotina N-terminal y se usó como reactivo de recubrimiento en las placas de ELISA recubiertas con Estreptavidina.

10 El análisis se realizó en dos etapas. Primero, se seleccionaron los péptidos en base a su reactividad con los sueros individuales, que se incluyeron en las combinaciones de sueros (cinco sueros individuales) usados para las preparaciones de reactivos de selección de IgG e IgA para la presentación de superficie bacteriana. Los péptidos que no mostraron una reacción positiva no se incluyeron en otros estudios, más detallados. Segundo, se probó una gran cantidad de sueros individuales no preseleccionados de pacientes con faringitis aguda o con enfermedades postestreptocócicas o de adultos y niños sanos contra los péptidos que mostraban reactividad específica y elevada con los sueros de selección. Se midieron los niveles de anticuerpos por medio de ELISA y se compararon por la puntuación calculada para cada péptido en base a la cantidad de sueros positivos y la amplitud de la reactividad. En la tabla 2 se muestra un ejemplo para la reactividad de los sueros de 174 péptidos que representan epítomos de *S. pyogenes* de la selección genómica con 20 sueros humanos (que representan 4 combinaciones diferentes de cinco sueros) usados para la identificación de antígenos. Los péptidos varían desde altamente y ampliamente reactivos hasta débilmente positivos. Entre los más reactivos hay antígenos conocidos, algunos de ellos también son protectores en modelos de desafío en animales para portación nasofaríngea (por ejemplo, la peptidasa C5a y la proteína M).

Ejemplo 5

*Estudios de distribución de genes con proteínas altamente inmunogénicas identificadas de *S. pyogenes**

30 *Distribución de genes de antígenos de estreptococos del grupo A por PCR.* Un antígeno de vacuna ideal sería un antígeno que esté presente en todas, o en la gran mayoría de las cepas del organismo diana para el que está dirigida la vacuna. Para establecer si los genes que codifican los antígenos identificados de *Streptococcus pyogenes* se presentan de manera ubicua en cepas de *S. pyogenes*, se realizó la PCR en una serie de aislamientos de *S. pyogenes* independientes con cebadores específicos para el gen de interés. Los aislamientos de *S. pyogenes* se obtuvieron cubriendo los tipos de emm presentes con más frecuencia en los pacientes como se muestra en la Figura 4A. Se diseñaron secuencias de oligonucleótidos como cebadores para todos los ORF identificados dando productos de aproximadamente 1.000 pb, de ser posible cubriendo todos los epítomos inmunogénicos identificados. Se preparó el ADN genómico de todas las cepas de *S. pyogenes* según se describe en el Ejemplo 2. La PCR se llevó a cabo en un volumen de reacción de 25 μ l usando polimerasa Taq (1U), dNTP 200 nM, 10 pMol de cada oligonucleótido en el kit según las instrucciones del fabricante (Invitrogen, Holanda). Como patrón, se realizaron 30 ciclos (1 x: 5 minutos, 95°C, 30x: 30 segundos, 95°C, 30 segundos, 56°C, 30 segundos, 72°C, 1 x 4 minutos, 72°C), a menos que tuvieran que adaptarse las condiciones para los pares de cebadores individuales.

Resultados

45 Todos los genes identificados que codifican proteínas inmunogénicas se probaron por PCR para verificar su presencia en 50 cepas diferentes de *S. pyogenes* (Figura 4A). Como un ejemplo, la figura 4B muestra la reacción de PCR para Spy0269 con todas las 50 cepas indicadas. Como resulta claramente visible, el gen está presente en todas las cepas analizadas. El fragmento de PCR de la cepa N° 8 (M89) se secuenció y mostró que de 917 pb sólo 2 pb eran diferentes comparado con la cepa SF310 de *S. pyogenes* M1, dando como resultado sólo una diferencia de aminoácidos entre los dos aislamientos. De un total de 96 genes analizados, 70 estaban presentes en todas las cepas probadas, mientras que 22 genes estaban ausentes en más de 10 de las 50 cepas probadas (Tabla 3). Varios genes (Spy0433, Spy0681) mostraron variación en el tamaño y no estaban presentes en todos los aislamientos de cepas. Algunos genes mostraron variación en el tamaño, pero por otro lado estaban conservados en todas las cepas probadas (por ejemplo Spy1371). La secuenciación del fragmento generado por PCR de una cepa y la posterior comparación con la cepa M1 confirmó la amplificación del fragmento de ADN correcto y reveló un grado de divergencia de secuencia como se indicó en la Tabla 3. Es importante señalar que muchos de los antígenos identificados están bien conservados en todas las cepas en secuencia y tamaño y por consiguiente son nuevos candidatos de vacuna para prevenir infecciones por estreptococos del grupo A.

60

65

ES 2 330 334 T3

Ejemplo 6

Caracterización de sueros inmunes obtenidos de ratones inmunizados con proteínas/péptidos de S. pyogenes altamente inmunogénicos presentados en la superficie de E. coli

5

Generación de sueros inmunes de ratones

Se cultivaron clones de *E. coli* que albergan plásmidos que codifican la proteína de plataforma fusionada a un péptido de *S. pyogenes* en medio LB suplementado con Kanamicina 50 µg/ml a 37°C. Los cultivos obtenidos durante la noche se diluyeron 1:10, se hicieron crecer hasta una DO₆₀₀ de 0,5 y se indujeron con IPTG 0,2 mM durante 2 horas. Las células bacterianas sedimentadas se suspendieron en tampón PBS y se rompieron por medio de sonicación en hielo, generando un extracto celular bruto. Según la medición de DO₆₀₀, se inyectó una alícuota correspondiente a 5 x 10⁷ células en el ratón NMRI i.v., seguida por una estimulación después de 2 semanas. El suero se recogió 1 semana después de la segunda inyección. Los niveles de anticuerpos específicos de epítipo se midieron por medio de ELISA de péptidos.

15

Expresión de antígenos in vitro

La expresión de antígenos por medio del cultivo *in vitro* de *S. pyogenes* SF370/M1 se probó por medio de inmunotransferencia. Los diferentes medios de cultivo y las condiciones de cultivo se probaron para detectar la presencia de antígenos en los lisados totales y en los sobrenadantes de cultivos bacterianos. La expresión se consideró confirmada cuando se detectó una banda específica correspondiente a la movilidad electroforética esperada y al peso molecular predicho.

20

Tinción de la superficie celular

El análisis por citometría de flujo se llevó a cabo de la siguiente manera. Las bacterias se hicieron crecer bajo condiciones de cultivo, que dieron como resultado la expresión del antígeno como se muestra por el análisis de inmunotransferencia. Las células se lavaron dos veces en Disolución de Hanks Equilibrada (HBSS) y se ajustó la densidad celular hasta aproximadamente 1 X 10⁶ UFC en 100 µl de HBSS, BSA al 0,5%. Tras incubar durante 30 a 60 minutos a 4°C con antisueros diluidos 50 a 100 veces, los anticuerpos no unidos se eliminaron por medio de centrifugación en HBSS en exceso, BSA al 0,5%. Se incubó el anticuerpo secundario anti ratón de cabra (fragmento F(ab')₂ específico) marcado con fluoresceína (FITC) con las células a 4°C durante 30 a 60 minutos. Tras lavar las células, se fijaron los anticuerpos con paraformaldehído al 2%. Los anticuerpos unidos se detectaron usando un citómetro de flujo FACScan de Becton Dickinson y los datos se analizaron además con el programa informático CELLQuest. Los sueros de control incluyeron suero preinmune de ratón y suero policlonal de ratón generado con lisados preparados a partir de células de *E. coli* inducidas con IPTG transformadas con plásmidos que codifican los genes *lamB* o *fhuA* sin el inserto genómico de *S. pyogenes*.

30

35

Ensayo de opsonofagocitosis

Se probó la actividad de los sueros inmunes específicos de epítipo para inducir la opsonofagocitosis en un ensayo basado en FACS. Los sueros se inactivaron con calor y a continuación se eliminaron los anticuerpos anti *E. coli* por incubación con célula completa de *E. coli* (3x). Se preopsonizaron 10⁷ células de *S. pyogenes* marcadas con Alexa 488 en presencia de suero inmune al 2-10% y suero de hámster al 2% como fuente de complemento y a continuación se añadieron a 10⁶ células fagocíticas (líneas celulares monocíticas murinas RAW246.7 o P388.D1). Se incubó la mezcla celular durante 30 minutos a 37°C. Se registró el tiempo, la concentración de IgG y la captación de bacterias dependiente del complemento como un aumento en la intensidad media de fluorescencia de las células fagocíticas medida con un clasificador de células activadas con fluorescencia.

40

Ensayo bactericida (muerte bacteriana)

Se incubaron células macrófagos murinos (RAW246.7 o P388.D1) y bacterias y se determinó la pérdida de bacterias viables tras 60 minutos por medio del recuento de colonias. En resumen, las bacterias se lavaron dos veces en Disolución Salina Equilibrada de Hanks (HBSS) y se ajustó la densidad celular hasta aproximadamente 1 X 10⁵ UFC en 50 µl de HBSS. Las bacterias se incubaron con sueros de ratón (hasta el 25%) y complemento de cobaya (hasta el 5%) en un volumen total de 100 µl durante 60 minutos a 4°C. Las bacterias preopsonizadas se mezclaron con los macrófagos (línea celular murina RAW246.7 o P388.D1; 2 X 10⁶ células por 100 µl) en una relación 1:20 y se incubaron a 37°C en un agitador rotativo a 500 rpm. Se diluyó una alícuota de cada muestra en agua estéril y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente para lisar los macrófagos. A continuación se plaquearon diluciones en serie sobre placas de agar con caldo de Todd-Hewitt. Las placas se incubaron durante la noche a 37°C, y se hizo el recuento de colonias con el contador rápido de colonias Counterstat (IUL Instruments). Los sueros de control incluyeron suero preinmune de ratón y suero policlonal de ratón generado con lisados preparados a partir de *E. coli* inducida con IPTG transformadas con plásmidos que albergan los genes *lamB* o *fhuA* sin el inserto genómico de *S. pyogenes*.

50

55

60

65

Resultados

Expresión in vitro y tinción de la superficie celular. La expresión de las proteínas antigénicas se analizó *in vitro* en *S. pyogenes* SF370/M1 usando los sueros generados contra los clones de *E. coli* que albergan plásmidos que codifican la proteína de plataforma fusionada al péptido de *S. pyogenes*. Este análisis sirvió como primera etapa para determinar si se expresa una proteína para evaluar la expresión superficial del polipéptido por medio del análisis FACS. Se anticipó que no todas las proteínas serían expresadas bajo las condiciones *in vitro*, pero se detectaron varias proteínas por medio de análisis de transferencia Western en los lisados celulares totales (por ejemplo Spy0012, Spy0112, Spy0416, Spy0437, Spy0872, Spy1032, Spy1315, Spy1798; datos no mostrados). Posteriormente se demostró por medio de un ensayo basado en citometría de flujo la accesibilidad de la superficie celular para diversas proteínas antigénicas. Se incubaron los estreptococos con sueros de ratón preinmunes y policlonales generados contra el lisado de *S. pyogenes* o clones de *E. coli* que albergan plásmidos que codifican la proteína de plataforma fusionada a un péptido de *S. pyogenes*, seguido por la detección con el anticuerpo secundario marcado fluorescente. Como se muestra en la Fig. 5A, los antisueros generados contra el lisado de *S. pyogenes* causan un cambio en la fluorescencia de la población celular de *S. pyogenes* SF370/M1. Se observó una tinción de superficie celular similar de las células de *S. pyogenes* SF370/M1 con el suero policlonal generado contra péptidos del antígeno Spy0012 (Fig. 5B), Spy1315 y Spy1798 (Fig. 5C), aunque sólo se tiñó una subpoblación de bacterias, como lo indica la detección de dos picos. Este fenómeno puede ser un resultado de la expresión diferencial de los productos genéticos durante el crecimiento de la bacteria o de la inhibición parcial de la unión del anticuerpo causada por otras moléculas de superficie.

Estos experimentos confirmaron la predicción bioinformática de que estas proteínas se exportan por su secuencia del péptido señal y además mostraron que están ancladas en la superficie de la célula de *S. pyogenes* SF370/M1. También confirmaron que estas proteínas están disponibles para el reconocimiento por anticuerpos humanos y las transforman en candidatos valiosos para el desarrollo de una vacuna contra la enfermedad producida por estreptococos del grupo A.

Ejemplo 7

Respuestas inmunes protectoras contra la infección con estreptococos del grupo A tras la inmunización con antígenos recombinantes

Procedimientos experimentales

Clonación de genes que codifican proteínas antigénicas

Se amplificó el gen o el fragmento de ADN de interés a partir del ADN genómico de *S. pyogenes* SF370 por medio de amplificación por PCR usando cebadores específicos de genes. Aparte de la secuencia específica del gen, los cebadores contenían bases adicionales en el respectivo extremo 5' constituidas por sitios de restricción que ayudaron en la clonación direccional del producto de PCR amplificado. La secuencia del cebador específica del gen varió entre 15-24 bases de longitud. Los productos de PCR obtenidos se digirieron con las enzimas de restricción adecuadas y se clonaron en el vector pET28b(+) digerido adecuadamente (NOVAGEN). Tras confirmar la construcción del plásmido recombinante, se transformaron las células de *E. coli* BL21 STAR® (INVITROGEN) que sirvieron como huéspedes de expresión. Estas células están optimizadas para expresar de manera eficaz el gen de interés según está codificado por el plásmido de pET28b.

Expresión de antígenos en Escherichia coli

Se cultivaron las células de *E. coli* BL21 STAR® que albergan el plásmido recombinante en la fase logarítmica en medio LB suplementado con Kanamicina 50 µg/ml a 37°C. Una vez alcanzada una DO_{600 nm} de 0,8, se indujo el cultivo con IPTG 1 mM durante 3 horas a 37°C. Las células se recogieron por centrifugación, se lisaron mediante una combinación del procedimiento de congelación/descongelación seguido por la rotura de las células con el reactivo Bug-buster® de NOVAGEN. El lisado se separó por medio de centrifugación en fracciones solubles (sobrenadante) e insolubles (sedimento).

Purificación de proteínas recombinantes de E. coli

Según la localización de la proteína, se siguieron diferentes estrategias de purificación. Las proteínas en la fracción soluble se purificaron por la unión del sobrenadante de los lisados celulares tras la rotura celular a perlas de Ni-Agarosa (Ni-NTA-Agarose®, QIAGEN). Por la presencia de la penta-Histidina (HIS) en el extremo C, N o en ambos extremos de la proteína expresada, la proteína se une al Ni-agarosa mientras que otras proteínas contaminantes se lavan y eliminan de la columna por medio de tampón de lavado. Las proteínas se eluyeron mediante una disolución que contenía imidazol 100 mM en el tampón adecuado. Se concentró el eluato, se analizó la concentración de proteína por el método de Bradford y se analizó por medio de SDS-PAGE y transferencia Western. Las proteínas en la fracción insoluble se purificaron por solubilización del sedimento en un tampón adecuado que contiene Urea 8 M. La purificación se realizó bajo condiciones de desnaturalización (en tampón que contiene Urea 8M) usando los mismos materiales y procedimientos que los mencionados anteriormente para las proteínas solubles. El eluato se concentró y se dializó para eliminar toda la urea de manera gradual o por etapas.

ES 2 330 334 T3

La disolución de proteínas final se concentró, se analizó por medio de SDS-PAGE y se midió por medio del método de Bradford.

5 La expresión se consideró confirmada cuando se detectó una banda específica correspondiente a la movilidad electroforética y al peso molecular predichos. Para las proteínas, que precipitaron durante la diálisis por la eliminación del reactivo de desnaturalización urea, los cuerpos de inclusión insolubles se lavaron varias veces y se usaron directamente para la inmunización de ratones.

10 *Inmunización de ratones NMRI con proteínas recombinantes y desafío con S. pyogenes AP1*

Se ensayó la inmunogenicidad de las proteínas en un modelo animal experimental usando ratones NMRI y la cepa AP1 de *S. pyogenes* como agente infeccioso. Se inmunizaron diez ratones NMRI hembra de 7-8 semanas de edad con 50 µg/dosis de proteína recombinante cada 2 semanas para un total de 3 dosis. La dosis inicial se potenció con adyuvante Completo de Freund mientras que las dos dosis restantes se potenciaron con adyuvante Incompleto de Freund. Al final de la inmunización se extrajo sangre de los ratones para controlar el valor de anticuerpos y se desafiaron posteriormente por vía intravenosa (i.v.) con una dosis letal de *S. pyogenes* AP1 (5×10^7 de bacterias patógenas). Se asignaron puntuaciones de supervivencia a los ratones durante 18 hasta 21 días posteriores al desafío.

20 *Resultados*

Expresión y purificación de proteínas recombinantes

De las 31 proteínas seleccionadas para la expresión de la proteína recombinante, 29 proteínas pudieron producirse en *E. coli* hasta un nivel suficiente para la purificación. Mientras que algunas de las proteínas pudieron producirse como proteína soluble (véase Tabla 4), algunas proteínas resultaron insolubles (por ejemplo Spy416B, Spy0872) o precipitaron tras la diálisis, que tenía la finalidad de eliminar el reactivo de desnaturalización urea tras la solubilización de las proteínas insoluble tales como Spy0031, Spy0292, Spy720.

En estos casos los cuerpos de inclusión lavados se inyectaron directamente en los ratones para la inmunización. En general, la purificación por afinidad dio una preparación de proteína recombinante de al menos un 85% de pureza.

Respuestas inmunes tras la inmunización con proteínas recombinantes en ratones NMRI

35 La Tabla 4 presenta los antígenos que se probaron en ratones y mostraron algún grado de protección en animales experimentales. Las proteínas recombinantes, que se probaron también en el modelo de bacteriemia en animales, pero que no mostraron ningún nivel de protección en los experimentos descritos no se presentan en esta tabla; pero se incluyen las proteínas tales como Spy0012, Spy1063 y Spy1494. El modelo de bacteriemia descrito evalúa el valor protector de los candidatos de vacuna contra enfermedades invasivas ya que las bacterias patógenas se inyectan directamente en la sangre. Las proteínas recombinantes, que inducen anticuerpos capaces de proteger contra tal infección por estreptococo grupo A, se consideran candidatos valiosos para el desarrollo de una vacuna contra la enfermedad causada por estreptococo grupo A. En comparación con el control positivo Spy2018 (proteína M1), que se mostró previamente que proporciona protección contra el desafío con *S. pyogenes*, una serie de antígenos lograron un nivel similar cuando se alcanzó el punto final del experimento de desafío tras 18 ó 21 días (Tabla 4) (Spy0416, Spy1607 o Spy0292). Otras proteínas sólo mostraron un efecto protector parcial (Spy0720, Spy0872), pero pueden demostrar mucha eficacia cuando se combinan con otros antígenos (Fig. 6).

55 Sorprendentemente, la selección de antígenos había identificado epítomos inmunogénicos predominantemente en la primera mitad de las dos proteínas más grandes, Spy0416 y Spy1972. Por consiguiente se ha concluido que la región protectora también puede estar contenida en la parte N terminal de la proteína. En el caso de Spy0416, ambas partes del antígeno se produjeron como proteína recombinante (Spy0416A y Spy0416B; véase Tabla 4) y se probaron en experimentos animales. Los experimentos mostraron que sólo la primera mitad de la proteína Spy0416 (Tabla 4; Spy0416A) proporcionó protección en el modelo animal, mientras que la segunda mitad de la proteína (Spy0416B) no tuvo ningún efecto protector, definiendo claramente una región más pequeña dentro de la proteína como el candidato para vacuna. Para el antígeno Spy1972 sólo la primera mitad de la proteína de longitud total se produjo como proteína recombinante y se probó en el modelo animal.

Ejemplo 8

60 *Variabilidad de los genes que codifican proteínas antigénicas en cepas de S. pyogenes de diversos serotipos*

Procedimientos experimentales

Secuenciación de fragmentos de PCR y análisis bioinformático

65 El análisis de PCR de las cepas de *S. pyogenes* está descrito en el Ejemplo 5. La secuenciación de los fragmentos de PCR proporcionaron una estimación de la variabilidad del gen y el resumen de los resultados se presenta en la Tabla 3. La disponibilidad de las secuencias genómicas de cinco cepas de *Streptococcus pyogenes* (SF370: M1; MGAS8232:

ES 2 330 334 T3

M18; SSI-1: M3; MGAS315: M3; Manfredo: M5) permitió una mejor evaluación de la variabilidad de los antígenos. Todas las secuencias se alinearon con la secuencia del antígeno respectivo de *S. pyogenes* SF370 y los residuos de aminoácidos identificados que difieren de aquellos en la proteína antigénica de *S. pyogenes* SF370. Se detectaron las secuencias insertadas o delecionadas en algunas de las proteínas antigénicas, pero no se incluyen en este análisis.

Resultados

La Tabla 5 muestra todas las posiciones que se identificaron como variables en los antígenos indicados en una de las cuatro cepas de *S. pyogenes* (MGAS8232: M18; SSI-1: M3; MGAS315: M3; Manfredo: M5) o la cepa usada para secuenciar el fragmento amplificado por PCR (véase Tabla 3). El análisis bioinformático muestra que algunas de las proteínas antigénicas están muy bien conservadas sin intercambio de ninguna de las seis cepas de los serotipos M1, M3, M5 y M18. Las proteínas pertenecientes a este grupo incluyen Spy0103 y Spy1536, mientras que los intercambios en la otra proteína antigénica son más numerosos en las proteínas más grandes que en las más pequeñas, como se espera a partir de la diferencia en tamaño por sí misma. Aunque se analizó una diversidad de cepas, prácticamente nunca se observó que hubiera cambiado un único residuo por más de un aminoácido diferente en las otras cepas. Otro análisis de las secuencias de los genes respectivos en una gran cantidad de cepas de serotipos, indicación clínica o localización geográfica variables identificará con certeza posibles cambios en los residuos de aminoácidos presentados o en otros residuos.

Sólo una de las proteínas antigénicas analizadas por alineación de las seis secuencias de genes mostró un grado considerable de variación en el tamaño (Spy1357: SF370 - 217 aminoácidos; MGAS8232 - 245 aa; SSI-1 - 329 aa; MGAS315 - 329 aa; Manfredo - 279 aa). Por consiguiente, es evidente que la mayoría de los antígenos evaluados están muy bien conservados en secuencia así como en tamaño y proporcionan candidatos prometedores para el desarrollo de vacunas.

Referencias

Altschul, S., y col. (1990). *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410.

Bennett, D., y col. (1995). *J Mol Recognit* 8: 52-58.

Bessen, D., y col. (1988). *Infect Immun* 56: 2666-2672.

Bisno, A., y col. (1987). *Infect Immun* 55: 753-757.

Bronze, M., y col. (1988). *J Immunol* 141: 2767-2770.

Clackson, T., y col. (1991). *Nature* 352: 624-628.

Cone, L., y col. (1987). *New Engl J Med* 317: 146-149.

Cunningham, M. (2000). *Clin Microbiol Rev* 13: 470-511.

Devereux, J., y col. (1984). *Nucleic acids research* 12: 387-395.

Doherty, E., y col. (2001). *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 30: 457-475.

Eisenbraun, M., y col. (1993). *DNA Cell Biol* 12: 791-797.

Enright M., y col. (2001) *Inf. Immun.* 69: 2416-2427

Etz, H., y col. (2001). *Bacteriol* 183: 6924-6935.

Fenderson, P., y col. (1989). *J Immunol* 142: 2475-2481.

Fischetti, V. (1989). *Clin Microbiol Rev* 2: 285-314.

Ganz, T. (1999). *Science* 286: 420-421.

Georgiou, G. (1997). *Nature Biotechnology* 15: 29-34.

Guzman, C., y col. (1999). *J Infect Dis* 179: 901-906.

Hashemzadeh-Bonehi, L., y col. (1998). *Mol Microbiol* 30: 676-678.

Heinje, von G, (1987) por ejemplo, *Sequence Analysis in Molecular Biology*, Academic Press

Hemmer, B., y col. (1999). *Nat Med* 5: 1375-1382.

ES 2 330 334 T3

Hoe N., y col. (2001) *J. Inf. Dis.* 183: 633-639

Hope-Simpson, R. (1981). *J Hyg (Lond)* 87: 109-129.

5 Ji, Y., y col. (1997). *Infect Immun* 65: 2080-2087.

Johanson, K., y col. (1995). *J Biol Chem* 270: 9459-9471.

Jones, P., y col. (1986). *Nature* 321: 522-525.

10

Kajava, A., y col. (2000). *J Bacteriol* 182: 2163-2169.

Kohler, G., y col. (1975). *Nature* 256: 495-497.

15

Kolaskar, A., y col. (1990). *FEBS Lett* 276: 172-174.

Lee, P. K. (1989). *J Clin Microbiol* 27: 1890-1892.

Lewin, A., y col. (2001). *Trends Mol Med* 7: 221-228.

20

Marks, J., y col. (1992). *Biotechnology* (N Y) 10: 779-783.

McCafferty, J., y col. (1990). *Nature* 348: 552-554.

25

Okano, H., y col. (1991). *J Neurochem* 56: 560-567.

Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression; CRC Press, Boca Ration, FL (1988) para una descripción de estas moléculas.

30

Phillips-Quagliata, J., y col. (2000). *J Immunol* 165: 2544-2555.

Rammensee, H., y col. (1999). *Immunogenetics* 50: 213-219.

Rosenshine, I., y col. (1992). *Infect Immun* 60: 2211-2217.

35

Seeger, C., y col. (1984). *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 5849-5852.

Shibuya, A., y col. (2000). *Nature Immunology* 1: 441-446.

40

Skerra, A. (1994). *Gene* 151: 131-135.

Stevens, D. (1992). *Clin Infect Dis* 14: 2-11.

Tang, D., y col. (1992). *Nature* 356: 152-154.

45

Tempest, P., y col. (1991). *Biotechnology* (N Y) 9: 266-271.

Tourdot, S., y col. (2000). *Eur J Immunol* 30: 3411-3421.

50

Whitnack, E., y col. (1985). *J Exp Med* 162: 1983-1997.

Wiley, J., y col. (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*.

55

Vitali, L., y col. (2002) *J. Clin. Microbiol* 40: 679-681.

60

65

Tabla 1: Proteínas inmunogénicas identificadas por presentación de superficie bacteriana

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0012	Proteína hipotética	4-44, 57-65, 67-98, 101-107, 109-125, 131-144, 146-159, 168-173, 181-186, 191-200, 206-213, 229-245, 261-269, 288-301, 304-317, 323-328, 350-361, 374-384, 383-407, 416-425	A:12, I:5, N:2	1-114	1, 151
Spy0019	proteína secretora putativa (división celular y tolerancia a antibióticos)	5-17, 49-64, 77-82, 87-95, 118-125, 127-140, 142-150, 153-159, 191-207, 212-218, 226-270, 274-287, 297-306, 325-331, 340-347, 352-369, 377-382, 390-395	F:2, I:16, K:24, N:29, P:12	29-226	2, 152
Spy0025	Foforbisiformil glicinamida sintasa II putativa	4-16, 20-26, 32-74, 76-87, 93-108, 116-141, 148-162, 165-180, 206-219, 221-228, 230-236, 239-245, 257-268, 313-328, 330-335, 353-359, 367-375, 394-403, 414-434, 437-444, 446-453, 456-464, 478-487, 526-535, 541-552, 568-575, 577-584, 589-598, 610-618, 624-643, 653-665, 667-681, 697-718, 730-748, 755-761, 773-794, 806-821, 823-831, 837-845, 862-877, 879-889, 896-919, 924-930, 935-940, 947-955, 959-964, 969-986, 991-1002, 1012-1036, 1047-1056, 1067-1073, 1079-1085, 1088-1111, 1130-1135, 1148-1164, 1166-1173, 1185-1192, 1244-1254	D:3	919-929	3, 153
Spy0031	proteína de unión a colina putativa	5-44, 62-74, 78-83, 99-105, 107-113, 124-134, 161-174, 176-194, 203-211, 216-239, 241-247, 253-266, 272-299, 323-349, 353-360	I:3, K:3, N:3	145-305	4, 154
Spy0103	proteína de competencia putativa	15-39, 52-61, 72-81, 92-97	A:8	71-81	5, 155
Spy0112	pirrolina carboxilato reductasa putativa	13-19, 21-31, 40-108, 115-122, 125-140, 158-180, 187-203, 210-223, 235-245	B:4	173-186	6, 156
Spy0115	glutamilamino peptidasa putativa	5-12, 19-27, 29-39, 59-67, 71-78, 80-88, 92-104, 107-124, 129-142, 158-168, 185-191, 218-226, 230-243, 256-267, 272-277, 283-291, 307-325, 331-344, 346-352	A:3, C:26	316-331	7, 157
Spy0166	Proteína hipotética	6-28, 43-53, 60-76, 93-103	I:22, K:7, N:17, O:31, P:5	21-99	8, 158
Spy0167	Estreptolisina	10-30, 120-126, 145-151, 159-169, 174-182, 191-196, 201-206, 214-220, 222-232, 254-272, 292-307, 313-323, 332-353, 361-369, 389-396, 401-415, 428-439, 465-481, 510-517, 560-568	A:118, B:14, C:18, D:37, F:141, G:79, H:92, I:97, K:123, L:5, M:21, N:225, O:230, P:265	9-264	9, 159

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0168	Proteína hipotética	5-29, 39-45, 107-128	K:4, N:7	1-112	10, 160
Spy0171	Proteína hipotética	4-38, 42-50, 54-60, 65-71, 91-102	H:2	21-56	11, 161
Spy0183	transportador ABC de glicina ABC	4-13, 19-25, 41-51, 54-62, 68-75, 79-89, 109-122, 130-136, 172-189, 192-198, 217-224, 262-268, 270-276, 281-298, 315-324, 333-342, 353-370, 376-391	C:6	23-39	12, 162
Spy0230	transportador ABC putativo (proteína de unión al ATP)	6-41, 49-58, 62-103, 117-124, 147-166, 173-194, 204 211, 221-229, 255-261, 269-284, 288-310, 319-325, 348-380, 383-389, 402-410, 424-443, 467-479, 496-517, 535-553, 555-565, 574-581, 583-591	C:46	474-489	13, 163
Spy0269	proteína de exclusión de superficie putativa	8-35, 52-57, 66-73, 81-88, 108-114, 125-131, 160-167, 174-180, 230-235, 237-249, 254-262, 278-285, 308-314, 321-326, 344-353, 358-372, 376-383, 393-411, 439-446, 453-464, 471-480, 485-492, 502-508, 523-529, 533-556, 558-563, 567-584, 589-597, 605-619, 625-645, 647-666, 671-678, 690-714, 721-728, 741-763, 766-773, 777-787, 792-802, 809-823, 849-864	A:2, B:12, D:3, F:11, H:5, N:6	37-241 409-534 582-604 743-804	14, 164
Spy0287	proteína hipotética conservada	4-17, 24-36, 38-44, 59-67, 72-90, 92-121, 126-149, 151-159, 161-175, 197-215, 217-227, 241-247, 257-264, 266-275, 277-284, 293-307, 315-321, 330-337, 345-350, 357-366, 385-416, 345-350, 357-366, 385-416	K:1	202-337	15, 165
Spy0292	proteína de unión a penicilina (D-alanil-D-alanina carboxipeptidasa)	4-20, 22-46, 49-70, 80-89, 96-103, 105-119, 123-129, 153-160, 181-223, 227-233, 236-243, 248-255, 261-269, 274-279, 283-299, 305-313, 315-332, 339-344, 349-362, 365-373, 380-388, 391-397, 402-407	F:2	1-48	16, 166
Spy0295	oligopeptidopermeasa	18-37, 41-63, 100-106, 109-151, 153-167, 170-199, 199-207, 212-229, 232-253, 273-297	A:3	203-217	17, 167
Spy0348	aminodesoxicorismato liasa putativa	20-26, 54-61, 80-88, 94-101, 113-119, 128-136, 138-144, 156-188, 193-201, 209-217, 221-229, 239-244, 251-257, 270-278, 281-290, 308-315, 319-332, 339-352, 370-381, 388-400, 411-417, 426-435, 468-482, 488-497, 499-506, 512-521	D:5, I:3, M:3, P:3	261-273	18, 168
Spy0416	serina proteinasa de envoltura celular putativa	6-12, 16-36, 50-56, 86-92, 115-125, 143-152, 163-172, 193-203, 235-244, 280-289, 302-315, 325-348, 370-379, 399-405, 411-417, 419-429, 441-449, 463-472, 482-490, 500-516, 536-543, 561-569, 587-594, 620-536, 647-653, 659-664, 677-685, 687-693, 713-719, 733-740, 746-754, 756-779, 792-799, 808-817, 822-828, 851-865, 902-908, 920-938, 946-952, 969-976, 988-1005, 1018-1027, 1045-1057, 1063-1069, 1071-1078, 1090-1099, 1101-1109, 1113-1127,	A:3, B:4, C:30, D:13, F:138, G:120, H:101, I:9, K:14, M:2, N:15, O:8, P:19	1-414 443-614 997-1392	19, 169

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0430	Proteína hipotética	14-42, 70-75, 90-100, 158-181	B:7, I:10, P:18	1-164	20, 170
Spy0433	Proteína hipotética	4-21, 30-36, 54-82, 89-97, 105-118, 138-147	A:138, B:8, C:67, D:11, E:13, F:35, G:10, H:5, M:8	126-207	21, 171
Spy0437	Proteína hipotética	4-21, 31-66, 96-104, 106-113, 131-142	A:29, B:10, C:21, D:24, E:15	180-204	22, 172
Spy0469	Proteína putativa de 42 kDa	5-23, 31-36, 38-55, 65-74, 79-88, 101-129, 131-154, 156-165, 183-194, 225-237, 245-261, 264-271, 279-284, 287-297, 313-319, 327-336, 343-363, 380-386	B:5, F:77, I:8, K:15, M:3, N:17, O:20	11-197 204-219 258-372	23, 173
Spy0488	Proteína hipotética	4-20, 34-41, 71-86, 100-110, 113-124, 133-143, 150-158, 160-166, 175-182, 91-197, 213-223, 233-239, 259-278, 298-322	A:17, B:11, C:23, D:12, E:4, G:4, H:7	195-289	24, 174
Spy0515	Azúcar transferasa putativa	4-10, 21-35, 44-52, 54-62, 67-73, 87-103, 106-135, 161-174, 177-192, 200-209, 216-223, 249-298, 304-312, 315-329, 298, 304-312, 315-329	B:5, I:3	12-130	25, 175
Spy0580	Proteína hipotética conservada	10-27, 33-38, 48-55, 70-76, 96-107, 119-133, 141-147, 151-165, 183-190, 197-210, 228-236, 245-250, 266-272, 289-295, 297-306, 308-315, 323-352, 357-371, 381-390, 394-401, 404-415, 417-425, 427-462, 466-483, 485-496, 502-507, 520-529, 531-541, 553-570, 577-588, 591-596, 600-610, 619-632, 642-665, 671-692, 694-707	C:5	434-444	26, 176
Spy0621	Proteína hipotética conservada	6-14, 16-25, 36-46, 52-70, 83-111, 129-138, 140-149, 153-166, 169-181, 188-206, 212-220, 223-259, 261-269, 274-282, 286-293, 297-306, 313-319, 329-341, 343-359, 377-390, 409-415, 425-430	C:3	360-375	27, 177
Spy0630	N-acetil-galactosamina-ILC dependiente de PTS putativa	4-26, 28-48, 54-62, 88-121, 147-162, 164-201, 203-237, 245-251	C:2	254-260	28, 178
Spy0681	Proteína hipotética, asociada al fago	12-21, 26-32, 66-72, 87-93, 98-112, 125-149, 179-203, 209-226, 233-242, 249-261, 266-271, 273-289, 293-318, 346-354, 360-371, 391-400	A:8	369-382	29, 179

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0683	asociada a la cápsida menor putativa	11-38, 4-65, 70-87, 129-135, 140-163, 171-177, 225-232, 238-249, 258-266, 271-280, 284-291, 295-300, 329-337, 344-352, 405-412, 416-424, 426-434, 436-455, 462-475, 473-487	B:11, D:4	270-312	30, 180
Spy0702	Proteína hipotética	5-17, 34-45, 59-69, 82-88, 117-129, 137-142, 158-165, 180-195, 201-206, 219-226, 241-260, 269-279, 292-305, 312-321, 341-347, 362-381, 396-410, 413-432, 434-445, 447-453, 482-487, 492-499, 507-516, 546-552, 556-565, 587-604	L:2	486-598	31, 181
	Proteína hipotética conservada, asociada al fago	4-15, 17-32, 40-47, 67-78, 90-98, 101-109, 111-136, 161-171, 184-198, 208-214, 234-245, 247-254, 272-279, 288-298, 303-310, 315-320, 327-333, 338-349, 364-374	B:10	378-396	32, 132
Spy0711	precursor de exotoxina C pirogénica, asociado al fago (speC)	5-27, 33-49, 51-57, 74-81, 95-107, 130-137, 148-157, 173-184	K:2	75-235	33, 183
Spy0720	Proteína hipotética conservada	6-23, 47-53, 57-63, 75-82, 97-105, 113-122, 124-134, 142-153, 159-164, 169-179, 181-187, 192-208, 215-243, 247-257, 285-290, 303-310	D:2	30-51	34, 184
Spy0727	ADN girasa putativa, subunidad B	17-29, 44-52, 59-73, 77-83, 86-92, 97-110, 118-153, 156-166, 173-179, 192-209, 225-231, 234-240, 245-251, 260-268, 274-279, 297-306, 328-340, 353-360, 369-382, 384-397, 414-423, 431-436, 452-465, 492-498, 500-508, 516-552, 554-560, 568-574, 580-586, 609-617, 620-626, 641-647	M:26	208-219	35, 185
Spy0737	Proteína de unión a la matriz extracelular putativa	4-26, 32-45, 58-72, 111-119, 137-143, 146-159, 187-193, 221-231, 235-242, 250-273, 290-304, 311-321, 326-339, 341-347, 354-368, 397-403, 412-419, 426-432, 487-506, 580-592, 619-628, 663-685, 707-716, 743-751, 770-776, 787-792, 850-859, 866-873, 882-888, 922-931, 957-963, 975-981, 983-989, 1000-1008, 1023-1029, 1058-1064, 1089-1099, 1107-1114, 1139-1145, 1147-1156, 1217-1226, 1276-1281, 1329-1335, 1355-1366, 1382-1394, 1410-1416, 1418-1424, 1443-1451, 1461-1469, 1483-1489, 1491-1501, 1515-1522, 1538-1544, 1549-1561, 1587-1593, 1603-1613, 1625-1630, 1636-1641, 1684-1690, 1706-1723, 1765-1771, 1787-1804, 1850-1857, 1863-1894, 1897-1910, 1926-1935, 1937-1943, 1960-1983, 1991-2005, 2008-2014, 2018-2039, 2018-2039	B:5, E:3, K:11	396-533 1342-1502 1672-1920	36, 186
Spy0747	nucleasa extracelular	4-25, 45-50, 53-65, 79-85, 87-92, 99-109, 126-137, 141-148, 156-183, 190-203, 212-217, 221-228, 235-242, 247-277, 287-293, 300-319, 321-330, 341-361, 378-389, 394-406, 437-449, 455-461, 472-473, 482-491, 507-522, 544-554, 576-582, 587-593, 611-621, 626-632, 649-661, 679-685, 696-704, 706-716, 726-736, 740-751, 759-766, 786-792, 797-802, 810-822, 824-832, 843-852, 863-869, 874-879, 882-905	A:72, B:17, H:6, O:3	1-113 210-232 250-423 536-564	37, 187

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0777	exonucleasa A dependiente de ATP putativa, subunidad	4-16, 33-39, 43-49, 54-85, 107-123, 131-147, 157-169, 177-187, 198-209, 220-230, 238-248, 277-286, 293-301, 303-315, 319-379, 383-393, 402-414, 426-432, 439-449, 470-478, 483-497, 502-535, 552-566, 571-582, 596-601, 608-620, 631-643, 651-656, 663-678, 680-699, 705-717, 724-732, 738-748, 756-763, 766-772, 776-791, 796-810, 819-827, 829-841, 847-861, 866-871, 876-882, 887-894, 909-934, 941-947, 957-969, 986-994, 998-1028, 1033-1070, 1073-1080, 1090-1096, 1098-1132, 1134-1159, 1164-1172, 1174-1201	C:4, E:2	617-635	38, 188
Spy0789	transportador ABC putativo (proteína permeasa)	7-25, 30-40, 42-64, 70-77, 85-118, 120-166, 169-199, 202-213, 222-244	A:3	190-203	39, 189
Spy0839	glicerofosfoliéster fosfoliesterasa putativa	4-11, 15-53, 55-93, 95-113, 120-159, 164-200, 210-243, 250-258, 261-283, 298 319, 327-340, 356-366, 369-376, 380-386, 394-406, 409-421, 425-435, 442-454, 461-472, 480-490, 494-505, 507-514, 521-529, 533-544, 566-574	A:7, D:2	385-398	40, 190
Spy0843	proteína de superficie celular	5-36, 66-72, 120-127, 146-152, 159-168, 172-184, 205-210, 221-232, 234-243, 251-275, 295-305, 325-332, 367-373, 470-479, 482-487, 520-548, 592-600, 605-615, 627-642, 655-662, 664-698, 718-725, 734-763, 776-784, 798-809, 811-842, 845-852, 867-872, 879-888 900-928, 933-940, 972-977, 982-1003	A:11, B:3, C:5, D:4, F:50, H:19, G:49, I:112, K:102, L:10, M:3, N:213, O:188, P:310	12-190, 276-283, 666-806	41, 191
Spy0872	5'-nucleotidasa secretada putativa	4-38, 63-68, 100-114, 160-173, 183-192, 195-210, 212-219, 221-238, 240-256, 258-266, 274-290, 301-311, 313-329, 332-341, 357-363, 395-401, 405-410, 420-426, 435-450, 453-461, 468-475, 491-498, 510-518, 529-537, 545-552, 585-592, 602-611, 634-639, 650-664	A:6, D:2, F:5, H:14, I:9, K:10, L:1, N:16, O:12	30-80, 89-105 111-151	42, 192
Spy0895	histidina proteína cinasa	7-29, 31-39, 47-54, 63-74, 81-94, 97-117, 122-127, 146, 157, 168-192, 195-204, 216-240, 251-259	C:11	195-203	43, 193
Spy0972	terminasa putativa, subunidad grande - fago	5-16, 28-34, 46-65, 79-94, 98-105, 107-113, 120-134, 147-158, 163-172, 180-186, 226-233, 237-251, 253-259, 275-285, 287-294, 302-308, 315-321, 334-344, 360-371, 399-412, 420-426	B:2	32-50	44, 194
Spy0981	Proteína hipotética asociada al fago	8-20, 30-36, 71-79, 90-96, 106-117, 125-138, 141-147, 166-174	A:7, B:2	75-90	45, 195
Spy1008	precursor de exotoxina H de estreptocócica (speH)	4-13, 15-33, 43-52, 63-85, 98-114, 131-139, 146-174, 186-192, 198-206, 227-233	C:11	69-88	46, 196

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy1032	hialuronato liasa extracelular	4-22, 29-35, 59-68, 153-170, 213-219, 224-238, 240-246, 263-270, 285-292, 301-321, 327-346, 356-371, 389-405, 411-418, 421-427, 430-437, 450-467, 472-477, 482-487, 513-518, 531-538, 569-576, 606-614, 637-657, 662-669, 673-690, 743-753, 760-767, 770-777, 786-802	B:3, K:3, M:5	96-230 361-491 572-585	47, 197
Spy1054	proteína análoga al colágeno putativa (ScC)	4-12, 21-36, 48-55, 74-82, 121-127, 195-203, 207-228, 247-262, 269-278, 280-289	A:71, B:13, C:233, D:41, E:163, F:200, G:442, H:129, N:3	102-210	48, 198
Spy1063	proteína periplásmica fijadora de hierro putativa	13-20, 23-31, 38-44, 78-107, 110-118, 122-144, 151-164, 176-182, 190-198, 209-216, 219-243, 251-256, 289-304, 306-313	A:4	240-248	49, 199
Spy1162	Ribonucleasa putativa	5-26, 34-48, 57-77, 84-102, 116-132, 139-145, 150-162, 165-173, 176-187, 192-205, 216-221, 234-248, 250-260 HII	B:3, C:5	182-198	50, 200
Spy1206	transportador ABC putativo	10-19, 26-44, 53-62, 69-87, 90-96, 121-127, 141-146, 148-158, 175-193, 204-259, 307-313, 334-348, 360-365, 370-401, 411-439, 441-450, 455-462, 467-472, 488-504	A:2	41-56	51, 201
Spy1228	lipoproteína putativa	5-21, 36-42, 96-116, 123-130, 138-144, 146-157, 184-201, 213-228, 252-259, 277-297, 308-313, 318-323, 327-333	M:33	202-217	52, 202
Spy1245	transportador ABC fosfato putativo	6-26, 33-51, 72-90, 97-131, 147-154, 164-171, 187-216, 231-236, 260-269, 275-283	I:3, K:3	1-127	53, 203
Spy1315	Proteína hipotética	4-22, 24-38, 44-58, 72-88, 99-108, 110-117, 123-129, 131-137, 142-149, 167-178, 181-190, 206-214, 217-223, 271-282, 290-305, 320-327, 329-336, 343-352, 354-364, 396-402, 425-434, 451-456, 471-477, 485-491, 515-541, 544-583, 595-609, 611-626, 644-656, 660-681, 683-691, 695-718	B:4	297-458	54, 204
Spy1357	proteína GRAB (proteína de unión a alfa 2M relacionada con la proteína G)	5-43, 92-102, 107-116, 120-130, 137-144, 155-163, 169-174, 193-213	G:27, H:8, K:2, N:4	24-135.	55, 205
SPy1361	precursor de internalina A putativa	4-25, 61-69, 73-35, 88-95, 97-109, 111-130, 135-147, 150-157, 159-179, 182-201, 206-212, 224-248, 253-260, 287-295, 314-331, 338-344, 365-376, 396-405, 413-422, 424-430, 432-449, 478-485, 487-494, 503-517, 522-536, 544-560, 564-578, 585-590, 597-613, 615-623, 629-636, 640-649, 662-671, 713-721	F:21, G:26, H:6, K:4, N:5	176-330	56, 206
Spy1371	glicerilbido-3-fosfato deshidrogenasa dependiente de NADP putativa	31-37, 41-52, 58-79, 82-105, 133-179, 184-193, 199-205, 209-226, 256-277, 281-295, 297-314, 322-328, 331-337, 359-367, 379-395, 403-409, 417-432, 442-447, 451-460, 466-472	D:14, H:3	46-62, 296-341	57, 207

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy1375	ribonucleótido reductasa alfa-c putativa	23-29, 56-63, 67-74, 96-108, 122-132, 139-146, 152-159, 167-178, 189-196, 214-231, 247-265, 274-293, 301-309, 326-332, 356-363, 378-395, 406-412, 436-442, 445-451, 465-479, 487-501, 528-555, 567-581, 583-599, 610-617, 622-629, 638-662, 681-686, 694-700, 711-716	A:2	667-684	58, 208
Spy1389	alanil-ARNt sintasa putativa	20-51, 53-59, 109-115, 140-154, 185-191, 201-209, 212-218, 234-243, 253-263, 277-290, 303-313, 327-337, 342-349, 374-382, 394-410, 436-442, 464-477, 486-499, 521-530, 536-550, 560-566, 569-583, 652-672, 680-686, 698-704, 718-746, 758-770, 774-788, 802-827, 835-842, 861-869	B:2, P:3	258-416	59, 209
Spy1390	proteína de maduración de proteasa putativa	7-25, 39-45, 59-70, 92-108, 116-129, 161-168, 202-211, 217-227, 229-239, 254-262, 271-278, 291-300	A:3, B:2, D:3	278-295	60, 210
Spy1422	proteína de recombinación putativa	4-20, 27-33, 45-51, 53-62, 66-74, 81-88, 98-111, 124-130, 136-144, 156-179, 183-191	C:2	183-195	61, 211
Spy1436	desoxirribonucleasa putativa	12-24, 27-33, 43-49, 55-71, 77-85, 122-131, 168-177, 179-203, 209-214, 226-241	K:1	63-238	62, 212
Spy1494	proteína hipotética	4-19, 37-50, 120-126, 131-137, 139-162, 177-195, 200-209, 211-218, 233-256, 260-268, 271-283, 288-308	G:3, I:5, K:6, M:5, N:10, O:6, P:4	1-141	63, 213
Spy1523	proteína de división celular	11-17, 40-47, 57-63, 96-124, 141-162, 170-207, 223-235, 241-265, 271-277, 281-300, 312-318, 327-333, 373-379	1:2	231-368	64, 214
Spy1536	proteína hipotética conservada	9-33, 41-43, 57-79, 97-103, 113-138, 146-157, 165-186, 195-201, 209-215, 223-229, 237-247, 277-286, 290-297, 328-342	A:19, C:3	247-260	65, 215
Spy1564	proteína hipotética conservada	7-15, 39-45, 58-64, 79-84, 97-127, 130-141, 163-176, 195-203, 216-225, 235-247, 254-264, 271-279	C:4	64-72	66, 216
Spy1604	proteína hipotética conservada	4-12, 26-42, 46-65, 73-80, 82-94, 116-125, 135-146, 167-173, 183-190, 232-271, 274-282, 300-306, 320-343, 351-362, 373-383, 385-391, 402-409, 414-426, 434-455, 460-466, 473-481, 485-503, 519-525, 533-542, 554-565, 599-624, 645-651, 675-693, 717-725, 751-758, 767-785, 792-797, 801-809, 819-825, 831-836, 859-869, 890-897	B:2, K:2	222-362 756-896	67, 217

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, ORF, Prot.)
Spy1607	proteína hipotética conservada	11-17, 22-28, 52-69, 73-83, 86-97, 123-148, 150-164, 166-177, 179-186, 188-199, 219-225, 229-243, 250-255	D:5	153-170	68, 218
Spy1615	proteína de competencia tardía putativa	4-61, 71-80, 83-90, 92-128, 133-153, 167-182, 184-192, 198-212	C:4	56-73	69, 219
Spy1666	proteína hipotética conservada	4-19, 26-37, 45-52, 58-66, 71-77, 84-92, 94-101, 107-118, 120-133, 156-168, 170-179, 208-216, 228-238, 2, 53-273, 280-296, 303-317, 326-334	D:2	298-312	70, 220
Spy1727	proteína hipotética conservada	7-13, 27-35, 38-56, 85-108, 113-121, 123-160, 163-169, 172-183, 188-200, 206-211, 219-238, 247-254	B:5	141-157	71, 221
Spy1785	ADN helicasa dependiente de ATP putativa	23-39, 45-73, 86-103, 107-115, 125-32, 137-146, 148-158, 160-168, 172-179, 185-192, 200-207, 210-224, 233-239, 246-255, 285-334, 338-352, 355-379, 383-389, 408-417, 423-429, 446-456, 460-473, 478-503, 522-540, 553-562, 568-577, 596-602, 620-636, 640-649, 655-663	D:3	433-440 572-593	72, 222
Spy1798	proteína hipotética	4-42, 46-58, 64-76, 118-124, 130-137, 148-156, 164-169, 175-182, 187-194 203-218, 220-227, 241-246, 254-259, 264-270, 275-289, 296-305, 309-314, 322-334, 342-354, 398-405, 419-426, 432-443, 462-475, 522-530, 552-567, 593-607, 618-634, 636-647, 653-658, 662-670, 681-695, 698-707, 709-720, 732-742, 767-792, 794-822, 828-842, 851-866, 881-890, 895-903, 928-934, 940-963, 978-986, 1003-1025, 1027-1043, 1058-1075, 1080-1087, 1095-1109, 1116-1122, 1133-1138, 1168-1174, 1179-1186, 1207-1214, 1248-1267	A:12, I:12, K:7, N:17, O:13, P:8	17-319 417-563	73, 223
Spy1801	homólogo del precursor de proteína inmunogénica secretada	6-19, 23-33, 129-138, 140-150, 153-184, 190-198, 206-219, 235-245, 267-275, 284-289, 303-310, 322-328, 354-404, 407-413, 423-446, 453-462, 467-431, 491-500	H:2, I:8, K:6, N:11	46-187	74, 224
Spy1813	proteína hipotética	4-34, 39-57, 78-86, 106-116, 141-151, 156-162, 165-172, 213-237, 252-260, 262-268, 272-279, 296-307, 332-338, 397-403, 406-416, 431-446, 448-453, 464-470, 503-515, 519-525, 534-540, 551-563, 578-593, 646-663, 693-699, 703-719, 738-744, 748-759, 771-777, 807-813, 840-847, 870-876, 897-903, 910-925, 967-976, 979-992	I:16, K:12, N:6	21-244 381-499 818-959	75, 225

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy1821	factor EF-P de elongación de traducción putativo	19-29, 65-75, 90-109, 111-137, 155-165, 169-175	C:6	118-136	76, 226
Spy1916	fosfo-beta-D-galactosidasa Putativa	15-20, 30-36, 55-63, 73-79, 90-117, 120-127, 136-149, 166-188, 195-203, 211-223, 242-255, 264-269, 281-287, 325-330, 334-341, 348-366, 395-408, 423-429, 436-444 452-465 436-444, 452-465	C:8	147-155	77, 227
Spy1972	Pululianasa	11-18, 21-53, 77-83, 91-98, 109-119, 142-163, 173-181, 193-208, 216-227, 238-255, 261-268, 274-286, 290-297, 308-315, 326-332, 352-359, 377-395, 399-406, 418-426, 428-438, 442-448, 458-465, 473-482, 488-499, 514-524, 543-553, 564-600, 623-632, 647-654, 660-669, 672-678, 710-723, 739-749, 787-793, 820-828, 838-860, 889-895, 901-907, 924-939, 956-962, 969-976, 991-999, 1012-1018, 1024-1029, 1035-1072, 1078-1091, 1142-1161	A:6, I:2, K:5, N:9	74-438	78, 228
Spy1979	precursor de estreptocinasa A	4-31, 41-52, 58-63, 65-73, 83-88, 102-117, 123-130, 150-172, 177-195, 207-217, 222-235, 247-253, 295-305, 315-328, 335-342, 359-365, 389-394, 404-413	I:6, M:3, N:10	156-420	79, 229
Spy1983	proteína de superficie análoga al colágeno (ScID)	4-42, 56-69, 98-108, 120-125, 210-216, 225-231, 276-285, 304-310, 313-318, 322-343	A:81, B:24, F:19, G:41 I:2 K:2	79-348	80, 230
Spy1991	antranilato sintasa componente II	12-21, 24-30, 42-50, 61-67, 69-85, 90-97, 110-143, 155-168	D:2	53-70	81, 231
Spy2000	lipoproteína de superficie	4-26, 41-54, 71-78, 88-96, 116-127, 140-149, 151-158, 161-175, 190-196, 201-208, 220-226, 240-247, 266-281, 298-305, 308-318, 321-329, 344-353, 370-378, 384-405, 418-426, 429-442, 457-463, 494-505, 514-522	B:3, N:2	183-341	82, 232
Spy2006	proteína hipotética	4-27, 69-77, 79-101, 117-123, 126-142, 155-161, 171-186, 200-206, 213-231, 233-244, 258-263, 269-275, 315-331, 337-346, 349-372, 376-381, 401-410, 424-445, 447-455, 463-470, 478-484, 520-536, 546-555, 558-569, 580-597, 603-618, 620-638, 643-660, 668-583, 717-723, 765-771, 781-788, 792-806, 812-822	A:15, B:9, C:5, D:3, F:18, G:25, H:5, M:10, N:5	92-231 618-757	83, 233
Spy2009	proteína hipotética	11-47, 63-75, 108-117, 119-128, 133-143, 171-185, 190-196, 226-232, 257-264, 278-283, 297-309, 332-338, 341-346, 351-358, 362-372	B:2, I:7, K:7, P:2	41-170	84, 234
Spy2010	precursor de C5A peptidasa	6-26, 50-56, 83-89, 108-114, 123-131, 172-181, 194-200, 221-238, 241-259, 263-271, 284-292, 304-319, 321-335, 353-358, 384-391, 408-417, 424-430, 442-448, 459-466, 487-500, 514-528, 541-556, 572-578, 595-601, 605-613, 620-631, 634-648, 660-679, 686-693, 702-708, 716-725, 730-735, 749-755, 770-777, 805-811, 831-839,	A:47, B:10, D:3, F:48, G:20, H:4, I:6, K:13, M:5, N:10, P:6	20-437 757-1153	85, 235

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
		843-851, 854-860, 863-869, 895-901, 904-914, 922-929, 933-938, 947-952, 956-963, 1000-1005, 1008-1014, 1021-1030, 1131-1137, 1154-1164, 1166-1174			
Spy2016	inhibidor del complemento (Sic)	10-34, 67-78, 131-146, 160-175, 189-194, 201-214, 239-250, 265-271, 296-305	A:11, B:38, C:16, F:56, G:27, H:13, K:5, N:2, O:3, P:14	26-74 91-100 105-303	86, 236
Spy2018	Proteína M1	9-15, 19-32, 109-122, 143-150, 171-180, 186-191, 209-217, 223-229, 260-273, 302-315, 340-346, 353-359, 377-383, 389-406, 420-426, 460-480	A:316, B:26, C:107, D:12, E:49, F:88, G:118, H:6, I:7, K:2, M:48, N:4	10-223 231-251 264-297 312-336	87, 237
Spy2025	precursor de proteína inmunogénica secretada	5-28, 76-81, 180-195, 203-209, 211-219, 227-234, 242-252, 271-282, 317-325, 350-356, 358-364, 394-400, 405-413, 417-424, 430-436, 443-449, 462-482, 488-498, 503-509, 525-537	F:7, G:16, H:7, K:63, L:2, N:18, O:42	22-344	88, 238
Spy2039	exotoxina B pirogénica	5-28, 42-54, 77-83, 86-93, 98-104, 120-127, 145-159, 166-176, 181-189, 189-197, 213-218, 230-237, 263-271, 285-291, 299-305, 326-346, 368-375, 390-395	I:15, K:3, N:12	1-151	89, 239
Spy2043	factor mitogénico MF1 (speF)	6-34, 48-55, 58-64, 84-101, 121-127, 143-149, 153-159, 163-170, 173-181, 216-225, 227-240, 248-254, 275-290, 349-364, 375-410, 412-418, 432-438, 445-451, 465-475, 488-496, 505-515, 558-564, 571-579, 585-595, 604-613, 626-643, 652-659, 677-636, 638-696, 702-709, 731-747, 777-795, 820-828, 836-842, 845-856, 863-868, 874-882, 900-909, 926-943, 961-976, 980-986, 992-998, 1022-1034, 1044-1074, 1085-1096, 1101-1112, 1117-1123, 1130-1147, 1181-1187, 1204-1211, 1213-1223, 1226-1239, 1242-1249, 1265-1271, 1273-1293, 1300-1308, 1361-1367, 1378-1384, 1395-1406, 1420-1428, 1439-1446, 1454-1460, 1477-1487, 1509-1520, 1526-1536, 1557-1574, 1585-1596, 1605-1617, 1621-1627, 1631-1637, 1648-1654, 1675-1689, 1692-1698, 1700-1706, 1712-1719, 1743-1756	K:1	91-263	90, 240
Spy2059	proteína de unión a penicilina 2ª	4-16, 75-90, 101-136, 138-144, 158-164, 171-177, 191-201, 214-222, 231-241, 284-290, 297-305, 311-321, 330-339, 352-369, 378-385, 403-412, 414-422, 428-435, 457-473, 503-521, 546-554, 562-568, 571-582, 589-594, 600-608, 626-635, 652-669, 687-702, 706-712, 718-724, 748-760, 770-775	D:2, E:2	261-272	91, 241
Spy2110	ribonucleosido-trifosfato reductasa anaeróbica putativa	4-19, 30-41, 46-57, 62-68, 75-92, 126-132, 149-156, 158-168, 171-184, 187-194, 210-216, 218-238, 245-253, 306-312, 323-329, 340-351, 365-373, 384-391, 399-405, 422-432, 454-465, 471-481, 502-519, 530-541, 550-562, 566-572, 576-582, 593-599, 620-634, 637-643, 645-651, 657-664, 688-701	E:7	541-551	92, 242

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy2127	proteína hipotética	6-11, 17-25, 53-58, 80-86, 91-99, 101-113, 123-131, 162-169, 181-188, 199-231, 245-252	I:6, P:2	84-254	93, 243
Spy2191	proteína hipotética	13-30, 71-120, 125-137, 139-145, 184-199	C:20, E:3, M:5	61-78	94, 244
Spy2211	proteína transmembranaria	9-30, 38-53, 63-70, 74-97, 103-150, 158-175, 183-217, 225-253, 260-268, 272-286, 290-341, 352-428, 434-450, 453-460, 469-478, 513-525, 527-534, 554-563, 586-600, 602-610, 624-640, 656-684, 707-729, 735-749, 757-763, 766-772, 779-788, 799-805, 807-815, 819-826, 831-855	A:3	568-580	95, 245
ARF0450	sin homología	11-21, 29-38	A:11	5-17	96, 246
ARF0569	sin homología	ninguno	A:2	2-9	97, 247
ARF0694	sin homología	4-10, 16-28	B:7, D:3, M:3	7-18 26-34	98, 248
ARF0700	sin homología	10-16	M:11	1-15	99, 249
ARF1007	sin homología	ninguno	B:2	4-11	100, 250
ARF1145	sin homología	4-40, 42-51	C:9	37-53	101, 251
ARF1208	sin homología	4-21	C:1	22-29	102, 252
ARF1262	sin homología	ninguno	D:2	2-11	103, 253
ARF1294	39% con SA0131 (primeros 28 aa de la proteína de 67 aa)	9-17, 32-44	D:2	1-22	104, 254
AEF1316	sin homología	19-25, 27-32	E:19	15-34	105, 255
ARF1352	38% con SA1142 (265-295 aa de la proteína de 358)	4-12, 15-22	D:4	11-33	106, 256

ES 2 330 334 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
ARF1481	sin homología	10-17, 24-30, 39-46, 51-70	C:2	51-61	107, 257
ARF1557	sin homología	ninguno	C:2	6-19	108, 258
ARF1629	36% con SP0069 (139-169 aa de la proteína de 211 aa)	6-11, 21-27, 31-54	A:4, B:6	11-29	109, 259
ARF1654	sin homología	4-10, 13-45	A:2	11-35	110, 260
ARF2027	sin homología	4-14, 23-32	D:2	11-35	111, 261
ARF2093	factor de elongación TS putativo	19-39, 45-51	C:3	15-29	112, 262
ARF2207	38% con SP1006 (aa 7-37 de la proteína de 67 aa)	4-11, 14-28	A:117	4-17	113, 263
CRF0038	sin homología	4-16	C:6	2-16	114, 264
CRF0122	sin homología	4-10, 12-19, 39-50	C:2	6-22	115, 265
CRF0406	sin homología	ninguno	D:5, E:11	2-13	116, 266
CRF0416	sin homología	4-11, 22-65	C:42	3-19	117, 267
CRF0507	sin homología	17-23, 30-35, 39-46, 57-62	B:3, C:4	30-49	118, 268
CRF0549	sin homología	4-19	C:6	14-22	119, 269
CRF0569	sin homología	ninguno	N:35	2-9	120, 270
CRF0628	34% (14 de 41) con proteína hipotética conservada de <i>P. aeruginosa</i>	7-18, 30-43	A:3	4-12	121, 271
CRF0727	40% (16 de 40) con regulador transcripcional de <i>S. pneumoniae</i> (70 aa, SP0584)	4-30, 39-47	N:6	5-22	122, 272
CRF0742	33% con SA0422 (aa 11-37 de la proteína 42 de aa,	6-15	D:7, E:12	14-29	123, 273

ES 2 330 334 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
	presentada como proteína de 280 aa)				
CRF0784	sin homología	4-34	N:9	23-35	124, 274
CRF0854	sin homología	4-36, 99-57, 65-72	N:14	14-27	125, 275
CRF0875	sin homología	4-18	A:4, D:1	11-20	126, 276
CRF0907	Homología con el regulador de tráfico lisosomal LYST [Homo sapiens]	ninguno	A:39	5-19	127, 277
CRF0979	sin homología	18-36	D:21	6-20	128, 278
CRF1063	sin homología	4-10, 19-34, 41-84, 96-104	C:1, D:3	50-63	129, 279
CRF1152	sin homología	4-9, 19-27	C:15	8-21	130, 280
CRF1203	sin homología	4-16, 18-28	N:3	22-30	131, 281
CRF1225	sin homología	4-15	C:8	21-35	132, 282
CRF1236	sin homología	4-17	N:3	3-13	133, 283
CRF1362	sin homología	4-12	C:6	4-18	134, 284
CRF1524	sin homología	4-24, 31-36	D:3	29-45	135, 285
CRF1525	sin homología	12-22, 34-49	C:2	21-32	136, 286
CRF1527	sin homología	4-17	D:4, E:1	22-32	137, 287
CRF1588	sin homología	4-16, 25-42	C:2	7-28	138, 288
CRF1649	sin homología	4-10	C:3	7-20	139, 289
CRF1749	sin homología	4-11, 16-36, 39-54	C:15	28-44	140, 290
CRF1903	sin homología	5-20, 29-54	A:14	14-29	141, 291

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Proteína antigénica de <i>S. pyogenes</i>	Función putativa (por homología)	aa inmunogénicos predichos**	Nº de clones seleccionados por ORF y selección	Localización de la región inmunogénica identificada (aa)	Sec. ID (ADN, Prot.)
CRF1964	sin homología	24-33	A:8	10-22	142, 292
CRF2055	sin homología	10-51, 54-61	B:1, F:12, H:14	43-64	143, 293
CRF2091	sin homología	7-13	C:2	2-17	144, 294
CRF2096	sin homología	11-20	C:4	6-20	145, 295
CRF2104	sin homología	4-30, 34-41	C:2	19-28	146, 296
CRF2116	sin homología	n.d.		11-21	147, 297
CRF2153	sin homología	4-16, 21-26	F:2	9-38	148, 298
NRF0001	ARF en transportador de Oligo ABC (no anotado por TIGR), 33% con SA0643 (107-162 aa de la proteína de 469 aa)	4-12, 15-27, 30-42, 66-72	A:7, B:1	10-24	149, 299
NRF0003	sin homología	8-17	A:23	11-20	150, 300

ES 2 330 334 T3

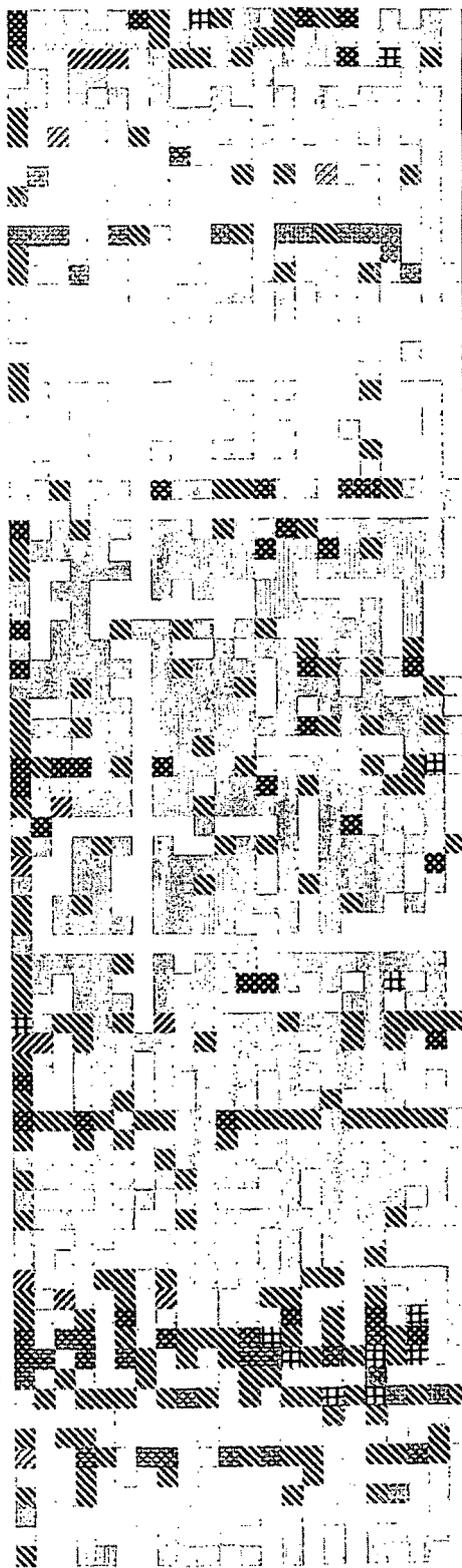
	SPO0872.1	QAGMVGSPANSALL	192	90-105		33	9	4	4	1
	SPO0872.2	IVNRMKREYGTGHEDELEDEF	192	112-136		24	15	3	1	
	SPO0895.1	FEVAVRNLMLHDKPTEEE	193	290-209		30	7	8	1	1
5	SPO0972.1	KSRGSKSKKTDAJNETV	194	33-50		6	6			
	SPO0881.1	DELQELRNDKTRNEL	195	76-90		12	12			
	SPO1003.1	MLKQSVKRNLSVFEKOW	196	70-88		17	15	1		
	SPO1032.1	TRKTLATQGFAPVAVZDLKTYHD	197	418-442		17	11	3		
	SPO1032.2	ASKULHNTSALA	197	574-585		10	7			1
	SPO1054.1	EKGZGPTKQDORCEIU	198	87-104		20	9	4	1	
	SPO1054.2	VGFQGTGGKGLLGGQGGDLH	198	124-148		15	13	1		
10	SPO1054.3	KGDGQKGGG	198	141-152		3	3			
	SPO1063.1	IKSPBMT	199	241-248		41	5	3	10	
	SPO1162.1	QSLRQGRNLSIAAA	200	183-198		19	14	1	1	
	SPO1203.1	QJVGANGGKSTHSTHVT	201	40-57		23	14	3	2	
	SPO1228.1	CSFGDANKTIAAQQ	202	302-217		14	14			
	SPO1245.1	DEFGSSHLGTVWGGSGTGLSO	203	50-74		5	5			
	SPO1245.2	GTGLSQHGGVQJGGSDVFNKGO	203	69-93		;	;			
15	SPO1245.3	FREKGGTDASKVTHQJAVGLAV	203	88-112		1	1			
	SPO1245.4	VAGLAVTVKRVKVNLSQQ	203	107-127		5	3	1		
	SPO1357.1	KQALDEKENTALEASS	205	74-92		13	9	2		
	SPO1361.1	FGUHFYTSDFQDQGGJIVGJKOSI	206	207-232		4	4			
	SPO1361.2	VYKOSLIVHGRHUPSTFADLRGGG	206	227-252		6	6			
	SPO1361.3	BLRQGVAVHVDQDQAVKQESPAET	206	247-272		9	7	1		
	SPO1371.1	ASAKALSMARALS	207	47-60		5	5			
20	SPO1371.2	ALQLAEXK	207	297-305		31	11	4	4	
	SPO1371.3	SVQDEEDADITPLLDSPAADFVEGL	207	312-337		2	2			
	SPO1375.1	LXWPKESQUTRBLSTL	208	667-384		25	13	3	2	
	SPO1380.1	IXANAKIQKADENILA	210	279-295		25	15	2	2	
	SPO1422.1	DIEYADENTLARAENKDEL	211	179-198		17	15	1		
	SPO1494.1	NILSATKIKFKDCTDLKQDARFD	213	27-51		8	8			
	SPO1494.2	DWARKDELHLWSSGTTDADR	213	46-70		7	7			
25	SPO1494.3	DADRMDDELDEEFTSNETDM	213	65-89		19	10	3	1	
	SPO1494.4	NEDMDELDRILRNLLELDEE	213	84-108		14	10	2		
	SPO1494.5	DEEDTELEPQVDMSELEFLILAVETER	213	112-141	27	12	3	3		
	SPO1538.1	ITKDELAVERTIA	215	248-260	19	13	3			
	SPO1584.1	IFVQNRKIDDERSDRNF	216	59-78	17	15	1			
	SPO1607.1	AGVSKLETKYKGLP	218	154-170	28	15	5	1		
	SPO1615.1	CRCLIKENEGQVNR	219	57-73	15	11	2			
30	SPO1681.1	EZKKGEDSVKQPLFS	220	297-314	37	11	5	4	1	
	SPO1727.1	KRGLKPEKSVATVH	221	142-157	26	14	3	2		
	SPO1786.1	ELPGRKEDRWARKEHIG	222	428-447	28	14	3			
	SPO1786.2	VDMKPKTEGGQVATMDET	222	573-593	12	6	2			
	SPO1788.1	EVNMLKQLGELGKLSKTEL	223	523-544	21	11	5			
	SPO1788.2	NLDVZEGFASQSGNENYKHEK	223	46-70	17	12	1	1		
	SPO1788.3	YKDEKIVDNDVYKESLEKEDFD	223	65-89	17	13	2			
35	SPO1788.4	GERDINVOGDQVALLKGGHRE	223	84-108	18	12	3			
	SPO1788.6	TEKGGKVTFTSQKGTHTHDSLRKOV	223	122-151	12	10	1			
	SPO1801.1	KPTQKPKSPSVDTPASS	224	123-142	2	2				
	SPO1813.1	DNDRKSSPVPVLELIG	225	903-921	20	16	2			
	SPO1821.1	EVIGVIVPTVLEAVET	226	119-136	23	11	1	2	1	
	SPO1916.1	AEKFKESDMMITENCI	227	142-161	12	10	1			
40	SPO1972.1	AVZGHTLLASSTEDADV	228	258-277	34	10	10		1	
	SPO1972.2	GDADRQVENDRKLZLNHTQVFKDTP	228	272-300	27	12	6	1		
	SPO1972.3	VKQTKVYVNRPTDQVSRGZQVTP	228	295-322	18	16	1			
	SPO1979.1	DFTESEALFTKIVQVNTNELLSEQLLDS	229	311-343	15	12	1			
	SPO1979.2	YEDNRKGGKEDNTEDESEKYVVK	229	278-304	15	9	3			
	SPO1983.1	ENGQGGPAGDGEQGTQGR	230	131-150	42	5	14	3		
	SPO1983.2	RGEKGGKGGGTGGVGGGE	230	195-218	24	16	4			
45	SPO1981.1	MPEZAKRKLQKPYUT	231	53-70	22	20	1			
	SPO2000.1	NFGSGPMKKNAGEQLVFNIP	232	184-208	20	16	2			
	SPO2000.4	MIVATHELADKQVNTLLDPSND	232	222-246	11	11				
	SPO2000.5	DLPKAVKLSLVPVANGVITSPD	232	241-265	12	12				
	SPO2000.6	ITDSDQVAVQVTSQVLRKALT	232	260-284	13	11	1			
	SPO2000.8	NGVQKAVSITDKTPVNRKQALND	232	279-303	26	14	6			
50	SPO2006.1	VIAKRTVNRKQSPSIRRA	233	317-341	23	9	7			
	SPO2010.1	BRACDTPASQVTRDNDSEQVCTL	235	678-696	30	11	3	3	1	
	SPO2010.2	PTASGKLSRFSKGLDA	235	88-114	45	8	7	7	1	
	SPO2018.1	KRDQGGKGVAVDPTVTPY	236	464-481	51	6	6	7	3	
	SPO2018.2	DFYTPPVGALGTVEKRD	236	153-172	22	8	4	2		
	SPO2018.3	FORNGKLSRFS	236	137-155, 166-184	45	5	12	3	2	
	SPO2018.1	TEVAVKQVTRRVI	237	215-228	18	14	2			
55	SPO2018.2	DIANNBALQVDRURYNDQJA	237	37-51	21	13	4			
	SPO2018.3	EBENKLSASQSLAROLDA	237	53-75	42	8	8	6		
	SPO2018.4	EKQESASQGLAROLLAS	237	232-251	17	11	3			
	SFO2025.1	AFUENHNRK	238	318-336	27	16	4	1		
	SFO2025.3	QKQCRPTEPQDQVOTPLATEIS	238	305-315	0	5	1			
	SFO2028.1	QSVAVEDASQVGTIT	241	131-156	10	10				
60	SFO2127.1	ARAVAVDITKSGQVYVQVAVRNDDE	243	258-275	12	10	1			
				107-137						

Tabla 2-2

65

ES 2 330 334 T3

TABLA 3

Distribución de genes en cepas de S. pyogenes

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0012	Proteína hipotética	50	3/302	SP0010 - 40%/ninguna	1, 151
Spy0019	proteína secretada putativa (división celular y tolerancia a antibióticos)	50	0/300	SP2216 - 44-49%/ninguna	2, 152
Spy0025	foforribosilformil glicinamidina sintasa II putativa	38	0/303	SP0045 - 85%/24%	3, 153
Spy0031	proteína de unión a colina putativa	50	0/297	SP2201 - 42% (cbpD)/ninguna	4, 154
Spy0103	proteína de competencia putativa	50	0/81	SP2051 - 41%/ninguna	5, 155
Spy0112	pirrolina carboxilato reductasa putativa	50	3/235	SP0933 - 32%/34%	6, 156
Spy0115	glutamilamino peptidasa putativa	50	6/306	SP1865 - 76%/30%	7, 157
Spy0166	Proteína hipotética	50	n.d.	Ninguna/Ninguna	8, 158
Spy0167	Estreptolisina O	50	7/300	SP1923 - 40% (Neumolisina)/ninguna	9, 159
Spy0168	Proteína hipotética	8	19/126	Ninguna/Ninguna	10, 160
Spy0171	Proteína hipotética	18	8/95	Ninguna/Ninguna	11, 161
Spy0183	transportador ABC de glicina betaína/prolina putativa	50	0/297	SP0151 - 39%/48%	12, 162
Spy0230	transportador ABC putativo (proteína de unión a ATP)	50	1/299	SP2073 - 64%/32%	13, 163
Spy0269	proteína de exclusión de superficie putativa	50	1/303	Ninguna/Ninguna	14, 164
Spy0287	proteína hipotética conservada	50	1/307	SP0868 - 71%/19%	15, 165
Spy0292	proteína de unión a penicilina (D-alanil-D-alanina carboxipeptidasa)	50	1/359	SP0872 - 47%/27%	16, 166
Spy0295	oligopeptidopermeasa	50	2/269	SP1889 - 69%/24%	17, 167
Spy0348	aminodesoxicorismato liasa putativa	50	1/307	SP1518 - 47%/25%	18, 168
Spy0416	serina proteinasa de envoltura celular putativa	50	4/314	SP0641 - 22%/ninguna	19, 169
Spy0430	Proteína hipotética	13	0/165#	Ninguna/Ninguna	20, 170
Spy0433	Proteína hipotética	21 (27/49) ¹	2/174#	Ninguna/Ninguna	21, 171

ES 2 330 334 T3

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0437	Proteína hipotética	19 (34/49) ¹	0/106#	Ninguna/Ninguna	22, 172
Spy0469	Proteína putativa de 42 kDa	50	6/313	SP2063 - 44% (proteína LysM)/ninguna	23, 173
Spy0488	Proteína hipotética	50	9/178	Ninguna/Ninguna	24, 174
Spy0515	Azúcar transferasa putativa	50	n.d.	SP1075 - 26%/ninguna	25, 175
Spy0580	Proteína hipotética conservada	50	0/297	SP0908 - 72%/43%	26, 176
Spy0621	Proteína hipotética conservada	50	n.d.	SP1290 - 72%/ninguna	27, 177
Spy0630	N-acetil-galactosamina-IIc dependiente de PTS putativa	50	n.d.	SP0324 - 79%/30%	28, 178
Spy0681	Proteína hipotética, fago asociada	27	2/303#	Ninguna/Ninguna	29, 179
Spy0683	proteína de cápside menor putativa, asociada al fago	25	1/233	Ninguna/Ninguna	30, 180
Spy0702	Proteína hipotética	22	n.d.	Ninguna/Ninguna	31, 181
Spy0710	Proteína hipotética conservada, asociada al fago	32	51/286#	Ninguna/ 36% en 122 de 313 aa	32, 132
Spy0711	precursor de exotoxina C pirogénica, asociada al fago (speC)	17	1/225	Ninguna/Ninguna	33, 183
Spy0720	Proteína hipotética conservada	50	2/270	SP1298 - 60% (proteína DHH 1)/ninguna	34, 184
Spy0727	girasa de ADN putativa, subunidad B	n.d.	n.d.	SP0806 - 80%/46%	35, 185
Spy0737	Proteína de unión a la matriz extracelular putativa	29 (48/49) ¹	0/466#	Ninguna/ 27% en 340 de 421 aa	36, 186
Spy0747	nucleasa extracelular	50	0/179	Ninguna/Ninguna	37, 187
Spy0777	exonucleasa dependiente de ATP putativa, subunidad A	50	2/306	SP1152 - 48%/22%	38, 188
Spy0789	transportador ABC putativo (proteína permeasa)	50	1/231	Ninguna/Ninguna	39, 189
Spy0839	glicerofosfodiéster fosfodiesterasa putativa	50	1/301	SP0994 - 24%/ 31% en 121 de 358 aa	40, 190
Spy0843	proteína de superficie celular	50	3/312	Ninguna/Ninguna	41, 191

ES 2 330 334 T3

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy0872	5'-nucleotidasa secretada putativa	50	2/309	Ninguna/ 27% en 274 de 647 aa	42, 192
Spy0895	histidina proteína cinasa	50	0/244	Ninguna/Ninguna	43, 193
Spy0972	terminasa putativa, subunidad grande - fago	28	1/314#	Ninguna/Ninguna	44, 194
Spy0981	Proteína hipotética - asociada al fago	23	n.d.	Ninguna/Ninguna	45, 195
Spy1008	precursor de exotoxina H de estreptococo (speH)	15 (14/49) ¹	1/223#	Ninguna/Ninguna	46, 196
Spy1032	hialuronato liasa extracelular	50 (175 de 175, Hynes 2000)	3/331	SP0314 - 51%/ninguna	47, 197
Spy1054	proteína análoga al colágeno putativa (ScIC)	26 (45/49) ¹ (50 de 50, pero número variable de repeticiones; Lukomski, 2001)	n.d.	Ninguna/Ninguna	48, 198
Spy1063	proteína periplásmica fijadora de hierro putativa	49/50 (49/49) ¹	2/292#	SP0243 - 52%, transportador ABC de hierro / 26% en 161 de 348 aa	49, 199
Spy1162	ribonucleasa HII putativa	50	3/240	SP1156 - 67%/46%	50, 200
Spy1206	transportador ABC putativo	50	1/302	SP0770 - 81%/30%	51, 201
Spy1228	lipoproteína putativa	49	n.d.	SP0845 - 57%/ninguna	52, 202
Spy1245	transportador ABC putativo	50	n.d.	SP1400 - 64%/ninguna	53, 203
Spy1315	Proteína hipotética	50	4/305	SP1241 - 64%/32%	54, 204
Spy1357	proteína GRAB (proteína de unión a alfa 2M relacionada con la proteína G)	49; 11 de 12 cepas (Rasmussen, 1999)	9/266; inserción de 28 aa	Ninguna/Ninguna	55, 205
SPy1361	precursor de internalina A putativa	50	7/295	SP1004 - 26% en 283 de 1093/ninguna	56, 206
Spy1371	gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa dependiente de NADP putativa	50	2/308	SP1119 - 71%/34%	57, 207
Spy1375	ribonucleótido reductasa alfa-c putativa	50	4/304	SP1179 - 85%/49%	58, 208
Spy1389	alanil-ARNt sintasa putativa	50	0/309	SP1393 - 74%/40%	59, 209
Spy1390	proteína de maduración de proteasa putativa	50	0/232	SP0981 - 42%/ninguna	60, 210

ES 2 330 334 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)
Spy1422	proteína de recombinación putativa	n.d.	n.d.	SP1672 - 88%/64%	61, 211
Spy1436	desoxirribonucleasa putativa	25	0/243#	SP1964 - 29% en 181 de 274 aa/Ninguna	62, 212
Spy1494	proteína hipotética	50	13/282	Ninguna/Ninguna	63, 213
Spy1523	proteína de división celular	49	2/329	SP0690 - 27%/ninguna	64, 214
Spy1536	proteína hipotética conservada	50	9/280	SP1967 - 57%/ninguna	65, 215
Spy1564	proteína hipotética conservada	39	n.d.	Ninguna/Ninguna	66, 216
Spy1604	proteína hipotética conservada	50	1/233	SP2143 - 47%/28%	67, 217
Spy1607	proteína hipotética conservada	50	0/241	SP1902 - 55%/ninguna	68, 218
Spy1615	proteína de competencia tardía putativa	50	2/204	SP2207 - 41%/ninguna	69, 219
Spy1666	proteína hipotética conservada	50	2/305	SP0334 (yIIC) - 78%/40%	70, 220
Spy1727	proteína hipotética conservada	50	0/237	SP0549 - 53%/ninguna	71, 221
Spy1785	ADN helicasa dependiente de ATP putativa	50	1/306	SP1697 - 71%/37%	72, 222
Spy1798	proteína hipotética	50	2/128	Ninguna/Ninguna	73, 223
Spy1801	homólogo del precursor de la proteína inmunogénica secretada	50	6/313; inserción de 6 aa	SP2216 - 33% en 119 de 392 aa/Ninguna	74, 224
Spy1813	proteína hipotética	46	47/433; inserción de 9, delección de 1 aa	Ninguna/Ninguna	75, 225
Spy1821	factor EF-P de elongación de la traducción putativo	n.d.	n.d.	SP0435 - 94%/45%	76, 226
Spy1916	fosfo-beta-D-galactosidasa Putativa	n.d.	n.d.	SP1184 - 91%/83%	77, 227
Spy1972	Pululanasa	50	1/233	SP0268 - 53%, SP1118 - 29%/25% en 352 de 657 aa	78, 228
Spy1979	precursor de estreptocinasa A	50	20,1% idéntico al 309#	Ninguna/Ninguna	79, 229
Spy1983	proteína de superficie análoga al colágeno (ScID)	50, (50 de 50, pero la variación del tamaño según Lukomski,	n.d.	Ninguna/Ninguna	80, 230

ES 2 330 334 T3

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)
		2000)			
Spy1991	componente II antranilato sintasa	50	1/170	SP1816 - 58%/47%	81, 231
Spy2000	lipoproteína de superficie	50	0/307	Ninguna/ 27% en 389 de 524 aa	82, 232
Spy2006	proteína hipotética	50	0/234	SP1003 - 36%, SP1174 - 37%, SP1004 - 33%, SP1175 - 48%/ Ninguna	83, 233
Spy2009	proteína hipotética	39 (38/49) ¹	58/344; inserción de 36, delección de 4 aa	Ninguna/Ninguna	84-, 234
Spy2010	precursor de C5A peptidasa	n.d.	n.d.	SP0641 - 23% en 783 de 2140 aa/ Ninguna	85, 235
Spy2016	inhibidor del complemento (Sic)	47; principalmente en cepas M1 (Reid 2001)	11/269#	Ninguna/Ninguna	86, 236
Spy2018	Proteína M1	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	87, 237
Spy2025	precursor de proteína exotoxina B	50	3/296	SP2216 - 31% en 138 de 392 aa/Ninguna	88, 238
Spy2039	pirogénica secretado nmunogénico	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	89, 239
Spy2043	factor MF1 mitogénico (speF)	50	0/247	Ninguna/Ninguna	90, 240
Spy2059	proteína de unión a penicilina 2a	50	0/293	SP2010 - 55% (pbp2A)/30% en 539 de 844aa	91, 241
Spy2110	ribonucleósido-trifosfato reductasa anaeróbica putativa	50	0/311	SP0202 - 80% (nrdD)/50%	92, 242
Spy2127	proteína hipotética	1	n.d.	Ninguna/Ninguna	93, 243
Spy2191	proteína hipotética	50	1/175	Ninguna/Ninguna	94, 244
Spy2211	proteína transmembrana	50	2/281	SP2231 - 43%/ninguna	95, 245
ARF0450	proteína hipotética	50	5/191	Ninguna/Ninguna	96, 246
ARF0569	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	97, 247
ARF0694	proteína hipotética	23	1/122#	Ninguna/Ninguna	98, 248
ARF0700	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	99, 249
ARF1007	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	100, 250

ES 2 330 334 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)
ARF1145	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	101, 251
ARF1208	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	102, 252
ARF1262	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	103, 253
ARF1294	proteína hipotética	50	1/186	39% con SA0131 (primeros 28 aa de la proteína de 67 aa)	104, 254
AEF1316	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	105, 255
ARF1352	proteína hipotética	n.d.	n.d.	38% con SA1142 (aa 265-295 de la proteína de 358 aa)	106, 256
ARF1481	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	107, 257
ARF1557	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	108, 258
ARF1629	proteína hipotética	n.d.	n.d.	36% con SP0069 (aa 139-169 de la proteína de 211 aa)	109, 259
ARF1654	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	110, 260
ARF2027	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	111, 261
ARF2093	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	112, 262
ARF2207	proteína hipotética	50	n.d.	38% con SP1006 (aa 7-37 de la proteína de 67 aa)	113, 263
CRF0038	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	114, 264
CRF0122	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	115, 265
CRF0406	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	116, 266
CRF0416	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	117, 267
CRF0507	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	118, 268
CRF0549	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	119, 269
CRF0569	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	120, 270
CRF0628	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	121, 271
CRF0727	proteína hipotética	n.d.	n.d.	40% con SP0584 (aa 21-60 de la proteína de 70 aa)	122, 272
CRF0742	proteína hipotética	n.d.	n.d.	33% con SA0422 (aa 11-37 de la proteína 42 aa, presentada como proteína de 280 aa)	123, 273
CRF0784	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	124, 274
CRF0854	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	125, 275
CRF0875	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	126, 276
CRF0907	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Homología con el regulador LYST de	127, 277

ES 2 330 334 T3

ORF	Nombre común	Distribución de genes (presentes de 50)	Sustituciones de aminoácidos en la cepa M89	Homología (SP/EC)	Sec. ID (ADN, Prot.)	
				tráfico lisosomal [Homo sapiens]		
5						
10	CRF0979	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	128, 278
	CRF1068	proteína hipotética	50	0/148	Ninguna/Ninguna	129, 279
15	CRF1152	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	130, 280
	CRF1203	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	131, 281
	CRF1225	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	132, 282
20	CRF1236	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	133, 283
	CRF1362	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	134, 284
	CRF1524	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	135, 285
25	CRF1525	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	136, 286
	CRF1527	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	137, 287
30	CRF1588	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	138, 288
	CRF1649	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	139, 289
	CRF1749	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	140, 290
35	CRF1903	proteína hipotética	50	0/140	Ninguna/Ninguna	141, 291
	CRF1964	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	142, 292
40	CRF2055	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	143, 293
	CRF2091	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	144, 294
45	CRF2096	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	145, 295
	CRF2104	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	146, 296
	CRF2116	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	147, 297
50	CRF2153	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	148, 298
	NRF0001	proteína hipotética	50	0/130	ARF en transportador ABC de Oligo (no anotado por TIRG), 33% con SA0643 (aa 107-162 de la proteína de 469 aa)	249, 299
55						
60	NRF 0003	proteína hipotética	n.d.	n.d.	Ninguna/Ninguna	150,300

65

ES 2 330 334 T3

TABLA 4

Proteínas recombinantes usadas para experimentos de inmunización en ratones NMRI

ORF	Longitud (aminoácidos)	Aminoácidos ^A		Solubilidad	Protección ^B	Tamaño total del fragmento clonado (Kpb)
		Desde	hasta			
Spy0031	374	39	374	Insoluble	20% (10%, 40%)	1,008
Spy0103	108	2	108		50% (10%, 80%)	0,321
Spy0269	873	36	873	Soluble	40% (40%, 70%) ^C	2,511
Spy0292	410	22	410	Insoluble	70% (10%, 80%)	1,164
Spy0416A	1647	33	867	Soluble	50% (10%, 40%)	2,502
Spy0416B	1647	736	1617	Solubilizada	0% (0%, 40%)	2,646
Spy0720	313	2	313	Insoluble	60% (10%, 80%)	0,939
Spy0872	670	27	640	Solubilizada	60% (10%, 80%)	1,839
Spy1245	288	49	288	Soluble	20% (10%, 40%)	0,717
Spy1357	217	33	186	Soluble	40% (30%, 90%)	0,459
Spy1361	792	22	792	Soluble	60% (30%, 90%)	2,31
Spy1390	351	21	351		60% (10%, 80%)	0,99
Spy1536	345	31	345		20% (0%, 40%)	0,942
Spy1607	258	2	258		40% (10%, 40%)	0,771
Spy1666	337	22	337	Soluble	50% (30%, 90%)	0,945
Spy1972	1165	45	500		40% (30%, 90%)	1,365
Spy2000	542	24	542	Soluble	20% (30%, 90%)	1,554
Spy2025	541	27	541		40% (40%, 70%)	1,542
Spy2191	204	36	204		50% (10%, 80%)	0,504

ES 2 330 334 T3

TABLA 5

Variabilidad de los antígenos en cepas de *S. pyogenes*

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
Spy0031	154	G	126	D
		A	192	S
		V	233	I
		D	328	N
		I	338	T
Spy0103	155	ninguno		
Spy0269	164	H	97	N
		A	150	V
		A	168	V
		H	482	R
		N	485	K
		Q	577	E
		A	610	V
		L	636	M
		E	640	K
		P	752	S
		I	764	V
		D	765	E
Spy0292	166	K	873	R
		A	214	D
		Y	309	S
		T	317	N
		V	318	C
Spy0416	169	K	319	Q
		V	1	M
		F	25	M
		L	26	M
		V	27	M
		S	38	T
		M	40	T
		A	49	T
		S	68	P
		L	76	P
		S	85	P
		D	87	G
		S	104	P
		S	110	P
D	151c	A,S,T,G		
S	164	P		

ES 2 330 334 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		E	215	G
		H	279c	A, S, T, G
		T	395	I
		D	452	N
		N	478	K
		G	484	D
		A	547	V
		S	617c	A, S, T, G
		D	723	A
		H	749	R
		R	770	K
		P	787	S
		D	804	A
		T	874	M
		N	913	S
		H	991	Y
		N	1080	S
		V	1238	A
		D	1313	G
		V	1349	M
		A	1393	V
		N	1479	K
		I	1487	M
		D	1516	G
		N	1555	D
		T	1560	A
S	1599	F		
S	1605	T		
T	1617	A		
Spy0720	184	A	61	T
		I	63	M
		K	99	Q
		K	109	Q
		N	295	S
Spy0872	192	K	178	N
		P	181	S
		V	253	I
		A	393	V
		T	600	I
		V	605	I
Spy1063	199	N	168	S
		A	169	S

ES 2 330 334 T3

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		D	170	E
		A	173	E
		M	175	V
		V	180	L
		N	181	S
		E	192	D
		Q	195	E
		K	228	D
		H	243	K
		P	245	K
		N	246	A
		T	248	K
		L	252	Q
		M	257	I
		R	260	S
		Q	277	R
		D	284	E
		A	287	P
		E	289	D
		T	290	E
		A	292	I
		A	299	G
		K	303	R
		V	309	L
		A	310	N
		Q	314	R
		R	316	H
		Q	317	E
		R	318	A
		K	321	R
		A	322	G
Spy1245	203	L	72	M
		A	97	P
		Q	213	K
Spy1357	205	C	9	Y
		G	48	R
		I	87	L
		S	91	A
		T	102	A
		L	105	V
		A	111	S
		N	117	T

ES 2 330 334 T3

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		E	139	S, A
		Q	142	K
		S	143	A
		N	145	T
		W	151	L
		A	155	D
		T	156	N
		P	157	A
		I	158	T, A
		A	159	S
		L	160	D
		D	161	A
		V	162	L
		K	163	E
		K	164	A
		T	165	L
		K	166	A
		T	168	Q
		K	169	T
		P	170	S, D
V	171	A		
K	173	Q		
K	174	S		
G	187	S		
A	197	T		
V	207	A		
Spy1361	206	R	129	Q
		P	141	S
		L	197	P
		A	201	V
		D	230	A
		S	231	N
		D	235	N
		P	262	L
		T	272	N
		Q	274	H
		T	302	A
		T	308	I
		A	346	V
		V	354	F
		P	389	L
		M	391	K

ES 2 330 334 T3

5	Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
			I	427	L
			P	431	L
			P	503	S
10			D	645	N
			S	696	P
			K	738	N
15			T	757	A
	Spy1390	210	N	3	Q
			S	4	M
20			A	9	T
			S	10	G
			S	16	T
25			M	18	V
			A	19	T
			A	21	S
			T	26	S
30			N	27	H
			D	28	N
			V	32	L
			I	33	V
35			S	41	T
			V	54	L
			S	55	A
40			N	61	S
			A	70	T
			G	73	A
45			D	74	N
			K	78	D
			H	86	K
			K	87	Q
50			E	90	D
			A	94	T
			S	97	K
			A	98	T
55			A	99	V
			S	104	G
			F	110	Y
60			R	112	K
			S	116	L
			S	117	T
65			A	127	Q
			K	130	N

ES 2 330 334 T3

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		L	132	I
		T	133	S
		T	134	K
5				
10		Q	135	K
		E	136	D
		K	138	R
15		K	139	Q
		E	142	D
		S	143	A
		A	149	T
20		V	150	A
		M	152	I
		I	153	M
25		T	154	Q
		L	155	F
		D	156	E
		N	157	K
30		E	158	D
		T	160	D
		S	163	A
35		V	164	A
		T	176	A
		T	184	I
		T	185	A
40		P	186	A
		E	187	D
		V	190	T
45		K	193	T
		A	198	E
		T	199	I
		N	200	T
50		V	201	L
		T	203	A
		D	204	E
55		K	207	R
		S	211	G
		N	213	K
		G	216	N
60		I	217	R
		D	219	E
		V	220	I
65		S	222	T

ES 2 330 334 T3

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		V	223	A
		T	227	A
		S	228	T
		Y	229	S
		Q	230	K
		K	231	R
		K	232	T
		F	233	Y
		Y	234	H
		V	236	I
		E	243	T
		S	246	A
		Q	249	K
		E	250	A
		E	252	A
		A	257	D
		I	260	V
		A	261	T
		E	262	G
		S	264	L
		M	267	P
		N	268	D
		N	276	K
		Y	297	F
		N	299	K
		L	300	P
		G	301	N
		T	304	Q
K	305	P		
A	307	Q		
S	308	K		
Spy1536	215	ninguno		
Spy1607	218	E	21	D
		A	91	P
		H	194	R
		D	204	G, N
Spy1666	220	K	90	Q
		K	302	T
			S. pneumoniae TIGR4	
		V	37	I
		I	42	V

ES 2 330 334 T3

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		S	56	A
		A	60	E
		G	67	S
5		E	69	K
		C	74	A
10		K	80	N
		V	87	K
15		T	88	R
		K	90	A,Q
		S	91	P
20		D	94	E
		Q	97	M
		K	109	Q
25		R	111	C
		T	113	R
		A	114	E
		L	115	A
30		D	118	Q
		L	124	C
		E	136	Q
35		Q	145	K
		D	154	N
		R	155	Q
40		Q	156	D
		S	157	A
		L	158	S
		T	167	N
45		P	169	D
		F	170	Y
		N	171	H
		K	175	R
50		A	198	E
		I	199	V
		L	211	I
55		A	214	L
		A	215	V
		D	252	Q
		E	255	D
60		L	256	M
		D	287	E
		L	294	F
65		E	297	D

ES 2 330 334 T3

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		M	299	L
		F	303	M
		H	315	A
		S	316	E
		T	319	E
		K	322	N
		A	324	S
		A	332	V
		K	333	R
		R	336	H
Spy1972	228	V	32	M
		L	70	F
		M	98	I
		K	182	R
		F	224	S
		D	226	E
		H	245	P
		P	300	L
		R	363	K
		K	365	T
		T	369	A
		A	376	T
		R	443	K
		V	445	L
		A	460	T
		V	467	I
		D	510	V
		A	496	T
		T	611	K
		T	718	A
		G	831	S
		A	913	V
		Q	930	K
V	1053	A		
E	1079	D		
N	1094	D		
T	1102	I		
D	1103	G		
I	1149	V		
Spy2000	232	K	27	N
		S	101	L
		V	151	I

ES 2 330 334 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nombre del antígeno	Sec. ID	Residuo en el antígeno ^A	Número de residuos	Variaciones de aminoácidos ^B
		D	250	S
		P	335	S
		A	338	P
		V	519	I
Spy2025	238	S	33	N
		D	46	A
		D	49	A
		P	54	A
		T	78	N
		D	107	N
		K	109	N
		D	112	N
		P	119	S
		Q	147	P
		T	160	I
		D	170	E
		I	183	N
		I	194	A
		G	297	E
		S	528	R
Spy2191	244	A	70	V
		V	93	A

ES 2 330 334 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una vacuna que comprende un fragmento antigénico del antígeno reactivo en suero hiperinmune de Sec. ID N° 215, seleccionado del grupo constituido por péptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215 ó derivados que comprenden la secuencia de aminoácidos 37-345 de Sec. ID N° 215 con 1 a 10 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos, en cualquier combinación.
- 10 2. La vacuna según la reivindicación 1, **caracterizada** porque los péptidos comprenden los aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215.
3. La vacuna según la reivindicación 1, **caracterizada** porque los péptidos están constituidos por una secuencia de aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215.
- 15 4. La vacuna según la reivindicación 2, **caracterizada** porque los fragmentos están constituidos por los aminoácidos 31-345 ó 247-260 de Sec. ID N° 215 y una secuencia líder o secretora, una secuencia utilizada para la purificación o una secuencia de proproteína.
- 20 5. La vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada** porque comprende además una sustancia inmunoestimuladora, de preferencia seleccionada del grupo que comprende polímeros policatiónicos, en especial péptidos policatiónicos, desoxinucleótidos (ODN) inmunoestimuladores, péptidos que contienen al menos dos motivos LysLeuLys, compuestos neuroactivos, en especial la hormona del crecimiento humana, alumbre, adyuvante completo o incompleto de Freund o sus combinaciones.
- 25 6. Uso de una molécula de ácido nucleico que codifica un fragmento antigénico según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o un fragmento antigénico según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la fabricación de una preparación farmacéutica, en especial para la fabricación de una vacuna, contra la infección por *S. pyogenes*.
- 30 7. Una vacuna que comprende un anticuerpo, o al menos una parte eficaz del mismo, que se une al fragmento antigénico según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 3 ó 4.
8. Una vacuna según la reivindicación 7, en la que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- 35 9. Una vacuna según la reivindicación 7 u 8, en la que dicha parte eficaz comprende los fragmentos Fab.
10. Una vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en la que el anticuerpo es un anticuerpo quimérico.
- 40 11. Una vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en la que el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.
12. Uso de los anticuerpos según se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 para la preparación de un medicamento para tratar o prevenir las infecciones por *S. pyogenes*.

45

50

55

60

65

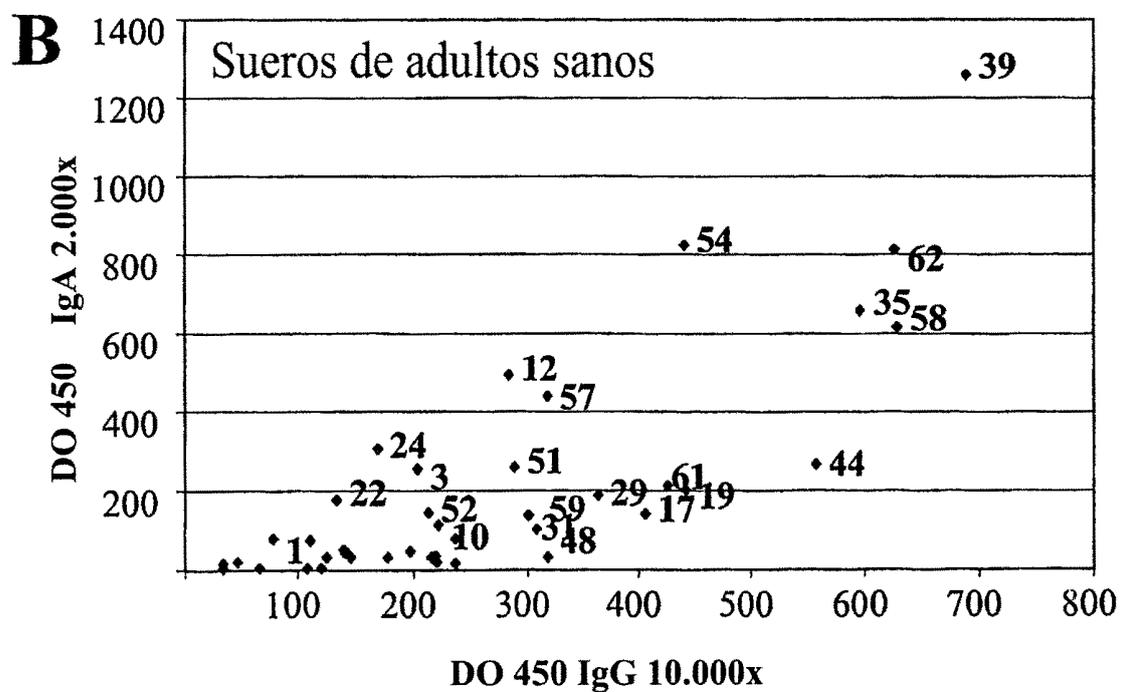
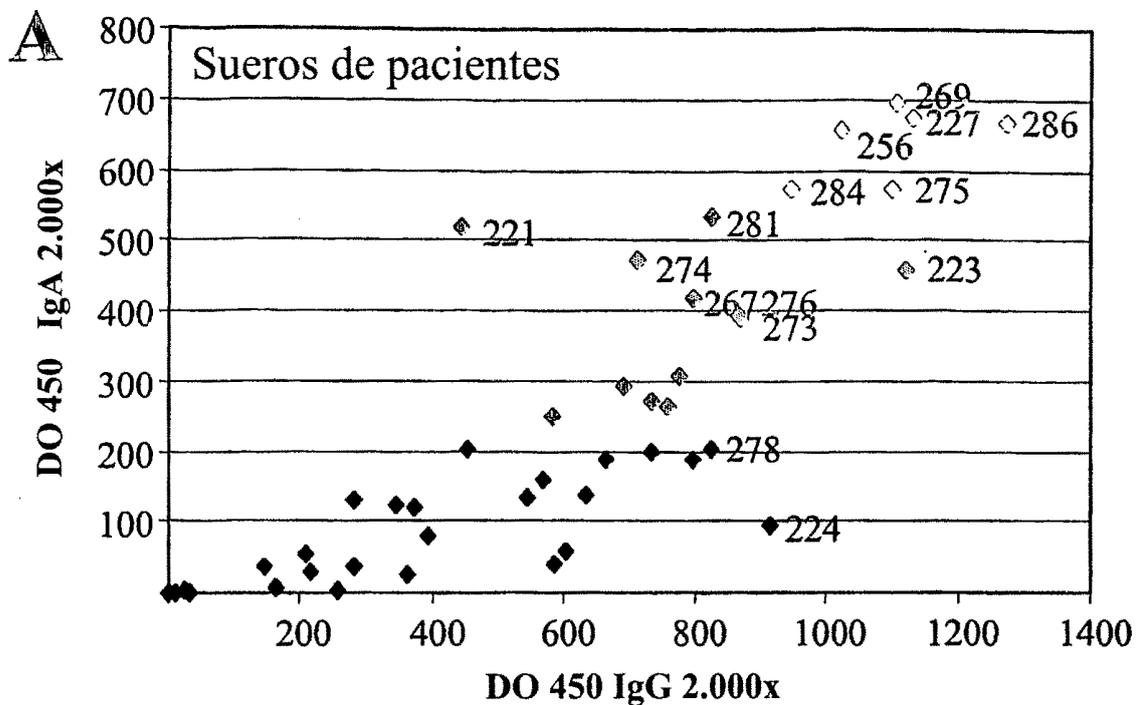
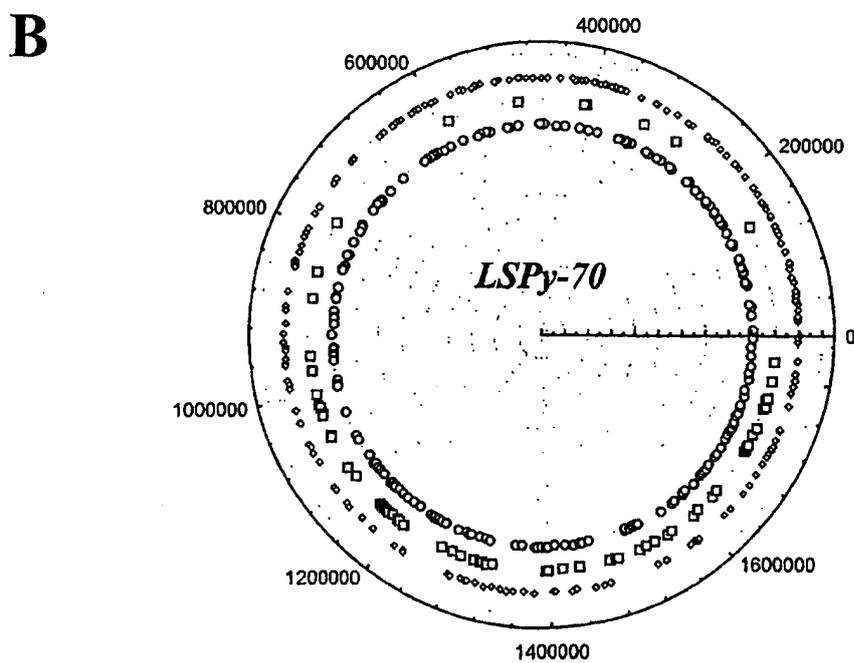
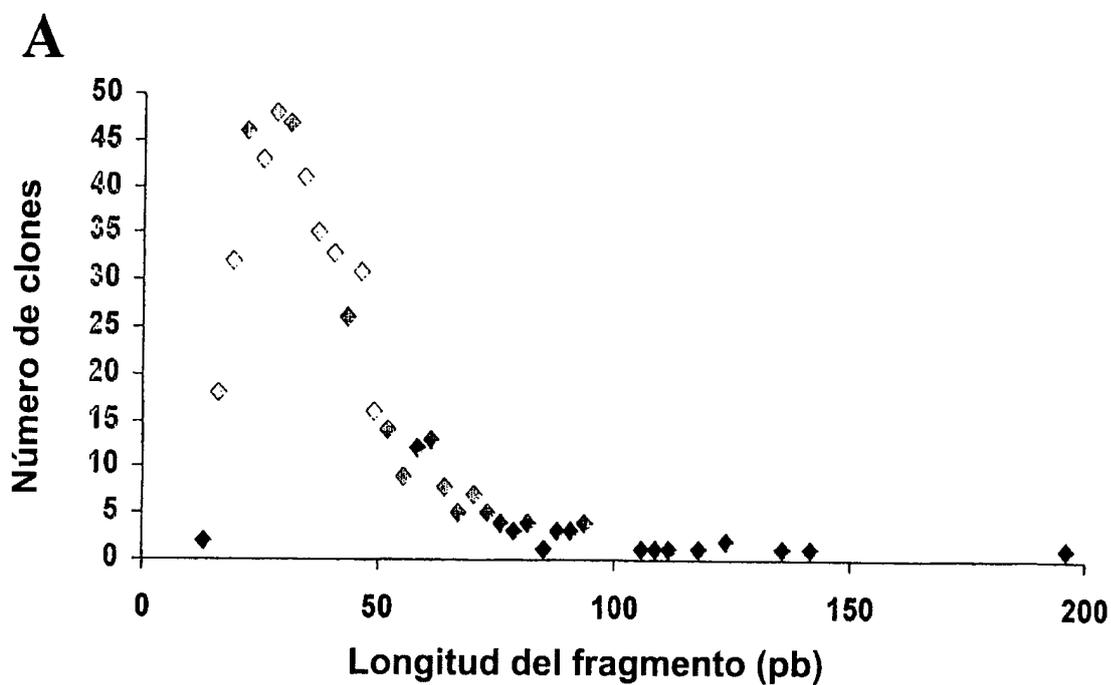


Figura 1



Total (recortado)	505 (100,0 %)
ORF (+/+)	211 (42,0 %)
No ORF (+/+)	74 (14,6 %)
Otro (contig +/-)	83 (16,4 %)
Otro (quimérico)	
	136 (27,0 %)

Figura 2

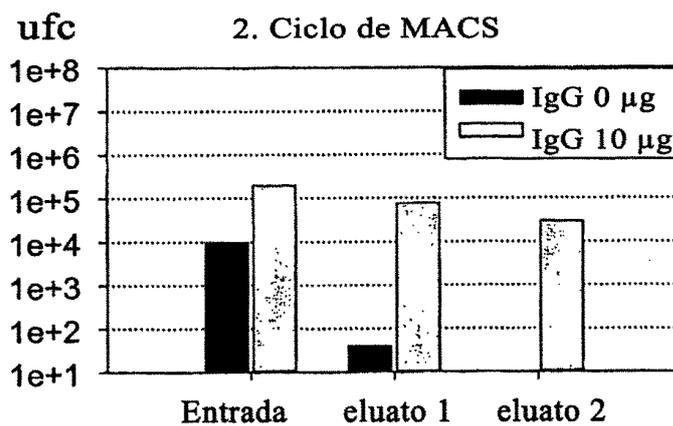
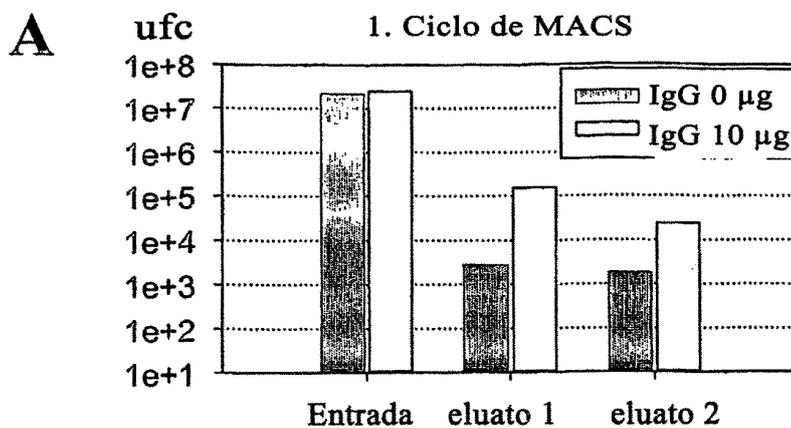
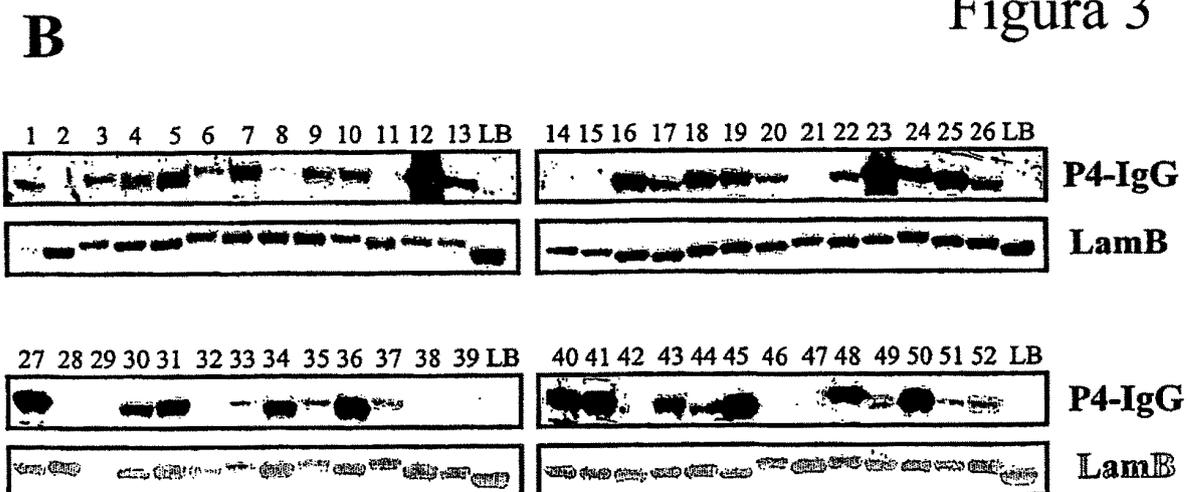


Figura 3



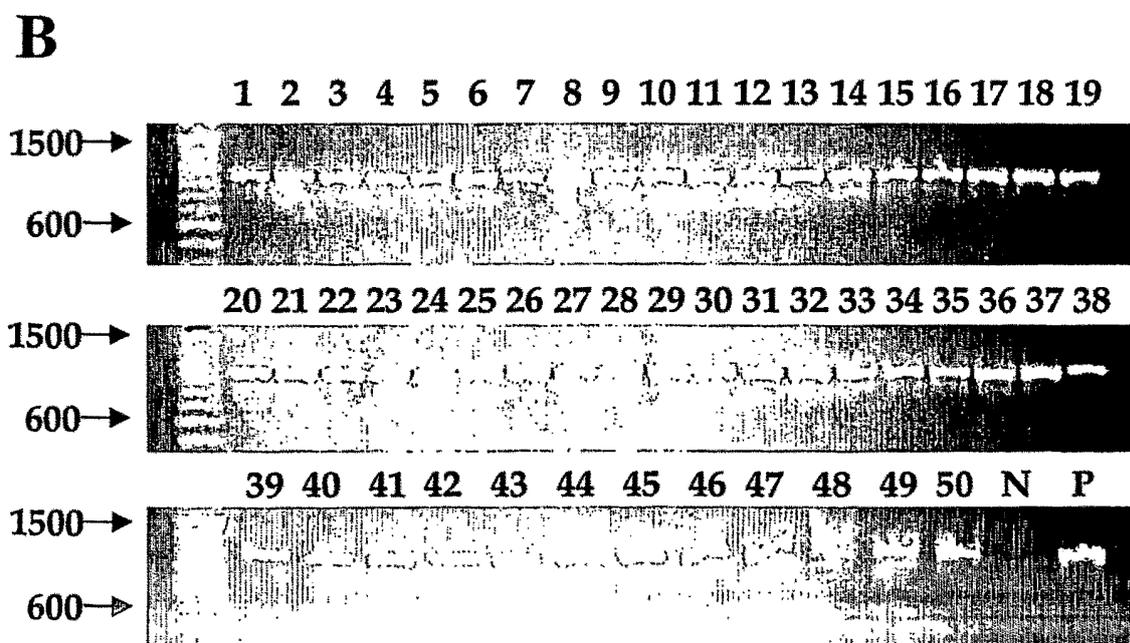
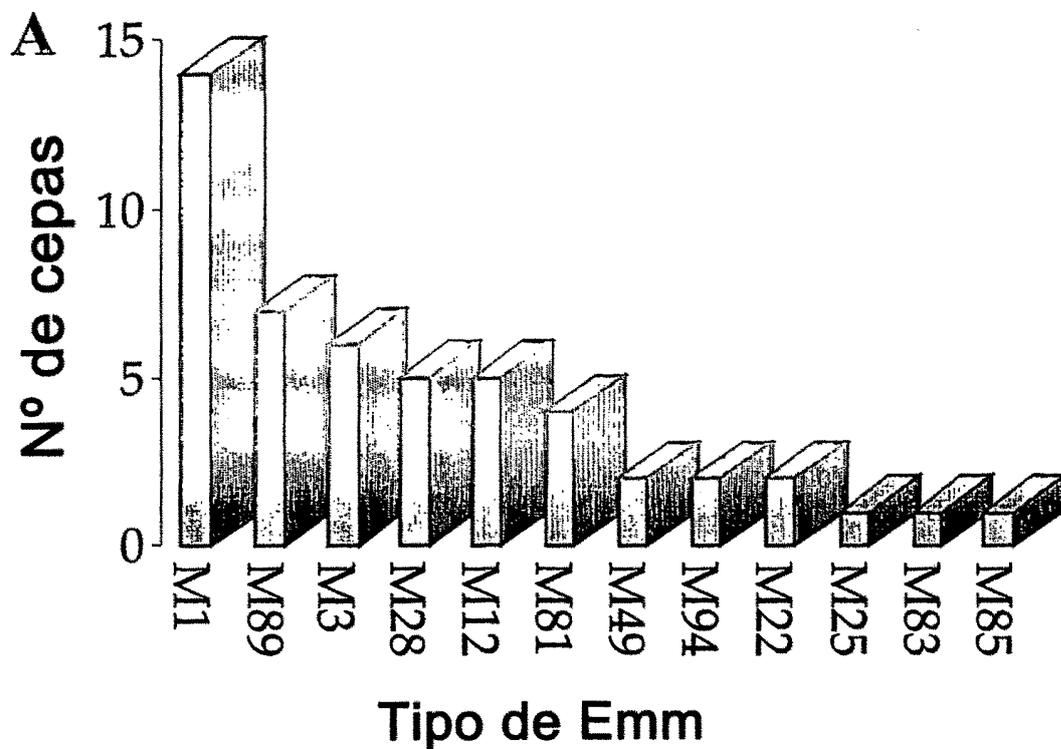
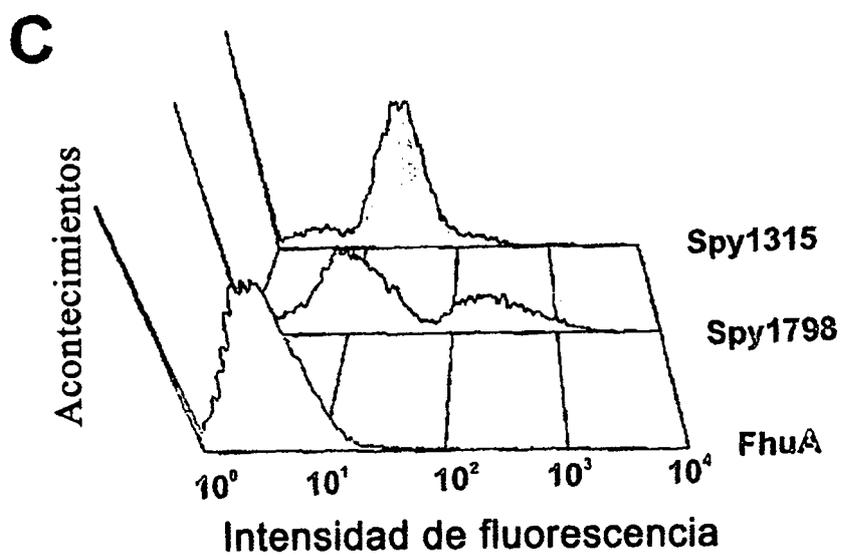
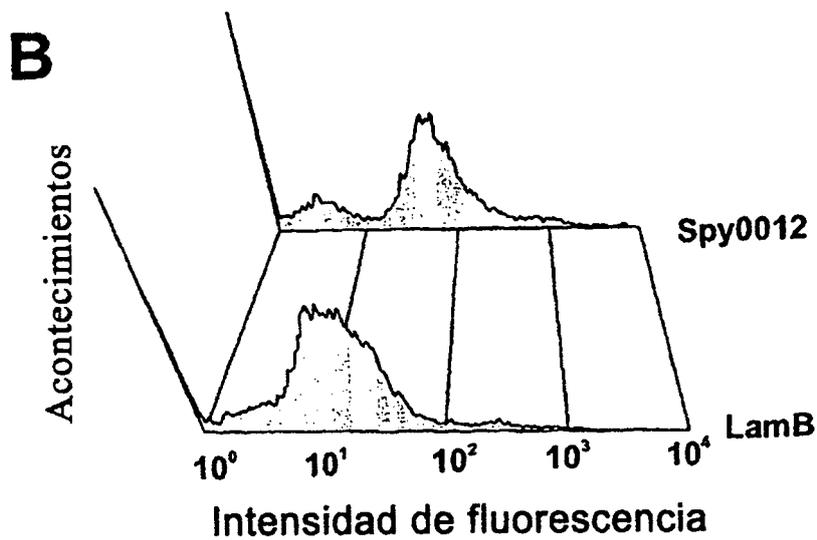
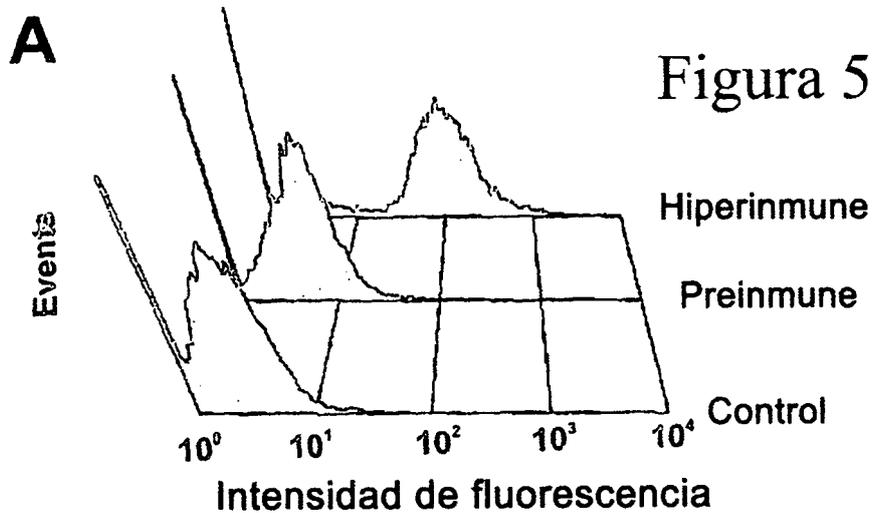


Figura 4



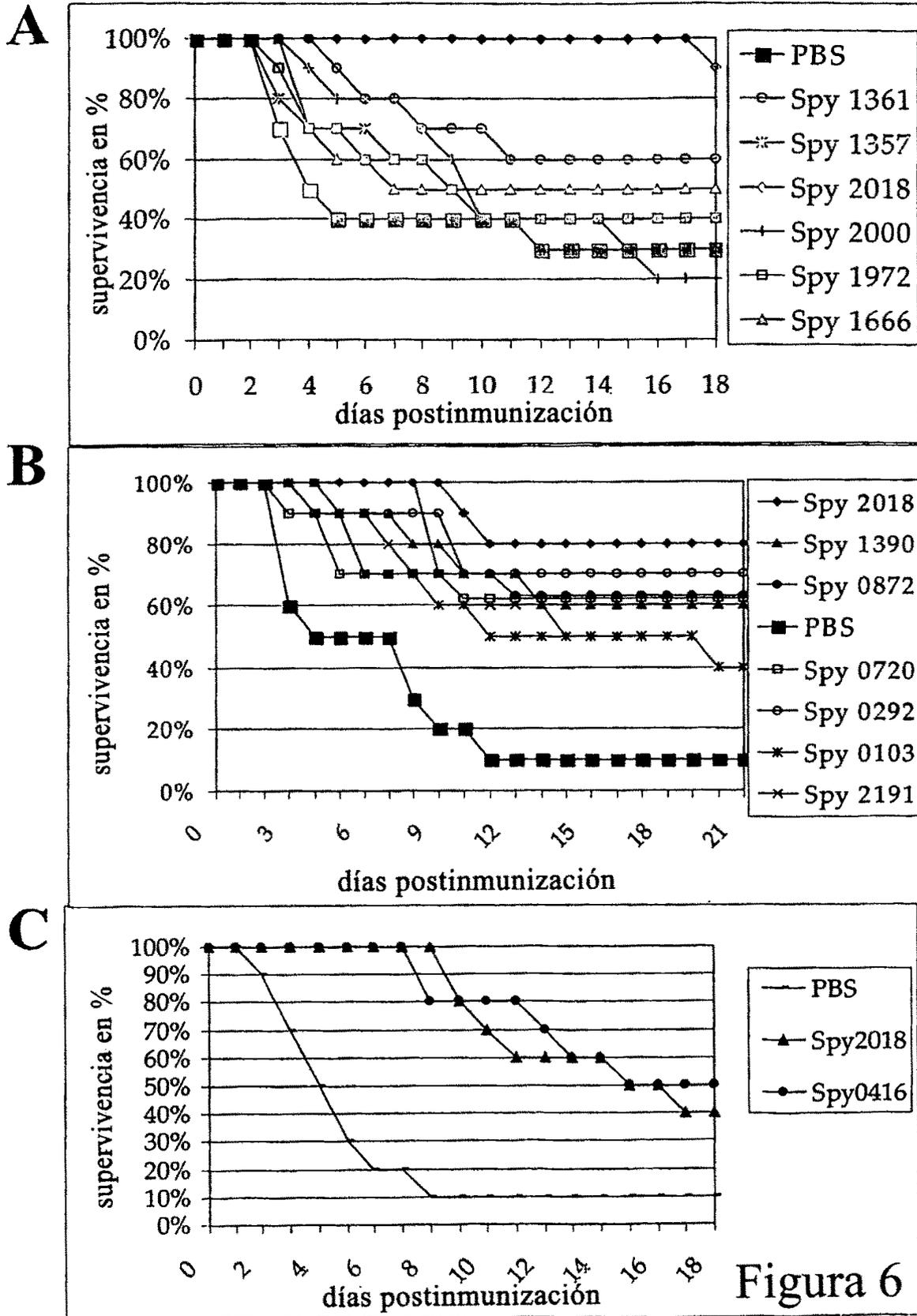


Figura 6

ES 2 330 334 T3

LISTA DE SECUENCIAS

SPy0012

5 Sec. ID 1

10 ATGAGAAAATTATTAGCGGCTATGTTAATGACTTTTTTCTGACTCCTTACCAGTGATTAGTACAGAAAAAACTTATATTTTCA
AAAATGCTGTTTATCAATTGAAACAAGATGTCGTTCAATCAACACAATTCTATAATCAAATACCCTCTAATCCAAATCTTTATCAA
GAAACGTGTGCCTATAAAGACAGTGATTTAACTCTACCAGCAGGAAGATTAGGTGTAATCAACCATTACTTATTAATCGCTTG
15 TGCTTAACAAAGAACTTTACCGGTTTTGAGTTAGCTGATGGTACCTATGTTGAGGCTAATCGACAATTGATTTATGACGATATT
GTACTTA/ TCAAGTAGATATAGATAGCTATTTTGGACACAAAAGAACTTAGGCTTTATTCAGCCCTTATGTTTTAGGTACGCA
AACAAATTCCTTCTTTTATTTGCTCAAAAAGTTCATGCCACTCAAATGGCACAAAACAAACCATGGAACCTTATTATCTTATTGA
TGATAAGGGCTGGGCATCACAAGAAGATCTAGTTCAATTTGATAACCGCATGTTAAAAGTCCAGGAAATGCTCTTACAAAATAT
AATAACCCAAATTATTCAATTTTTGTAAGCAACTCAACACAAAACAAGTCTGGTATTAATGCTGATAAAAAATGTATGCTGC
AAGTATCTCGAAGTTAGCACCCTTTATATTGTTCAAAAACAATTACAAAAAAGAAATTAGCAGAGAATAAACTTTGACTTATA
20 CTAAGATGTTAATCATTTTTATGGAGACTATGATCCATTGGGAAGTGGTAAAATTAGTAAAATAGCTGATAATAAGATTATCGT
GTTGAAGACCTACTGAAAGCTGTAGCACAAACAATCGGATAATGTAGCAACTAATTTTTAGGTTATTATCTATGTCATCAGTATGA
TAAAGCTTTCCGCTCAGAGATAAAAAGCTTTATCAGGTATCGATTGGGATATGGAGCAGCGCTTAACTTCTCGTTGAGCTGCA
AATATGATGGAAAGTATTATCATCAAAAAGGCCAAATTTTTCTTACCTTTCAAATACCAGAAATTTGATCAACAACGTATCACAAAA
AATATTACTGTTCCAGTTGCACATAAAAATGGTGATGCTTATGATTATAAACAATGACGTTGCTATTGTTACGGTAATACTCCATTT
ATTTTGTCTATTTTACAAATAAATCAACCTATGAAGATATTACGGCTATTGCAGATGACGTTTATGGTATTTTAAAATGA

SPy0019

25 Sec. ID 2

30 ATGAAAAAAGAATTTTATCAGCAGTCTTGTAAAGTGGTGTACCCTCGGAGCAGCTACAACCTGTAGGAGCGGAGGATTTAAGT
ACTAAGATTGCTAAGCAAGATTCTATTATCTCAAATCTGACTACAGAGCAAAAAGCTGCACAGAATCAAGTTTCAGCGTTACAGG
CTCAAGTAAGTTCACTACAATCTGAACAAGATAAACTGACCGCAAGAAATACAGAACTTGAGGCGCTTTCAAAGCGATTTGAGCA
AGAAATTAAGGCTTAACAAGTCAAATTTGCTCGTAATGAAAAATTAATAAATCAAGCTCGTAGTGCTTATAAAAAACAATGAAA
35 CTTCTGGTTATATTAATGCACTTTTGAATTTCTAAATCAATTTCTGATGTTGTAACCCTTTAGTAGCAATTAATAGAGCTGTCTCTG
CTAACGCTAAAATTTGTAAGCAACAAGCTGATAAAGTTTTCCCTTGAAGAAAAGCAAGCTGCTAACCAACAGCTATTAATAC
CATTGCCGCTAATATGGCAATGGCTGAAGAAAACCAAAATACATTACGTAATCAACAAGCTAATTTGGTAGCTGCAACTGCAAAT
TTAGCTCTCAATTAGCATCTGCTACTGAAGATAAAGCTAATTTGGTAGCTCAAAAAGAAGCTGCAGAAAAAGCTGCTGCTGAAG
CCTTAGCACAAAGAACAGGCTGCTAAAGTTAAGGCACAAGAACAGGCTGCACAACAAGCAGCATCTGTTGAAGCAGCAAAATCT
40 GCTATTACTCCAGCACCACAAGCTACTCCGGCAGCGCAAAGTAGTAATGCTATTGAACCAGCTGCACTCACGGCTCCGGCAGC
TCCTTCTGCAGGACCACAAACATCATATGATTTCTTAATACTTATCCAGTTGGACAATGCACATGGGGAGCTAAATCTTTAGCT
CCTTGGGCAGGAAATAATTTGGGAAATGGTGGTCAATGGGCTTATAGTCTCAAGCAGCTGGTTATCGTACTGGTTCAACGCC
GATGGTAGGTGCGATTGCCGTTTGGAAAGGATGGTGGTATGGACATGTCCCGTTGTAGTTGAGGTTCAAAGTGCCTCAAGTAT
45 TCGTGTGATGGAGTCTAACTACAGTGGTAGACAGTACATTGCTGACCACCGTGGCTGGTTTAAATCCAACAGGTGTTACATTTATT
TATCCACACTAA

40

45

50

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0025

Sec. ID 3

5 ATGTCCTCCTATTTTCCAGTCGCTCCCTTGTCCGACTGGTATCTTATATGAATAAACGTAATTTTGTGAGAAAAAGGCTGACTT
 TGGTATTAAATCGGCTAGTCTTGTGAAAGAGTTGACGCATAATCTACAACCTGACCTCTTTGAAGGCTTTGCGTATTGTGCAGGTC
 TATGATGTCTTCAATTTGGCTGAGGATTTGCTGGCGCGTGTGAGAAGCATATTTCTCTGAGCAGGTGACAGACTGTCTTTGA
 CGGAAACTGAAATCACTGCGGAGCTTGATAAGGTTGCCCTTCTTCCATTGAGGCGCTTCCCTGGTCAATTTGACCAACGCTGCTG
 CTAGTTCGCAAGAAGCTTTGCTATTATTTGAAAGTGACAGTCAGGTTAAGGTCAATACAGCCCAGCTATACTTGGTCAATAAGGA
 10 TATTACAGAAGCAGAGCTTGAAGCCGTTAAGAAGTATCTTTGAACCCTGTTGATTGCGGTTCAAGGACATTACTTTGCCGCTT
 GAAGAGCAGGCTTCTCTGTATCTGATAAGACGATCCCTAATCTTGATTTCTTTGAAACTTATCAAGCTGACGATTTTGCAGCTTA
 TAAGGCAGAGCAGGGCTTGGCTATGGAGTGCATGACCTTCTCTCATCCAAAATTTATTTCAAATCAATCGGATGTGTGCCAAC
 TGAGACTGAGTTGAAAGTTTTGGATACTTACTGGTCAGACCCTGCCGTACACAACTTTGAAACTGAATTAAGAACATTGAT
 TTTTTCAGCTTCAAATTTCAAAAACAATTGCAGACAATTAGCAAAATATATCGCCATGCGTGATGAGCTTGGTGGTCTGAAAA
 GCCACAAACACTTATGGATATGGCGACTATTTTTGGTCTTATGAGCGTGCCAAACGGTCTGTGGACGATATGGAGTCTCAGA
 15 TGAATCAATGCCTGCTCAGTTGAGATTGAAGTAGATGTTGATGGTGTGAAAGAGCCCTTGGCTCCTCATGTTAAGAACGAGAC
 TCACAATCACCCAACAGAAATGAGCCATTCGGTGGAGCGGCGACTTGTATCGGTGGTGTCTATTCTGTGACCCATTGTCAGGAC
 GTTCATACGTTTTATCAGGCTATGCGTATTTCAAGGCGCAGGCGATATCACGACTCCGATTGCGGAAACACGTGCTGGTAAATTTGC
 CACAACAAGTTATTTCTAAAACCTGCGGCGCAGGCTATTTCTCATATGTAACCAAATTTGGCTTGCAGCACTTATGTGCGCG
 AGTACTTCCACCCTGCGTTCGTAGCCAAACGATGGAGCTTGGAGCTGTGGTGGTGTGACCTAAGGAAAAATGTGGTTCGT
 GAAAAACAGAAAGCGGCTGTTGCTCATCTTGTGCTGGTAAACAGGTCGTGATGGTGTGCGTGGTGCAGACAGTTCATC
 20 TAAGGTTCAAACGGTTGAATCTGTGAAACAGCTGGCGCAGAGGTACAAAAAGGGAATGCCATTGAAGAACGTAAGATTCAAC
 GTCTTTTCCGTGATGGCAATGCACTCGTCTTATTAAGAAATCAAATGACTTCGGTGCAGGTGGTGTCTGTGTTGCCATCGGTG
 AATTGGCTGACGGTCTTGAATCGATTTGGACAAGGTGCCTCTTAATACCAAGGTCTTAATGGTACTGAAATGCAATCTCAGA
 ATCTCAAAGAGCGTATGTCAGTCGTTTTCGTCCAAATGATGTGGATGCCTTCATCGCAGCCTGCAACAAGGAAAAATATCGATGC
 AGTCGTTGTTGCGACCGTTACTGAAAAACCAAATCTTGTGATGACTTGGAAATGGCGAAATCATCGTTGATTTGGAACGCCGTTTC
 CTTGATACCAATGGTGTCCGTGTCTTGTGATGCTAAAGCTTGTGACAAGGACTTGACAGTTCCAGAAGCAGCACAACATCA
 25 CGAGAGACACTTGAAGCAGATACGCTTAAGGTTCTGTGACCTCAACCAGCTAGTCAAAAAGGCTTCAAACATATCTTTGACT
 CATCTGTTGGTGTGCAACCGTTAACCACCAATCGGTGGTGTGTTACCAAATCACACCGACAGAAAGTTCTGTTCAAAAATTTGCC
 AGTTCAACATGGTGTGACAACAACCTGCATCTGTTATGGCTCAAGTTACAATCCTTATATTTGCAGAGTGGTCACTTATCACGGT
 GCTGCCTATGCTGTCTTGAAGCGACAGCTCGCTTGGTAGCAACGGGTGCTGACTGGTCTCGTGCACGTTTCTTTACCAAGA
 GTACTTTGAGCGTATGGATAAACAGGCAGAGCGTTTTGGTCAAGCAGTATCAGCTCTTCTTGGTTCTATTGAGGCTCAGATTCA
 ACTTGGTTTCCCATCAATCGGCGGTAAGGACTCTATGCTGGTACTTTCGAAGACTTGACAGTACCACCAACCTTGGTAGCTTT
 30 CGGCGTGACAACAGCGGACAGCCGCAAGGTTCTCTCTCTGAGTTAAAGCGGCTGGCGAAAAACATTTACTATATCCCAGGTC
 AAGCTATTTTCAGAAAGATATTGATTTTGAACCTTATCAAGGATAAATTTAGCCAGTTTGAAGCTATTCAAGCTCAACATAAGATTACA
 GCTGCCTCAGCCGCTAAATACGGTGGTGTCTAGAAAGTCTTGTCTCATGACTTTTGGTAACCGTATCGGTGCTTCTGTTGAA
 ATTTGCAGAGCTTGACAGCAGCTTGACAGCTCAACTCGGAGGTTTTGTCTTACATCAGCTGAGGAAATTTGCTGACGCGGTGAAA
 ATCGGTCAAACCTCAGGCAGACTTACAGTCACTGTCAATGAAATGACCTTGTCTGGCGCTAGCCTTCTAGCAGCCTTCAAGGCG

35 AAATTGGAAGAGGTTTACCCAACAGAAATTTGAGCAGACAGATGTTCTTGAAGAAGTTCTGCTGTGGTATCAGATACTGTTATCA
 AGGCTAAGGAAACAATTGAAAAACAGTGGTTTACATTCCAGTCTTCCCTGGTACCAACTCAGAATACGATTGAGCTAAGGCCCTT
 TGAACAGGTTGGAGCTAGTGTCAACTTGGTCACTTTGTAACCTTGAATGAGGTTGCTATTGCTGAGTCAGTTGACACTATGGTT
 40 GCTAATATTGCTAAGGCAATATCATCTTCTTCTGCTGGAGTTTCTCAGCAGCGGATGAACCAGATGGGCTGCTAAGTTTATCG
 TCAATATCTTGTAAACGAGAAAGGTCGCGCGCAGCTATTGACAGCTTTCATCGAAAAAGGTTGGCCTTATCATCGGTATCTGTAATG
 GTTCCAAAGCCCTTGTAAATCAGGTCCTTCTCCATACGGAACCTTCGAGGAAGCTGGTGGAGACAAGTCCAACCTCTTCTATAA
 TGATGCTAATCAGCATGTTGCCAAGATGGTTGAGACTCGTATGCGCAAAATACCAACTCACCTTGGTTGGCAGGAGTTGAGGTCGG
 CGATATTGATGCAATTCAGTTTCCATGGTGAAGGTAAGCTTGTGTCAGCGCTTCTGAATTTGCAGAGCTAAGAGCAATGGT
 CAAATCTGGAGCCAATATGTGGACTTTGACGGACAACCATCTATGGATTCTAAATACAATCCAAACGGCTCTGTCAATGCCATCG
 45 AAGGGATTACCAGCAAGAAATGGTCAAATCATCGGTAAGATGGGACACTCAGAACGCTGGGAAGACGGACTCTTCCAAAATATC
 CCTGGTAACAAGACCAATCCTCTTTGCAAGTGTGTAATAACTTTACAGGGAAGTAA

SPy0031

Sec. ID 4

50 ATGAAAAATTTTCATCGTTTTTGGTCTCAGGAGTAATCCTTTAGGTTTTAATGGTCTAGTACCTACTATGCCATCTACACTTATT
 TCGCAACAGGAAAACTTGTTCATGCAGCTGTTTTAGGCGATAACTATCCGAGTAAGTGGAAAAAGGCAATGGAATCGATTCCG
 55 TGGAAACATGTATCCGCCAATGCACCTTCTTTGCAGCTTTTCTGTTAAGCTCTGCTAATGGTTTTCACTTACCTAAAGGCTACG
 GTAATGCCTGCACGTGGGGACATATCGCGAAAAATCAGGGTTATCCTGTGAATAAGACACCAAGCATAGGGGCTATCGCTTGG
 TTTGATAAAAACGCTTATCAGTCAAATGCTGCTTACGGTCAATGATGATGGTGTAGCTGATATCCGTGGAGACACTGCACTATCG
 AAGAGTATAATTACAACGCTGGACAAGGCCCTGAAAGATAACCATAAGCGTCAAATTTCAAAAATCTCAGGTAAGTGTTATATCCA
 TTTTAAAGACTTATCATCTCAGACAAGTCACTTCCACCAAGACAACATAAAACACATTTCTCAAGCTTCAATTTGACCCCTCTGGAA
 60 CTTATCACTTACAACAGATTACAGTCAAAGGACAACAGATCGATAGCCCTGATCTTGGTACTATGAAGCAGGTCAATC
 GTTTTATTACGATAAAGTCTGACTGCTGGAGGTTATACATGGCTTAGCTACCTCAGTTTTTCTGGAACCCGACGCTATATTTCC
 ATTAAGAGCCCGCACAGTCTGTGGTTCAAATGACAATAAAAAACCTTCCATTAAGGTCGGTGATGATGTTACCTTCCCTGCG
 GTTTTTCGTGTAGATCAGCTTGTAAATATTTGATCGTTAATAAAGAAATAGCCGGAGGAGACCCAACTCCACTAACTGGATTG
 ATCCACACCATTAGATGAAACAGATAACCAAGGAAAAAGTTTTAGGAGATCAAATCTCCGTGTGGGTGAATATTTTATCGTCACT
 65 TGGTAGTTATAAAGTATTAATAATGATCAACCAAGTAATGGTATTTATGTTCAAATCGGATCTCGTGGAAACATGGGTAATGCTG
 ATAAAGCTAACAAATATAG

ES 2 330 334 T3

SPy0103

Sec. ID 5

5 ATGATTAATCAATGGAACAACCTTACGACACAAGAAGCTAAAAAGGATTTACTCTTCTAGAAATGTTATTGGTGATTCTTGTGCATCAG
TGTGTTGATGCTATTATTTGTGCCTAATTTAAGCAAGCAAAAAGACAGGGTTACAGAAACAGGTAATGCCGCTGTTGTTAAATTA
GTGGAGAATCAAGCAGAACTATATGAATTATCTCAAGGCTCAAAACCAAGTTTGGCCAGTTAAAGGCAGATGGTAGTATCACT
GAGAAACAAGAAAAAGCTTATCAAGACTATTATGACAAACATAAAAATGAAAAAGCCCGTCTTAGCAATTAA

10

SPy0112

Sec. ID 6

15

ATGAAAATTGGCATTATTGGTGTGGCAAAATGGCTAGCGCTATCATCAAAGGCCTTAAACAACACCCCATGAACCTTATCATT
CAGGATCATCTTTAGAACGGTCCAAGGAAATGCGGAGCAGTTAGCACTGCCTTATGCTATGTCCACCAAGACCTTATTGACC
AGGTTGATCTTGTATTTTAGGCATCAAGCCTCAACTATTTGAAACGGTACTCAAACCGCTTCACTTCAAACAGCCTATTATATCT
20 ATGGCAGCAGGCAATTTCCCTTCAACGACTAGCAACATTCGTAGGACAAGACCTTCCGCTGCTACGTATCATGCCAAACATGAAT
GCACAAATCTCCAAAGCAGTACCGCTTAAACGGGAAATGCTTTGGTGTCCAGGAATTAACAAGCAGTGTTCGAGACTTAACA
GATAGCTTTGGTAGCACATTTGATATTAGTAAAAGGATTTTACACCTTTACCGCTTTAGCAGGGTCAAGTCCCTGCCTATATTT
ATCTCTTTATTGAGGCTTTGGCTAAGGCTGGCGTCAAGAATGGCATACCTAAAGCAAAGCGCTGGAGATTGTTACTCAAACAG
TATTGGCTAGCGCCAGCAATCTCAAGACCAGTTCTCAAAGTCCGCACGATTTCAATTGACGCTATTTGTAGCCCCGGTGGCACAA
25 CTATTGCTGGTCTGATGGAGTTAGAACGCCTTGGCCTCACAGCTACTGTCAGCTCTGCCATTGACAAAACCATCGATAAAGCTA
AAAGCTTGTA

25

SPy0115

Sec. ID 7

30

ATGACAGACTTATTCTCAAAAATCAAAGAAGTTACCGAAGTGGATGGCATTGCGGGCTATGAACATAGCGTTGCTGACTACCTA
CGCACAAAATAACCCCGCTGGTTGACCGTGTGAAACAGACGGGCTTGGTGGCATTTTGGTATCAGAGATAGTAAAGCTGAA
35 AAAGCCCCCGTATTTAGTAGCTGCGCACATGGACGAAGTCGGTTTTATGGTCAGTGATATCAAAGTTGACGGAACGCTACGC
GTGGTTGGTATCGGTGTTGGAACCCACTTGTGTGAGTTTACCAACGGTTTACCTTTACACACGCACTGGCCAAGTTATTCCC
CTTATTTAGGATCGGTACCTCCCATTTTTACGTGGGGCAAATGGCTCTGCTAGTCTACCACATATCGAAGATATTGTGTTTG
ATGGTGGCTTACGGATAAGGCAGAAGCTGAAAGATTTGGTATTACCCGGGTGATATTATTCCCTCAATCTGAAACGATCCT
AACAGCCAATCAAAAAAATATTATTTCAAAGCTTGGGACAATCGCTATGGCGTTCTCATGATAACAGAAATGCTTGAAGCGTTA
40 AAAGGACAAGACCTTAACAACACCCTAATTGCAGGTGCTAACGTTCAAGAAGAAGTTGGTCTGCGCGGAGCCACGTCTCAAC
CACCAAGTTGACCCCTGAACCTTTTTGCGCAGTAGATTGTTGCGCTGCTGGTATATTTAGGCAATCCTGGAACAATCGGAGAT
GGTACCTTGTGGCTTTCTACGACCCAGGCCATGTGCTGCTCAAAGATATGCGCGACTTCTTACTGACTACTGCTGAGGAAGCT
GGTGTCAATTTCCAATACTATTGTGGCAAGGGAGGCACAGATGCAGGTGCTGCACACCTTCAAATGGTGGTGTCCCATCAACA
ACCATCGGAGTCTGTGCACGCTACATTCATCTCATCAAACCTCTACGCTATGGATGATTTCTGAGAAGCCCAAGCCTTCTTAC
45 AAGCCATTATCAAAAAACTGGATCGCTCAACCGTTGACTTGATTAATGTTACTAA

45

SPy0166

Sec. ID 8

50

ATGGAAGATATTTCTGATCCAGAAAGTTATTTAGAGTATGGGGTTTACCCTGCTTTCATAAAAAGGCTATACCCAATTGAAAGCTAA
CATCGAAGAAGCATTATTAGAAATGTCAAATAGCGGTCAAGCATTAGACATTTACCAAGCAGTTCAAACCTTAAACGCTGAAAAC
55 ATGTTATTAATTTACGAAAGCTTGCATTTTATTTAAACCGTCAAAGCATACTAGCTAATATGACCAAAGCGTTAAAAGATGC
GCATATTAGAGAGGCTATGGCACATTACAAATAGGAGAATTTGCTCACTATCAAGATACTATGCTTGATATGGTCGAAAAGAACA
ATAAAAAACATTTAG

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0167

Sec. ID 9

5 ATGTCTAATAAAAAACATTTAAAAAATACAGTCGCGTCTGGCTACTGACGGCAGCTCTTATCATTGGTAACCTTGTTACTG

10 CTAATGCTGAATCGAACAAACAAAACACTGCTAGTACAGAAACCACAACGACAAATGAGCAACCAAAGCCAGAAAGTAGTGAGC
 TAACACTGAAAAAGCAGGTCAGAAAACGGATGATATGCTTAACTCTAACGATATGATTAAGCTTGCTCCCAAAGAAATGCCACT
 AGAATCTGCAGAAAAAGAAGAAAAAAGTCAGAAGACAAAAAAGAGCGAAGAAAGATCACACTGAAGAAATCAATGACAAGAT
 TTATTCACATAAATTATAATGAGCTTGAAGTACTTGCTAAAAATGGTGAAACCATTGAAAATTTTGTTCTAAAGAGGCGTTAAGA
 AAGCTGATAAATTTATTGTCATTGAAAGAAAAGAAAAAATATCAACACTACACCAGTCGATATTTCCATTATTGACTCTGTCACT
 GATAGGACCTATCCAGCAGCCCTTCAGCTGGCTAATAAAGTTTTACCGAAAAACAAACCAGACGCGGTAGTCACCAAGCGAAA
 CCCACAAAAAATCCATATTGATTTACCAGGTATGGGAGACAAAGCAACGGTTGAGGTCAATGACCCTACCTATGCCAATGTTTCA
 15 ACAGCTATTGATAATCTTGTTAACCAATGGCATGATAATTTCTGGTGGTAAATACGCTTCTGCCAGAACACAATATACTGAATC
 AATGGTATATTCTAAGTCACAGATTGAAGCAGCTCTAAATGTTAATAGCAAAATCTTAGATGGTACTTTAGGCATTGATTTCAAGT
 CGATTTCAAAGGTGAAAAGAAGGTGATGATTGCAGCATACAAGCAAAATTTTTACACCATCAGCAAAACCTTCTTAATATCC
 TGCGGATGTGTTTGATAAATCGGTGACCTTTAAAGAGTTGCAACGAAAAGGTGTCAGCAATGAAGCTCCGCCACTCTTTGTGAG
 TAACGTAGCCTATGGTCGAACTGTTTTGTCAAAGTAAACAAGTTCTAAAAGTAAATGATGTTGAAGCGGCCTTTAGTGCAGCT
 CTAAGGAAACAGATGTTAAAACATATGAAAAATATTCTGATATCTAGAAAATAGCTCATTTACAGCTGTGTTTTAGGAGGAGA
 20 TGCTGCAGAGCACAATAAGGTAGTCACAAAAGACTTTGATGTTATTAGAAACGTTATCAAAGACAATGCTACCTTCAGTAGAAAA
 AACCCAGCTTATCCTATTTTATACACCAAGTGTTCCTTAAAAATAATAAAATTCGCGGTGTCAATAACAGAACTGAATACGTTGA
 AACAACATCTACCAGTACACTAGTGGAAAAATTAACCTGTCTATCAAGGCGCGTATGTTGCTCAATATGAAATCCTTTGGGAT
 GAAATCAATTATGATGACAAAGGAAAAGAGTATTACAAAACGACGTTGGGACAACAACCTGGTATAGTAAGACATCACCATTTA
 GCACAGTTATCCCACTAGGAGCTAATTCACGAAATATCCGTATCATGGCTAGAGAGTGCAGTGGCTTAGCTTGGGAATGGTGGC
 25 GAAAAGTATCGACGAAAGAGATGTGAAACTGTCTAAAGAAATCAATGTCAATATCTCAGGATCAACCTTGAGCCATATGTTCT
 GATTACTTATAAGTAG

SPy0168

Sec. ID 10

30 ATGAAACAACAATCTTACCAGCCTCTACGCTTCGTCTACCTCTTGGTGGCTCTATTTGCTGCTCTGTTGCTTATAGCAAGACCTG
 TTATGGCAGATGAGGGAACAAATAGTGCTGATGCGGGCTATTATAAAGGGCAAAGTGCTGGAAAAAAGCAGGGAAAAAAGCT
 GGAAAAGAGCTACTTGGACTGATTTGACCCCAACTGTCCCAACTAATCCAGAAACACCTAGTGACATCGGAGAGACTACTAAT
 35 AACAGCTCTATAAAGAAGGGTATAAAGATGGTACAAAAGAGGGTTATAATGAAGGCTGGAATCTCAGTATCCCGTTTTGACT
 CCGGTCAAAGTTATATGGGATTTGATCTTATTGGCTACAGCGATTATCCCAATAATCAGTCAAGTACCGCAGCACAAGCA
 TGTCATAA

SPy0171

Sec. ID 11

45 GTGAAAAACAATTTATTTAGTTGCCCTTGCGACCGTAACTGTCCTAGGGCCGTCTTTAGCAACCCCTCATCACCAGACCGTG
 CATGCTAGTGATGTAACATTAAGTACGACATGTGATAAAAACGGAACAGTATGTTTTGGCTACGAAAACGTAGATGGTGAAGTAT
 GTAAATTAACAGCTGACGGAAAGGGAACCAATTTGTGTGGTTACGAAAATAGAGACATAAAAAGAGAGTGAACCTCTAGCACCA
 AAAATGATTGTTCAATGGTTTTGGTGTCTTTAAATTATCTTTGGACTACAATAAAAAGCTGGGTTTCGTAA

SPy0183

Sec. ID 12

55 ATGGAACAATTTTGAAGTCAAACATCTCAGTAAAATTTTTGGCAAAAAACAAAAGCAGCTCTTGAGATGGTAAAGACTGGCA
 AAAATAAGAGTGAGATTTTTAAGAAAAACAGGCGCTACTGTAGGTGTCTATGACGCTAGTTTTGAGGTCAAAAAAGGTGAAATCTT
 TGTATTATGGGGCTATCAGGAAGTGGAAATCAACCCTTGCCGCATGCTAAATCGTTTTGATTGAACCTTCAGCAGGATCTATC
 60 TTGCTGGAAGGTAAGACATCTCAACCATGTCAGCAGATCAGCTGCGTGAGGTGCGCCGCCATGACATTAACATGGTTTTCCAA
 AGCTTTGCCCTCTTCTCATAAAAACCAATTTGGAAAAATACCGAATTTGGTTTTGGAATFACGTGGCGTTCCCAAAGAAAGACGCC
 AGCGATTGGCAGAAAAAGCCCTTGATAAATCAGGCCTATTAGATTTTAAAGACCAGTACCCAAACCAACTATCTGGTGGGATGC
 AGCAGCGTGTGCGCTAGCCCGTGCCTAGCTAATAGCCCTAAAATTTCTTAAATGGACGAGGCATTCTCAGCGCTTGATCCTT
 TGATTCGTGCTGAGATGCAAGATGAATTAATGATTTGCAAGACAGCATGAAACAAACCATCATCTTTATCAGTCATGACTTGAA
 TGAAGCCCTGCGGATTTGGTATCGGATTTGATGAAAGACGGACAATTTAGCAATTTGGTACTGGTGAGGAAATCTTGAC
 TAACCAGCCAATGACTTTGTGCGTGAATTCGTTGAGGATGTGGACCCTTCTAAAAGTCTTGACAGCACAAAATATCATGATCAAA
 65 CCGTTAACAACTACTGTTGAATTAGATGGACCTCAAGTTGCCTTGAACCGTATGCACAACGAAGAGGTGTCTATGTTGATGGCG
 ACGAATCGCCGCCCAATTAGTCGGTAGTTTACGCGCCGATGCCGCTATAGAGGCGCGCAAAAAAGGGTTACCGCTATCAGA
 AGTGATTGATCGCGATGTGAGAAGTGTCTCAAAAAGATACTATTATTACAGATTTTTGCCTCTTATCTATGATTCATCTGCTCCGA
 TTGCAGTGACAGATGATAAATCGTCTGTTAGGTGTCATTATTCGAGGACGAGTGATTGAAGCCTTGGCTAATATCTCAGACGA
 AGACCTTAACTAA

ES 2 330 334 T3

SPy0230

Sec. ID 13

5

ATGAAAACAGCACGTTTTTTCTGGTTTTATTTTAAACGCATCGTTTCTCATTACTGTCATTGCTGTTGCCGTTATCTTAGCAACT
TATTTACAAGTAAAAGCTCCTGTCTTCTTAGGAGAGTCTTACTGACTGAGTTGGGAAAATCGGTCAGGCTTATTAGTTGCTAAGA
TGAGTGGCCAGACACATTTAGCCCTGATTTATCAGCTTTAATGCCGTGATGTTAAAGCTTTGATGACTTATTTCTTACTGTT
TTAGCTAACTAATATATAGTTTCTACTTACACGTGTTGTCTCACATTGACTAACCGCATGCGCAAGGGCTTATTTGGTAAATT
AGAAGCTTTAACCGTCGCTTTTTGACCGCCATAAAGATGGGAGATTCTTCTCGTTTACGAGTGATTTGGATAATATTCAA
AAGTGGTGAACCAATCCTTGATTCAAGTGGTACTAATATTGCCCTTTACATCGGCTGGTCTGGATGATGTTTAGGCAAGATA
10 GCCGTTTACGTTTGTAAACCATCGCATCAACCCAGTTGCTCTCATTTTTTGTAGTATTAAACATCCGTTTGGCAAGAAAATACACC
AATATCCAACAGCAAGAAGTCAGTGCTTTAAATGCTTTTATGGATGAAACCATTTACAGGACAAAAGGCTATTATTGTACAAGGTG
TCCAAGAAGATACGATGACAGCCTTTTTAAAGCATAATGAAAGGGTTCGACAAGCCACCTTCAAACGCCGCTCTGTTCTCAGGAC
AATATTTCCAGTCATGAATGGAATGAGCCTTATTAACACGGCTATCGTGATTTTTGTCCGTTCAACAATTGTCCTCAGTGACAAA
TCTATGCCAGCAGCGGCAGCCTTGGTTTGTGGTTACTTTTTGTACAATATTTCCAGCAATATTACCAACCCATGATGCAAAATCG
15 CGTCTAGTTGGGAGAATTGCAGCTGGCCTTACCGGTGCTCACCGTATTCAAGAAATGTTGATGAAACCGAAGAAGTTCGTC
CACAAAATGCACAGCTTACCAGCTTAAAGGAAGCAGTGGCGATTAAACAGCTCGATTTTGGGTATCTTCTGGGCAAAAAG
TTTTATCAGATGTGCAATCGTGCACCAAGGGCAAAATGATTGCCGTGGTTGGACCGACAGGTTCTGGAAAGACCATTATA
TGAACCTGATTAACCGTTTCTACGATGTGGATGCAGGTTGATTACCTTTGATGGCCGTGATATTCTGACTACGATTTGGATAG
TCTTCGTAAGGATGAGGATTGTGTTGCAAGAGTCAGTTCTTTTTACGGAACCATACGGATAATATTCTGTTTGGTATCAG
ACCATTAGTCAAGACATGTTGAAACTGCTGCGGTGCCACCATATTCATGACTTATCATGTCCTTACCAAAAAGGGTACAATA
20 CCTATGCTCAGATGATGACAATGTCTTTCAACAGGTCAAAGCAGTTGATTTCTATTGCTAGGACGCTACTGACCCCTGA
AGTGTGATTTGGATGAGGCCACTTCAAATGTTGATACGGTACCAGAAAGTAAAATTCAACGGGCCATGGAAGCTATCGTGCC

25

AGGTCGAACTAGCTTTGTCATTGCTCACCGCCTCAAACCATTTTAAATGCCGATCACATTATTGTGTTGAAAGATGGCAAGGTC
ATTGAGCAAGGAAATCATCATGAGCTATTGCATCAAAAAGGCTTTATGCCGAATGTATACAATCAATTTGCTTTGAATAG

SPy0269

Sec. ID 14

30

ATGGACTTAGAACAAACGAAGCCAAACCAAGTTAAGCAGAAAATTGCTTTAACCTCAACAATTGCTTTATTGAGTGCCAGTGTAG
CGGTATCTCACCAAGTCAAAGCAGATGATAGAGCCTCAGGAGAAAACGAAGGGCAGTAATACTCAGCAGCATAGTTTACCAAAAAC
35 CAGAAAACAATTCAAGAGGCAAGGCAACTATTGATGCAGTTGAAAAAATCTCAGTCAACAAAAAGCAGAAGTACAGAGCTTTG
CTACCCTCTGACAAAACTACTGCTGAAATCAACCCTTAAAGAGCAGCAAGATAATGAACAAAAAGCTTTAACCTCTGCACA
AGAAATTTACACTAATACTCTTGAAGTAGTGAGGAGACGCTATTAGCCCAAGGAGCCGAACATCAAAGAGAGTTAACAGCTAC
TGAAACAGAGCTTATAATGCTCAAGCAGATCAACATTTCAAAGAGACTGCATTGTGAGAACAAAAAGCTAGCATTTCAGCAGAA
ACTACTCGAGCTCAAGATTTAGTGAACAAGTCAAACGCTGTAACAAAAATTGCTAAGCTCAATGCTATGATTAGCAATCCTG
40 ATGCTATCACTAAAGCAGCTCAAACGGCTAATGATAATACAAAAGCATTAAAGCTCAGAATTTGAGAAGGGTAAAGCTGACTAGA
AAATCAAAAAGCTAAAGTTAAAAGCAATTGACTGAAGAGTTGGCAGCTCAGAAAGCTGCTCTAGCAGAAAAGGAGGCAAGT
TAGTCGCTTAAATCCTCAGCTCCGCTACTCAAGATAGCATTGTGGGTAAATAACCATGAAAGCACCAGCAAGGCTATCCTCTT
GAAGAACTTAAAAATTTAGAAGCTAGTGGTTATATTGGATCAGCTAGTTACAATAATTATTACAAGAGCATGCAGATCAAAATAT
TGCCAAAGCTAGTCCAGGTAATCAATTAATCAATACCAAGATATCCAGCAGATCGTAATCGCTTTGTTGATCCCGATAATTTG
45 ACACCAGAAGTGCAAAAAGTAGCTAGCGCAGTTTGCAGCTCACATGATTAATAGTGTAAAGAACAATTAAGGTCTACCACAGTT
ACTGTTACAGCAGGATCACAAGAATTTGCAAGATTACTAGTACCAGCTATAAGAAAACCTCATGGTAATACAAGACCATCATTG
TCTACGGACAGCCAGGGGATCAGGGCATTATGGTGTGGCCCTCATGATAAACTATTATTGAAGACTCTGCCGGAGCGTCA
GGGCTCATTGAAATGATGATAACATGTACGAGAATATCGGTGCTTTAACGATGTGCATACTGTGAATGGTATTAACGTGGTA
TTTATGACAGTATCAAGTATATGCTCTTTACAGATCATTTACACGGAAAATACATACGGCCATGCTATTAACCTTTTACGTGTAGAT
AAACATAACCCATGCGCCTGTTACCTTTGGATTTCAACCAGCAATGTAGGATCTTTGAATGAACACTTTGTAATGTTCCAGA
50 GTCTAACATTGCTAACCATCAACGCTTTAATAAGACCCCTATAAAAAGCCGTTGGAAGTACAAAAGATTATGCCAAAAGAGTAGGC
ACTGTATCTGATACTATTGCAGCGATCAAAGGAAAAGTAAAGCTCATTAGAAAATCGTTTGTCCGCTATTATCAAGAAGCTGATA
TTATGGCAGCCCAAGCTAAAGTAAGTCAACTTCAAGGTAATTAAGCAAGCACATTAAGCAGTCAGACAGCTTAAATCTCCAAGT
GAGACAATTAATGATACTAAAGGTTCTTTGAGAACAGAACTACTAGCAGCTAAAGCAAAAACAGCACAACCTCGAAGCTACTCGT
GATCAATCATTAGCTAAGCTAGCATCGTTGAAAGCCGCACTTAAAGCAGCAGAGCAAGCCTTAGCAGAGCAAGCCGACGCCAGAGT
GACAGCACTGGTGGCTAAAAAGCTCATTGCAATATCTAAGGGACTTTAAATGAATCCTAACCCGCTTCAAGTGATACGTGAG
55 CGCATTGATAACTAAGCAAGATTTGGCTAAAACCTACCTCTTTGTTAAATGCACAAGAAGCTTTAGCAGCCTTACAAGCTAA
ACAAAGCAGTGAAGCTACTATTGCTACCACAGAACACCAGTTGACTTTGCTTAAACCTTAGCTAACGAAAAGGAATATCGC
CACTTAGACGAAGATATAGCTACTGTGCCTGATTTGCAAGTAGCTCCACCTCTTACGGGCGTAAAACCGCTATCATATAGTAAGA
TAGATACTACTCCGCTTTGTTCAAGAAATGGTTAAAGAAAACGAAACAACCTATTAGAAGCTTACAGCAAGATTAGCTGCTGAAAATAC
AAGTCTTGTAGCAGAAGCGCTTGTGGCCAAACCTCTGAAATGGTAGCAAGTAATGCCATTGTGTCTAAAATCACATCTTCGATT
ACTCAGCCCTCATTAAGACATCTTATGGCTCAGGATCTTACAACAGCAATCTCATTCTGATGTTGATGAAAGTACTCAAA
60 GAGCTCTTAAAGCAGGAGTGTGATGTTGGCAGCTGTGGCCCTCACAGGATTTAGGTTCCGTAAAGGAATCTAAGTGA

65

ES 2 330 334 T3

SPy0287

Sec. ID 15

5 ATGACAAAAGAAAACTAGTGGCTTTTTCGCAAGCCCACGCTGAGCCTGCTTGGCTGCAAGAACGGCGTTTAGCGGCATTAGA
 AGCCATTCCAAATTTGGAATTACCAACCATCGAAAAGGGTTAAATTTACCCGTTGGAATCTAGGAGATGGTACCTTAACAGAAAAT
 GAAAGCTAGCTAGTGTCCAGATTTATAGCTATTGGAGATAACCCAAAGCTTGTTCAGGTAGGCACGCAAAACAGTCTTAGAAC
 AGTTACCAATGGCGTTAATTGACAAGGGAGTTGTTTTAGTGATTTTTATACGGCGCTTGAGGAAAATCCCAGAAGTAATTGAAGC
 TCAATTTGGTCAGGCATTAGCTTTTATGATGAAGACAAACTAGCTGCCTACCACACTGCTTATTTAATAGCGCAGCCGTGCTCTAC
 10 GTTCTGATCACTTGGAAATCACAACTCCTATTGAAGCTATTTCTTACAAGATAGTGACAGTGACGTTCTTTTTACAAGCATGT
 TCTAGTGATTGCAGGAAAAGAAAAGTAAGTTACCTATTTAGAGCGTTTTGAATCTATTGGCAATGCCACTCAAAAAGATCAGCGCT
 AATATCAGTGTAGAAGTGATTGCTCAAGCAGGCAGCCAGATTAATTTCTGGCTATCGACCGCTTAGTCTCTTCAAGTACCAACC
 TATATTAGCCGTCGAGGACGTTTATAGAGAAGGATGCCAACATTGATTTGGGCTTAGCTGTGATGAATGAAGGCAATGTCATTGCT
 GATTTGACAGTGAATTTGATTGGTCAGGGCTCACAAGCTGATTTGAAAAGTTGTTGCAGCCTCAAGTGGTCGTCAAGTACAAGGT
 ATTGACACGCCGTCGACCAACTATGGTCAACGTACGGTCGGTCAATTTTACAGCATGGTGTGATTTTGAACGTGGCACCTTA
 15 ACGTTTAAACGGGATTGGTCATATTCTAAAAGACGCTAAGGGAGCTGATGCTCAACAAGAAAGCCGTGTTTTGATGCTTTCTGAC
 CAAGCAAGAGCCGATGCCAATCCAATCCTCTTAATTGATGAAAATGAAGTAAACAGCAGGTGATGCAGCTTCTATCGGTGAGTT
 GACCCCTGAAGATATGTATTACTTATGATGTCGAGGACTGGATCAAGAAAACGACAGAACGATTGGTTATTAGAGGATTCCTAGGA
 GCGGTTATCGCTGAAATTCCTATTCATCAGTCCGCCAAGAGATTATTAAGGTTTTAGATGAGAAAATGCTTAATCGTTAA

20 SPy0292

Sec. ID 16

25 ATGATCAAACGATTAATTTCCCTAGTGGTCATCGCCTATTTTTGACAGCAAGCACTGTTAGCGGTGAAGAGTATTCGGTAACTG
 CTAAGCATGCGATTGCCGTTGACCTTAAAAGTGGCAAAGTTTTATACGAAAAAGATGCTAAAGAAAGTTGTCCAGTCGCCTCAG
 TCAGTAAGCTCTTGACAACCTATCTGGTTTACAAAAGAAAGTTCTAAGGGCAAGCTAAATTTGGGATAGTCTGTAACCTATTTCTAA
 CTACCCTTAACTCACTACAACTATACTATTAGTAACGTTCTCTTGATAAGAGAAAATATACCCTTAAAGAACTTTTAAAGT
 30 CGTTAGTTGTTAATAACGCCAATAGCCCGCTATTGCTTTAGCTGAAAAAATAGGCGGAACCGAACCCAAATTTGTTGACAAAAT
 GAAAAACAATTAAGACAATGGGGCATTCCGATGCAAAGGTCGTAATCAACTGGCTTAACTAACCATTTTTTAGGAGCTAAT
 ACTTATCCTAATACAGAACAGATGATGAAAATTTGTTTTGCGCCACTGATTTAGCTATTTGCCAGGCATCTCTTATTAGAATT
 TCCAGAAGTACTGAAATTTCTAGCAAATCCTCCACTATTTTTGCTGGACAAACCATTACAGTTATAATTACATGTTTAAAGGCA
 TGCCTTGTATCGAGAAGGCGTGGATGGTCTTTTTGTTGGTATTCTAAAAAGCCGGTGTCTTTTGTAGTACTAGTGTGCGA
 AAATCAAATGAGGGTTATTACAGTAGTTTTAAATGCTGATCAAAGCCACGAGGATGATTTAGCTATATTTAAAACAACCAATCAAT
 35 TGTTGCAGTACCTTTAATTAATTTCAAAAAGTCCAGTTAATTGAAAATAATAAACCAGTAAAAACGTTATATGTCTTAGACAGTC
 CTGAAAAAACTGTCAAACCTGTAGCCCAAAAATAGTTTTATTTTTATCAAACCAATACATACAAAAGCCAAAAATACCGTCCATATTA
 CTAAGAAATCATCCACAATGATCGCACCTCTATCAAAGGGACAAGTCTTAGGTAGAGCAACCCCTCAAGATAAACATCTTATTGG
 ACAAGGTTATCTGGATACTCCTCTTCTATCAATCTTATCCTTCAAAAAACATTTCTAAAAGTTTTCTTTTTAAAGGTCTGGTGGAA
 CCGTTTTGTGAGGTATGTCAATACCTCTTTATAG

40 SPy0295

Sec. ID 17

45 ATGGAATCGATTGATAAATCTAAATTCGATTTGTTGAGCGGATAGTGAAGCCTCCGAAGTGATTGATACCCTGCTTATTCTT
 ACTGGAATCAGTGTTCGTCAGTTTTTTCTAAAAAATCTACAGTCTTTATGCTCGTAATTTTAGTGACAGTCTTGATGATGAGC
 50 TTTATTTATCCAATGTTTGCCAACTACGACTTTAATGACGTTAGTAATATCAATGACTTTTCAAAGCGTTATATTTGGCCAAATGCA
 GAGTACTGGTTTGGAAACCGACAAAAATGGGCAATCTCTGTTGATGGTGTGGTATGGGGCACGTAATCTATTTAATCTCAG
 TTATAGCGACACTAATTAATATCACCATTGGGGTAGTGTAGGAGCCATATGGGGAGTTTCTAAAGCATTGATAAAGTTATGAT
 TGAATTTATAACATTATCTCAAATATCCCTTCTATGCTTATTATCATTGTTTTGACCTATTCATTAGGTGCAGGATTTTGGAAATTT
 GATTCAGCTTTCTGTATCACTGGATGGATTGGTGTGCGCTACTCCATCCGTGTTCAAATCTTGCCTTACCGTATTAGAATAC
 AACCTTGCTAGTCAAACCTTGGGAACACCAATGTACAAGATTGCTGTTAAGAACCTCCTGCCTCAATTTGGTTTCAGTTATCATGA
 55 CTATGTTGTCACAAATGCTACCAGTTTATGTATCTTCTGAGGCCTTCTTATCCTTCTTTGGGATTGGTTTACCAACCACCACTCCA
 AGTTTAGGACGTTTTATTGCTAATTTCAAGCAACTTAACAACAAATGCCTACCTCTTTGGATTCCCTTAGTAACATTGATTTTA
 GTATCGTTACCCTATACATTGTCGGACAAAACCTGGCTGATGCCAGTGACCCACGTTACATAGATAG

60
65

ES 2 330 334 T3

GTCTGACACAGGTCTAGTCACAAATCAAGCCCAGCTAGCAGTGGTGCACCGCAATCAGCCGCAAAGCCAGCTAACAAAGATGA
ATCAGGATTTCTTTATCTACCCAAACGAAGATGGGAATAAAGACTTTGTGGCCTTTAAAGGCTTGAAAAAATACGTGTATAATGA
CTTAACGGTTAACGTATACGCTAAAGATGACCACCAAAAAACAAACCCTATCTGGTCTAGTCAAGCAGGCGCTAGTGTATCCGC
TATTGAAAGTACAGCCTGGTATGGCATAACAGCCCAGGAAGCAAGGTGATGCCAGGTGATTATCAGTATGTTGTGACCTATCG
5 TGACGAACATGGTAAAGAACATCAAAAGCAGTACACCATATCTGTGAATGACAAAAAACAATGATCACTCAGGGACGTTTTGAT
ACCATTAATGGCGTTGACCCTTTACTCCTGACAAGACAAAAGCCCTTGACTCATCAGGCATTGCCGCGAAGAAGTCTTTACT
TGGCCAAAGAAAAATGGCCGTAATTTGATGTGACAGAAGGTAAGATGGTATCACAGTTAGTGACAATAAGGTGTATATCCCTAA
AAATCCAGATGGTCTTACACCATTTCAAAAAGAGATGGTGTCACTGTGAGATTACTACCTGTGCAAGATAGAGCTGGT
AATGTGTCTTTGCTACCTTGCCTGACCTAAAAGCGGTCGAAAAAGACAAAGCAGTAGTCAATTTGGATTAGACTTACCGGTC
CCTGAAGACAAACAAATAGTGAACITTTACCTACCTTGTGCGGGATGCAGATGGTAAACCGATTGAAAACTAGAGTATTATAATA
10 ACTCAGGTAACAGTCTTATCTTCCATACCGGCAATACACGGTCGAATTTGTTGACCTATGACACCAATGCAGCCAACTAGAGT
CAGATAAAATCGTTTCTTTACCTTGTCACTGATAACAACCTTCCAACAAGTTACCTTTAAGATAACGATGTTAGCAACTTCTCAA
ATAACTGCCACTTTGATCATCTTTGCCAGAAGGCAGTCGGTTAGCCTTAAACAGCTCAAGATCAGTAATCCCGCTTGAAC
AGTCTTGTATGTGCCTAAAGCTTATGGCAAAACCGTTCAAGAAGGCACCTACGAAAGTTGTTGTCAGCCTGCCTAAAGGCTACC
GTATCGAAGGCAACACAAAGGTGAATACCTACCAATGAAGTGCACGAACTATCATTACGCCTTGTCAAAGTAGGAGATGCCT
15 CAGATTCAACTGGTGTATCAAGTTTATGTCAAAAAATAATTACAGGCTTTGACAGCCTCTGCCACACCAACCAAGTCAACGAC
CTCAGCAACAGCAAAAAGCCCTACCATCAACGGGTGAAAAATGGGTCTCAAGTTGCGCATAGTAGGTCCTTGTGTTACTCGGACT
TACTTGGCTCTTTAGCCGAAAAAATCAACCAAGATTGA

SPy0430

Sec. ID 20

ATGAAATGGAGTGGTTTTATGAAAAACAAATCAAAACGCTTTTTAAACCTAGCAACCCTTTGCTTGGCCCTACTAGGAACAACCTT
GCTAATGGCACATCCGTACAGGCGGAGGTGATATCAAAAAGAGACTATATGACTCGCTTCGGGTTAGGCGATTTAGAAGATGA
25 TTCAGCTAACTATCCTTCAAATTTAGAAGCTAGATATAAAGGATATTTAGAGGGATATGAAAAAGGCTTAAAGGAGATGATATAC
CCGAACGGCCCAAGATTCAAGTTCTGAGGATGTTCCAGCCATCTGACCATGGCGACTATAGAGATGGTTATGAGGAAGGATTT
GGAGAAGGACAACATAAACGTGATCCATTAGAAACAGAAGCAGAAGATGATTCTCAAGGAGGACGTCAAGAAGGACGTCAAGG
ACATCAAGAAGGAGCAGATTCTAGTGATTTGAACGTTGAAGAAAGGCACGGTTTGTCTGTTATTGATGAAGTAGTTGGAGTAATT
TATCAAGCATTTAGTACTATTTGGACATACTAAGCGGTTTGTCTAA

SPy0433

Sec. ID 21

ATGAAAAAGACATTAACCTTGTCTACTGGCACTCTTTGCCATCGGGGTAAGTATAGCGTCAAGGCGGAGGATGAACAAAGTAGT
ACACAAAAGCCAGTAAATTTGATTTGGATGGACCTCAACAAAAAATTAAGATTATAGTGGCAACACAATCACTCTAGAAGACT
TATATGTTGGTAGTAAAGTAGTAAAAATATATATCCCTCAAGGATGGTGGGTATATCTTTACAGACAATGTATCATAACAGTAAA
40 GAACGAGGAATTTAGCTAGTCTATTCTCGAAAAAATATAACAAAAACAGATCCTTATCGTCAATATTATACAGGAGTACCTTA
TATTTCTAACITTAGGAGAAGATCCTTTGAAGAAAGGAGAAAAATTACTTTCTCATTAAAGGAGAAAGACGGATTTTATGTCCGTA
GCTATATCTATAGAGACTCTGATACTATAAAAAAGAAAAAGAGCTGAAGAAGCACCTTCAAAAAAGGAAAGAGGAAAAAGCAACA
AAAAACAGCTAGAAGAAAGCATGCTAAAGCAGATAAGAGAAGAACCATAAACCTTGGCATCAGCGGTTAAGTGAAGAGATCCA
AGATCAGTGGTGAACCTTAAGGGACTGTTTCAGTGA

SPy0437

Sec. ID 22

ATGAAAAAACATTAACCTTGTCTACTGGCACTCTTTGCCATCGGGGTAAGTATAGCGTCAAGGCGGAGGATGAACAGAATAAG
TTTATACTTGATGGATTACAGGAAAAAGTAAAGAAGTTAGTGTATCAGATTTTCTGTTGGAGAACTAAAATCAAAGTCTGGCT
TCCTCAAGCTTGGTCGGTCAAAATTTCTAGAGAACATTCACCAAAAATCAAGCATTTCTAATTCTGGAGAACAACCTTTAAGCA
ATAGCTCAGAGAATAAAGAAGGTCAATTTCTAAAAGATTACCTTATGGTACCCAACATACTATTAAATATCATCCCAACTTACA
55 AAAGGTGAGAGAGTCACTTTGACATTCAGAGATGAAGATTTTGGGGAGCAGGTTACTGCTTCTATAGAGATTCACTATCCATAA
AAGAAGCAAAACAATACGAAGAAGAAATTAAGAAAATGAGGATGACCTAGAGAGACAAGATCTTAAAAATGATGCACTAGAGA
TGTTTAAAAAACAAACCGAAAGAGAGGCTAATAAACCTTGGCATCAGCGGTTAAGCGAAAAACATCCAAGATCAGTGGTGAAC
TTAAGGGACTGTTTCAGTGA

ES 2 330 334 T3

SPy0469

Sec. ID 23

5 ATGATTACTAAAAAGAGCTTATTTGTGACAAGTGTGCGTTTGTGCTTAGTACCTTTGGCGACAGCGCAGGCACAAGAGTGG
 ACACCACGATCGGTTACAGAAATCAAGTCTGAACTCGTCTAGTTGATAATGTTTTACTTATACTGTAAAATACGGTGACACTTT
 AAGCACAATGCTGAAGCAATGGGGATTGATGTGCATGCTTAGGAGATATTAAATCATATTGCTAATATTGACCTAATTTTTCCAG
 ACACGATCCTAACAGCAAACAATCAACACGGTCAGGCAACGAATTTGACGGTTCAAGCACCTGCTTCTAGTCCAGCTAGCG
 TTAGTCATGTACCTAGCAGTGAGCCATTACCCCAAGCATCTGCCACCTCTCAACCGACTGTTCTATGGCACCCTGCGACAC
 CATCTGATGTCCCAACGACACCATTGCGATCTGCAAAGCCAGATAGTTCTGTGACAGCGTCACTGAGCTCACATCGTCAACGA
 10 ATGATGTTTCGACTGAGTTGTCTAGCGAATCAAAAAGCAGCCAGAAGTACCACAAGAAGCAGTTCCAACCTCTAAAGCAGCTG
 AAACGACTGAAGTCGAACCTAAGACAGACATCTCAGAAGCCCCAACITTCAGCTAATAGGCCGTGACCTAACGAGAGTGTTCAG
 AAGAAGTTTCTTCTGCGGCCCCAGCACAAAGCCCCAGCAGAAAAAGAAGAAACCTCTGCGCCAGCAGCACAAAAAGCTGTAGCT
 GACACCACAAGTGTGCAACCTCAAATGGCCTTTCTTACGCTCCAACCATGCCACAATCCAATGAATGCAGGGCTTCAACCA
 CAAACAGCAGCCTTCAAAGAAGAAGTGGCTTCTGCCTTTGGTATTACGTCATTAGTGGTTACCGTCCAGGTGATCCAGGAGAT
 CATGGTAAAGGTTTGGCCATTGATTTTATGGTGCCTGAAAAATTCTGCTCTTGGTGTCAAGTTGCTCAATATGCCATTGACCATA
 15 TGGCAGAGCGTGGTATTTATACGTTATTTGAAACAGCGATTCTATGCGCCATTTGCAAGTATTTACGGACCAGCCTACACAT
 GGAACCCATGCCAGATCGCGGCAGTATTACAGAAAACATTATGATCATGTTTCATGTCTCTTAAATGCTTAA

20 SPy0488

Sec. ID 24

25 TTGCGGCAGATTCACTCCATTCTGCTGATAGACGTTTTGGAGTTGGCTTTTGGAGTTGGCTATAAGGAAGAAACAACCTCTCAG
 TTTTCTTCGATCAGCCCTCCCAAGTGGTTTTGATCGAGGTGAGGCTAACACGGTTAGGTTTGCCTATACCAATCAGATGTCTC
 TGATGAAAGATATTCGCAATGCTTTGGATGGTCTGATAAGTCTTTGACCGCTCAGATTGTTCTGGTATGGGTGATGTTTATGA
 GGGCTTTCAAACCTCTGCTAGAGGGATTTTACGATGTCAGGAGTTTCTGAAAGCACTGTTCCCGTTGCTAACCCCTAATGTACAA
 ACCAAATATAAGGTATTTCAAAGTCAATGATGATATGCATAACACAATGTATAAGGAACGTTTTTCTTGTTC AACCGCAAGC
 TTGGAATACACCATGAAATCTGTTGATCAGTTACCAGTAGATGACTTGAACCATATTGGCGTTGCTGGTATTGAACGAATGACA

30
 35 ACTCTCATTAAAAATGCGGGTGCCCTTTAACCACAGGAGGTAGTGGGGCTTTCCAGACAATATTAAGTATCTATTAATCCAA
 AGGGGAGGCAGGCCACGATTACTTATGGGGACGGCTCTACGGATATTATTCTCCAGCAGTTTTATGGAAAAAGGCTCCGTA
 AAAGCCTACTGAAGCCGATCAATCTGTCGGAACACCGACTCCTGGTATTCTGGTAAATTCAAACGAGACCAGAGCCCTAAC
 GAGCATGAAGCTATGGTAAATGTGCAACCACTGTCTCATGTAGTAAAAGACAATATAAAGGTATAGATGAAAAATCAACAGGG
 CGGTTTGGCCTTTTACGCTAATGAAGATGAGAAGGAGAAGCCTGCCAGCGATGTTAAGGTAAAGACCAGCAGAAGTTGGTAG
 CTGGCTAGAACCAGCAGACTCTTCTAGTGTGAAATGAGCGCTGAGGACAGGTTAAAAAGTTAG

40 SPy0515

Sec. ID 25

45 ATGAAAGTCTTATTGTATTTAGAAGCAGAAAAATATCTAAGAAAAATCAGGAATTTGGTCGAGCGATTAAGCATCAGGCTAAAGCCT
 TGTCACTTGTGGTCAACATTTACGACTAATCCAAGAGAACTTATGATTTGGTTCATCTCAATACCTATGGTTTAAAAAGTTGG
 CTGCTGATGATAAAAGCACA AAAAGCTGGTAAGAAGTTATCATGCATGGCATTCTACAGAAAGAAGATTTTAGAAATCTTTTA
 TTTTTCAAATCTATTATCTCCTTGGTTTAAAAAATACCTTTGTCACTTTTACAATAAGGCAGATGCTATCATTACCCCTACCCTAT
 ATTCTAAGTCTTTGATTGAGAGTTATGGAGTGAAGTCACTATTTTGCAGTGTCAAATGGGATTGATTTGGAGCAGTACGGAGC
 AGATCCTAAAAAGGAAGCAGCTTTTCGTCGCTACTTTGACATTAAGAGGGTGAAAAAGTGGTTATGGGAGCAGGATTTTTTT
 50 CTGAGGAAAGGAATTGATGACTTTGTCAAAGTTGCCAAGCTATGCCAGATGTTTGGTTTTATCTGGTTTGGCGAGACCAACAAT
 GGGTCATTCTGCTCAAGTTCGCCAAATGGTCAATGGTAACCACCCGAAAAATCTTATTTTCCCAGGATACATTAAAGGGGATGT
 TTATGAAGGTGCCATGACTGGTGCAGATGCCTTTTTCTTTCCAAGTCTGAAAGAAACAGAAGGCATTGTTGTCTTAGAAGCCTTG
 GCCAGTCGCCAGCACCTTTGTTTTACGTGATATACCAGTTTACTACGGATGGGTTGATCAAAGTAGTCCGGAATTAGCAACCGAT
 ATACCAGGTTTTATAGAAGCTCTGAAAAAGCTTTTTCTGGTCCAGCAACAAAGTTGAAGCTGGTTACAAGGTTGCCAGAGT
 55 CGTCGCTAGAAACGGTTGGCCATGCCTTAGTAGATGTCTATAAAAAAGTAAATGGAGTTATAA

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0580

Sec. ID 26

5 ATGGAAAATAACAATAATCACAAACATTGCAGAGGCTTTGTCTAGTGTCCATCAAATGAACAGGTGCTTGCCCTAACAGCAC
 AAGGCAATACCATTCCTTTATTGCACGTTACCGTAAAGAAGTAACAGGAAATCTAGATGAAGTGGTGATTAAGTCCATTATTGA
 10 TATGGATAAGTCTCTCACTACCCTGAATGAGCGCAAAGCAACCATTCGCTAAAATTGAGGAACAGGGAAAACTGACAGATCA
 GTTACGAACGAGTATTGAAGCAACCGAGAAACTCGCTGATTTGGAAGAGTTGTACCTGCCTTATAAGGAAAAACGCCGTACAAA
 AGCGACGATTGCGCGTGAAGCAGGCTTGTCCATTAGCACGTTTGTATTTACAAAATGCGCAAAACCTTGAACAGCAGCAGA
 ACCCTTTGTACAGAAGGATTTGCCAGCCACAAAGACTAGCAGGAGCTGTGGACATCCTTGTGGAGGCCATGTCAGAAG
 15 ATGCTAAATTACGCTCTTGGACCTACAATGAGATTTGGCAGTACAGCCGCTTAGTATCAACGCTTAAAGATGAGCAGTTGGATG
 AGAAAAAGGTTTTCCAAATCTATTACGATTTTCTGACCAAGTGTCTAACATGCAAGGATATCGTACTTTAGCCCTTAAACCGTGG
 CGAAAAGTTAGGCATCTTAAAAGTGTCTTTGAGCATAACTTTGGAGAAAATGCAACGCTTTTTCAGTGTGCGGTTCAAAGAAACC
 AACCTTATATTGAAGAGGTCAATCAGACCATCAAAAAGAAAATTGTTCCAGCTATGGAAGAGACGGGTTCTGTCAGAACTCA
 GTGATGCCGCGAGAAGATGGGGCTATCCACCTCTTTTCTGAAAATCTCCGTCATCTTTTGTAGTGTCTCCTTTAAAAGGGAAAAAT
 GGTCTTGGGTTTACCCTGCCTTTCGAACAGGTGCAAAAATTGGCTATCGTTGATCAGACTGGAAAATTGTTGACTACTCAGGTT
 20 ATTTATCCGTAGCACCAGCTAGCCAAACGAAGATTCAAGCAGCTAAAGAAACACTGACTCAGCTCATTGAGACTTACCAGATT
 GATATTATTGCCATTGAAACGGAACAGCCAGTCGGGAAAGTGAAGCCTTTGTAGCAGACGTTTTGAAAGATTTCCCAAATACG
 TCCTTATGTCATCGTTAACGAAAAGCGGTGCTTCTGTTTATTACGCGTCAGAGTTAGCCCGCCATGAGTTTCCAGACCTCACAGTG
 GAGAAGCGCTCTGCTATTTCTATTGCTCGTCGCTTGAAGACCCACTCGCAGAATTTGGTAAAATTGATCCTAAATCTATTGGCG
 TCGGTCAGTACCAGCAGATGTGAGTCAGAAAAAGTTGAGTGAGAACTTTGGTTTTGTTGTGGATACTGTGGTTAACCAAGTCG
 25 GTGTTAATGTGAACACGGCTAGTCCATCTTTATTAGCACATGTGTGAGGTTTTGAACAAAACGATTTGAGAAAATTTGTCAAATCA
 CGCGAAGAAAATGGAGCACTGACATCACGCGCTGACATCAAAAAAGTGCCTGCTTTAGGAGCCAGGCGTTTGGCAAGCAGC
 AGGTTTTCTCAGAAATCCAGGAGCCAAAAATTTTTAGACAACACAGGAGTTCAACCCGAGTCTACCCAGCAGTCAAGAACT
 CTTTAAAGTACTTGGTATTGAGGACTTGGACGACGCTGCCAAGGCAACTTTCAGCAGAGTTCAAGTTCCCAAATGGCAGAAAC
 ATTTGGCTATTGGGCAGGAAACCCCTTAAAGATATCATTGCTGATCTCCTTAAACCGGGTCTGACCTTCGTGATGACTTTGAAGC
 ACCAATCTTACGTCAAGATATCCTTGAATTTGAAAGATTTGGAATTTGGCCAGAAGCTTGAAGGAACGTGTGAGAAACGTCGTTGAC
 TTTGGTCTTTTGTAGACATTGGTGTTCATGAAGATGGGCTTATTACATTTCTGAAATGAGCAAAACCTTTGTCAACCACCCTA
 30 GTCAAAGTTGTTTCAAGTGGTGAATTTGGTCTCTAAGATTGACTTGGACCGCCACAAGGTCAATCTCAGCCTAT
 TGCCACCGCGTGACACTCACTAA

SPy0621

Sec. ID 27

35 ATGAATGAAAAAGTATTTGCGTACCCTGTTCCAACTATATCCACATTGATAATCCATTAAATTTATGACCTTATCAATACCAAAGAA
 TTCCAACGCTTACGACGCATCAAACAAGTCCCTACAACAGCTTTCACCTTCCACGGCGCAGAACATAGCCGTTTTTCTCACTGC
 CTAGGTGTTTACGAAATGCCCCGTGGGTGACAGCTATTTTGAAGAGAAATACGCTGATATCTGGAATAAAGATGAAAGTCTG
 GTCACTATGACGGCTGCCCTTTACATGACATTTGGTCATGGAGCCTATTTCTCATACCTTTGAGGTTCTTTTTCATACGGATCACG
 AGGCCTTTACTCAGGAGATAATTACCAATCCTGAGACAGAAATCAATGCCATTTTGGTGCCTCATGCTCTGATTTTCCAGACAA
 AGTTGCCAGCGTGATTAATCATACTTATCCTAACAAAGCAAGTTGTGCAACTGATTTCCAGCCAGATTGACTGCGACCGTATGGAT
 TACCTTTTAAAGAGATTCATTTTTTCTGCTGCCAATTACGGTCAGTTTGAATTAATGCGCATCCTACGTGTGATTGACCTGTTGA
 40 AGATGGCATGTCTTTGAACATAGTGGTATGCATGCTGTCGAGGACTATATTGTCAGTCGTTTTCAAATGTACATGCAGGCTCAT
 TTTCAATCCCGCCAGCCGTGCTTTGAGCTCATCTTACAAAATCTCCTCAAAAAGAGCCCAACACTTATATCCTGAGCAACAGGCTT
 ATTTGCAAAAACAGCTCCTGGACTCATCCCTTCTTTGAAAAGAAGGCTAAATTTAGCAGATTATAGCCCTAGATGACGGAGT
 CATGAATACTTACTTCCAAGTCTGGATGGCAAGCGAAGACCATATCTTATCAGATTTGGCCAGTCGCTTTTAAATCGAAAAATT
 CTGAAGTCTGTTACCTTTGACCAAATCCCAAGGAGAGTTAGAACGCTTGCGCCAATTGGTGAATCAGTTGGCTTTGATCCA
 GATTATTACACCGGTATCCATATCAACTTCGACCTGCCTTATGATATTATCGACCAGAGCTCGAAAATCCAAGAACTCAGATTG
 45 AAATGATGCAAAAAGACGGGAGCCCTGCTGAATTAATCTCAGTTATCTCCTATTGTCAAAGCATTAAACAGGGACAACTACGGAG
 ACCGTCGCTTTATTTTCCAAGGAAATGTTAGAGCTCGATGACCTCTTGTCTAGCAAGGAACTTTTATGAGTTATATTTCC
 AATGGGCATTTTCACTTTAGTCAGTAA

SPy0630

Sec. ID 28

50 ATGGATATCAATTTGTACAGGCACTTTTAAATGGTCTTTGGACAGCCTTTTGTTCAGCGGAATGTTACTTGGCATCTACACCAA
 CCGTTGATTAATCTGTCTTTTGGTGTAGGGATTATCTTAGTGACTTGCCTTCAACTGCACTTAGCATGGGAGCTATCTCCGAATTA
 55 GCTTATATGGGATTTGGAGTGGTGCCCGTGGTACCCTTCTCCTAATCCTATCGGCCCTGGTATCTTTGGTACCTTGTATGGCT
 ATTACCAAGTGTGTAAGTCAACCCAGAAGCGGCACTAGCCTTATCAACACCAATCGCAGTTGCCATCCAATCTCTCAAACA

 TTCGCTATACAGCTTTTGTGGCGCTCCCGAAACCGCTAAAAACAATTGCAAAAAGGCAATATTAGAGGCTTCAAATTCGCTG
 60 CCAACGGCACTATCTGGGCTTTGCTTTTATCGGATTAGGCTTGGTTAATTAGGTGCCTTGTCAATGGATACTCTCCTTCACTT
 GGTGATTATATCCACCTGTCTTGTCAATGGATTGACTGTGCTGGTAAAATGTTACCTGCTATCGGATTTGCCATGATCTTA
 TCTGTTATGGCCAAGAAAGAAATTGATTCCTTTTGTACTAATTTGGTTATGTTTGTGACGCTACCTCCAAATCCAACCATTTGGTAT
 CGCCATTATTGGTATCATTTTGCCTTGAATGAATTTACAACAAACCTAAACAAGTCGATGCAACAACGTGCAAGGAGGCCAA
 CAAGATGACTGGATCTAA

ES 2 330 334 T3

SPy0681

Sec. ID 29

5 TTGACCCCTCGTAGCGGAAAGACCACAGCTGGGCATTTTCGTTATGCTAGGTATCTGATTGAGTCAGAAGATGAAAATCACCTT
 GTGACTGCTTATAATCAAGAACAGCTTATCGTTGTTTATCGACGGCGATGGTACGGGTTTGATGCATATATTTGACGGTAACT
 GTGAAATAAAACACGACGAGCGTGGAGATCACTTGTAAATCACGACACCAAAAGGCAATAAGCGCGTTTATTATAAAGGCGGCG
 GTAAAGTTAACAGTGTGGTGCATTACAGGTATGCTTTAGGATCAGTAGTATTCTGCCGAGATTAACCTACTGCACATGGATTTT
 ATCCAGGAGTGTGGTGGCTACTTGGGCGGCTAAGCTACGTTATCATCTAGCAGATTTAAATCCCCCAGCACCTCAACATCCA
 10 GTAATTAAGATGCTTTGATGTTCAAGAACACGAGGTGGACTCATTGGACCATGGATGATAACCCAATACTAACCAGCAGAGCGT
 AAACAAAACATTATCAACAGCTTAAAAAAAATCCATATCTATACAAACGAGATGTACTTGGACAGCGGGTCACTCCCTCAGGGAG
 TTATTTATGGCCTTTTGGACACGGAAAAAATGTTTTGGATGCTTTGATTGGCGAACCACTAGAGATGATTTCTGTGCAGATGG
 AGGTCAATCAGATGCCACCTCTATGCTTGAATATCGTACAAGAGTTAGAGATAACGGTAGGATAAGCTTCAGACTTAATCGT
 GTAGCTCACTACTACCACAGCGGAGCTGACACTGGCCAAAGTAAAAGCTATGTCACCTACGCTTTAGAGTTAAAAGTTTTATAG
 ACTGGTGCCTTAAAAAGTATCAGATGCGCTATACAGAGGTATTTGTGGATCCTGCTTAAATCTTTGAGAGAGGAGCTGCATA
 15 AGTTAGGAGTATTTACTCTGGGAGCTCCGAACAATTCTAAAGATGTATCTAGCAAAGCAAAGGTATTGAGGTGGTATCGAAC
 GCGGCCAAAACATTATCTCAGATGCGCTTTTATCTTGTAAATCATAGCGAAGAGAGATGACCACTACCACTTTTTAAAAGA
 GATAGGGCTGTACAGTCGTGACGACAATGGCAAACCTATTGATAAAGATAACCATGCCATGGACGAGTTTAGATACAGCGTCAA
 CGTGTTTGTGCATCGGTATTACAACCTAA

20 SPy0683

Sec. ID 30

25 ATGAAAAAGAGCCTATTAAGTTAATGACGAACAGCTTCTTTTGAAGCTAGTCAGTTATCTGATATGTATCATCAGCTGACTCT
 TGATTTATTTGATCAAGTGATTGAGAGGATAAAAAGCCAGAGGCTCAGCGAGCTTAGCCGATAATCCTTATCTTTGGCAAGCTAAT
 AAGTTACATGACGTTGGACTGCTTAATGCAGATAACATCAAGCTTATTGCAAAGTATTCTGGCATTGCCGAAGCTCAACTTCGCT
 ATATTATCAAGAAATGAAGGATTTAAAATTTATAAAAACACGCTGAGCAGCTAGAAGAGGCTTAGGTTAGAGAGTCTGGGGTAAA
 CAGTACTATCCAAGACGACCTATCTAACTATGCTAGACAAGCTATTGATGATGTGCATAATTTGACTAACACCACCTTGCCATTTA
 GTGTTATAGGAGCTTATCAAGGGATAATCCAAGACGCTGTTGCTGGTGTGGTGAACAGGCTTAAAAACGCTGACCAAGCTATCA
 30 ATCAAACCTGTGATTAATGGTTTAAAAAGGGTTTTATGGTTTTACAGATAAAGCTGGGAGAAAAGTGGAGAGCAGACTTTATGC
 TCGTACCGTTATCAATACTACGACTTGGCGAGTCTTTAACGAAGCCAAAGAAGCCCTGCTAGGGAGTTTGGCATTGATACCTT
 CTATTACTCAAAAAAGCTACAGCTAGAGAGATGTGTGCACCTTTGCAACATCAAATTTGCTACTACTGGCGAAGCGAGAGAAGA
 AGGAGGATAAAAACTTAGCTTTAGCTTTAGTACGGGCTATGGTGGAGCTGATGGATGCTTGGGAATCAACTGCAAGCACACTAA
 AACGCCGTTTGTGCTCGGTGTGAATAGTAAGCCAGAATTGCCAGAGCATCTAAAAAATATCACTCCTGCACAAGCTAAAGCTAA
 TCGCAATGCGCAAGCTAAGCAGAGGGCAATCGAGAGATCAATACGTAAGAGTAAAGAGCTACTGCAAGCTTGGCAAGCAATTGG
 35 GTGATAAAGAGTTGATTAGGCAATATCAATCGGATGTTAGAAGTAAACAAGATGCACTCAATTTATCTGATAAACAAACATGCCTTT
 TTACATCGCAATCAAGCCAGAGAAAAGCGTTACAATAATCCTTATACCAAACCTCAAAGTGAAGTGAAGTTAGAAAAGAAAAAG
 CTAATTAGATAAACGTAGGGATGTTGAAAGTGCTATAATAGGAGTAGAACTAGTGAAGGGATACCGCTAAAAATAACAAAGCA
 TTTAGCCGAAAGGGCGGTGCTGAGAAATATAGCACTATTGATATTGTCGATTCTATAAAAAGAACCGTTGAAGATAGCTCCTATT
 AAGTACGATAACCTTGATAGACCTTCCAGAAATACATTGGTAAGTGTCTCTGACAGTAATAAACCCGATAGACGGAAATATTG
 TTACAGTTCATGCTACTAGCAGAGAATCCGCAAAAAATATGGAGGAAATTGA

SPy0702

Sec. ID 31

45 ATGAGCAGAGACCCAACACTTATTTAGACGAGTCAAACCTCGTTATTGGTAAGGATGGACGTTGTCATTACACATTTACCACAG
 AGGACGACAACCCAAAAGTCAAGTACTAGCTAGCAAGTGTCTAGGCACAGCGCATTTAATCAGCTCATGATTGAGCGAGGAGAC
 CAAGCTACTAGCTATGTTGCGCCAGTAGTAGTTGAGGGTACAGGTAATCCGACTGGACTATTTAAAGACCTCAAAGAGATTAGC
 50 TTAGAGCTGACAGATACTGCTAATCCAGCTTTGGTCAAAAATCAAGCTGACTAACCGTGGTATGTTGCAGGAATACTACGAC
 GGTAAGATCAAGACCGAGATAGTCAACTCCGCCAGAGGTGTCGCTACACGTATCAGCGAGGATACTGATAAAAAGCTAGCGCT
 CATCAATGACACCAATTGATGGTATCAGGCGTGAATCGAGATGCTGATAGGAAAGCTATCCGCAAGCTATCAGGCAGGCACTCG
 AGGGGCTAAAAGCCACAATGGCCAATGATAAAATCGGTTTTACAAGCTGAGATTAAGGCCTCAGCACAAGGCTATCGCAAAAAGT
 ATGATGATGAGTTGCGCAAGCTATCGGCTAAGATCACAACAACCTCAAAGCGGCACTACAGAGGCTACGAGAGTAAGCTTGGC
 GGCTTACGTGCTGAGTTACTCGCTCAAATCAAGGCACGAGGACAGAGCTCGAGTCAAAAATAGCGGGCTAAGAGCGGTACA
 55 GCAGTCAACAGCTAAGCCAAATCTCAAGAGATTAGAGACCCTGAAGGTGCTGTCAAGTGTGTCAGCAGAGTTTGGAGATT
 ACOAAAAGGCGGATGCAGGACGCAAGAAAATATAGTAGCTTACCCATACGGTTAGAGGGCTACAGAGCGACGTTGGATCT
 CCGACTGGTAAAATCCAATCGCGCTTACTCAACTAGCAGGACAAAATGAGCAGCGGGTTACTAGAGATGGTGTGATGAGTATT
 ATTAGTGGCGCTGGAGACAGCATTAAATTAGCTATCCAAAAGCTGGCGGCATTAATGCCAAAATGCTGGTAATGAGATTATC
 TCAGCAATTAACCTCAACTCCTACGGAGTAAACAATCGCAGGTAACACATCGCTCTCGATGGGAATACGACGGTTAATGGCACC
 TTTACCACAAAATAGCCGAGGCTATCAAGATTAGGGCTGATCAGATTATTGCAGGCACGATTGACGCTGCTAGGATTAGAGTG
 ATTAACCTTAACGCAAGTAGTATCGTTGGTTTACAGCCTAATTTATCAAAGCTAAAATTTGGCTATGCTATCACTGATTGCTCGA
 60 GGGTAAGGTCAATTAAGGCTCGTAATGGAGCGGATGCTTATCGACTTAAATACAGCTAAGATGGACTTTAATAGCGATGCCACAAT
 TAATTTAATAGCAAAAACAATGCCTTAGTACGTAAAGATGGCACACATACTGCCTTTGTACATTTTGTAAATGCGACGCCAAA
 GGTATACAGGGTCAGCGTTGTATGCATCGATCGGATAACCTCATCTGGTGACGGTGTAACTCGGCTTCTTCCGGTCTGTTTT
 GCAGGGCTAAGGCTATTTAGGTACGCTACGGGATATAACACTCGCGCAGTACGACAGACTGAAATTTACGGTGATAAGTT
 TTAGTTGTGGATGATTTAATATTACTCGGGGATTTAAGTTAGACCAGACAAGATGCAAAAAATGCTTGACATGAACGACTTGT
 65 TGCGGCTGTAGTAGCCTTAGGCCGCTGTTGGGGCACCTTGGCTAACGTGGCTGGAATACTGCTCATAGCAATTTTACAAGTG
 CTGTGAATAGGGAATTGAATAACTACATCAAAAAATTTAA

ES 2 330 334 T3

SPy0710

Sec. ID 32

5 ATGACCTTTTTAGATAAAATTAACAAGGCTGTTTAGATGGCTGGGCTAAGTACAAAATCTTGCCATCCTTGACCGCAGCACAAG
CTATCTTAGAGAGCGGGTGGGGCAAACATGCCCCACACAACGCTCTGTTGGTATTAAAGCAGATAGCTCTTGGACTGGTAAAT

10 CATTGATACCAAAACCAAGAGGAATATCAAGCAGGTGTTGTCACGGATATTGTGGACCGATTTAGGGCGTATGATAGTTGGG
ATGAGTCGATAGCTGATCACGGACAATTTTTAGTTGATAATCCACGCTATGAGGCAGTTATTGGGGAGACTGACTATAAAAAGG
CTTGTTACGCTATTAAGCAGCTGGATACGCTACGGCAAGTAGCTATGTCGAACTTTAATCCAATGATTGAGGAAAACGACTT
ACAAAGTTGGGATAGAGAAGCTCTTAAAAATAATAAGGAGGAAACGATGACAACCGCAAACGAAATGTACAATACTGTGTTAAC
CTTGCTAATTCAGGCATGGGTGTTGACAAAGACGGTGCTCACGGGACGCAATGCTGTGACTTGCCTTGTGTTGTCGCTAAAAAT
15 TGGTTTGGTGTGATCTTTGGGGCAATGCGATTGATTTATTAGACAGCGCAAGTGGCGAAGGCTGGGAAAGTCCATCGTATGCCA
ACAGAGGCAAACCAAAAGCAGGCGCTACATTTGCCAATCAGTGCCGTATCATCAATTTGGACATACGGGAATTTATCGAG
GATAGTGACGGTTACACCATGCGCACTGTCGAGCAAAACATTGATGGCAATCCTGATGCTTTGTATGTCGGTGCACCAGCTCGT
TTAACACTCGTGACTTTACTGGCGTGATAGGTTGGTTTTACCCACCATATCAAGGGGATACAGTCACGCAACCAAGTCAGCACC
GAGCCGCAAACCTTCTGACACTATCGTAGAGACAGCAAAAACAGGCACCTTTACCCTTGATGTTGCAGAGATCAATATCAGACGC
TGGCCAAGTCTAGCCAGCGAGGTTGTAGGTATCTACAAGCAAGGTGATACTGTCAGCTTTGATAGCGAGGGCTACGCTAATGG
20 CTATTATTGGATTAGCTATGTTGGAGGCTCAGGTATGCGTAACTACCTAGGTATTGGACAGACTGATAAAGATGGGAATCGCAT
CAGCCTTTGGGGTAAATTAATTAG

SPy0711

Sec. ID 33

25 ATGAAAAAGATTAACATCATCAAAATAGTTTTATAAATTACAGTCATACTGATTTCTACTATTTACCTATCATCAAAAGTACTCT
AAGAAAGACATTTTCGAATGTTAAAAGTGATTTACTTTATGCATACACTATAACTCCTTATGATTATAAAAAATTGCAGGGTAAATTTT
TCAACGACACACACATTAAACATTGATACTCAAAAATATAGAGGGAAAGACTATTATATTAGTTCCGAAATGTCTTATGAGGCCTC
30 TCAAAAATTTAAACGAGATGATCATGTAGATGTTTTGGATTATTTTATATTTCTAATTTCTCACACCGGTGAGTACATCTATGGAG
GAATTACGCCTGCTCAAAATAATAAAGTAAATCATAAATTATTGGGAAATCTATTTATTTCCGGGAGAATCTCAACAGAACTTAAAT
AACAAAATTTCTAGAAAAAGATATCGTAACTTTCCAGGAAATTTGACTTTAAAATCAGAAAATACCTTATGGATAATTTAAAAT
TATGACGCTACTTCTCCTTATGTAAGCGGCAGAAATCGAAATTTGGCACAAAAGATGGGAAACATGAGCAAATAGACTATTTGACT
CACCAAATGAAGGGACTAGATCAGATATTTTTGCAAAAATAAAGATAATAGAATTATCAATATGAAGAACCTTAGTCATTTGAT
35 ATTTATCTTGAAAAATAA

SPy0720

Sec. ID 34

40 ATGATAACAACCTTTTGAACAATTTAGATAAAAATAAAGCTCACCAAATATTATTATCCATCGCCATCAAAATCCTGACCCGTAT
GCTCTTGGTAGTCAGGCCGGCTTGAAGAAATTTATGCACAAAATTTCCAGACAAAAAGGTTTTGATGACTGGTTTTGATGAGC
CTAGTTTAGCTTGGATTAGCCAAATGGATCAGGTGACTGACAAAGACTATAAAGAGGCTTTGGTCATCATTACAGATACAGCGAA
45 TCGACCAAGGATTGATGATGAGCGCTACACACTGGGGAAGTGCTTAATTAAGATTGATCACCATCCCAACGATGATGTGTATGG
TGACTTCTATTATGTGGACACAAGCGCTTCTAGCGCAAGTGAATCATTGCAGACTTTGCCTTTAGTCAGAATCTTACTCTCTCT
GACAAGGCTGCTAAGCTCTTATACACCGGTATCGTTGGTGATACAGGGCGATTTCTTTATGCCTCAACCACTAGTAAAACCCCTT
CCATTGCTAGCCAACTCAGACATTTGAGTTCGACTTTGCTGCGATTTCAAGGCAAATGGATTCGTTTCCCTTTGAAAATAGCAAA
GCTGCAAAGCTACGCTTTGAGCATTAAACAATTGATGAGAGTGGGGCTGCTTATGTCCTTGTGACGCAAGAAACCTTAAAACAT
50 TTTGACGTGACCCATGACAGAAAGCTCTGCCATTGTCTGTGCTCCTGGTAAAATGATAACGTTCAAGCTTGGGCTATTTTTGTTG
AGTTAACTGACGGCAACTACCGTGTGCGTATGCGCAGTAAAGAAAAGATTATTAATGGCATTGCTAAGCGTCACGGTGGAGGG
GGGCATCCCCTTGCTAGCGGAGCCAACTCAGCTAATTTAGAAGAAAATCAAGCTATTTCCGAGAACTCATCGCTGTTTGCCAA
GAGATTTAG

ES 2 330 334 T3

SPy0727

Sec. ID 35

5 ATGATTGAAGAAAATAAACATTTTGAIAAAAAAAAAATGCAAGAATACGATGCCAGTCAAATTCAGGTTCTAGAAGGGCTGGAGGCTG
TCCGCATGCGTCCAGGGATGTATATTGGCTCGACAGCTAAAGAGGGTTTGCATCATTTAGTCTGGGAAATTGTTGACAACCTCAA
TTGACGAAGCATTAGCAGGTTTTGCCTCTCATATTAAGTCTTTATTGAAGCAGATAATTCCATTACAGTAGTAGATGATGGCCG
TGGAATCCAGTTGATATCCAAGCCAAGACAGGACGTCCCGCCGTTGAAACAGTTTTTACAGTCTTACACGCAGGTGGTAAATT
TGGTGGAGGGCTATAAGGTTTCTGGAGGATTACATGGTGTAGGGTCACTGTGTTAATGCTTTATCAACACAATTAGATGTA
CGTGTTTATAAAAAACGGCCAAATTCATTACCAAGAATTTAAACGCGGGGCTGTTGTAGCAGATCTTGAGGTCATTGGAACCACT
10 GATGTGACTGGCACGACCGTACACTTTACACCCGATCCAGAAATTTTACCAGAAACGACTCAGTTTGATTACAGTGTTTTAGCAA
AACGTATTCAAGAGTTAGCCTTTTTGAATCGTGGTTTTAAAAATTTCCATTACAGATAAGCGCTCAGGTATGGAACAAGAAGAACA
TTTTCTTTATGAAGGTGGAATTTGTTTCTTATGTTGAATTTTTAAATGATAAAAAAGATGTTATCTTTGAAACGCCCATCTATACAGA
TGGTGAATTAGAAAGTATTGCAGTTGAAGTAGCCATGCAATACACGACTAGCTATCAAGAAACAGTCATGAGTTTTGCTAATAAT
ATTACTACTCATGAAGGTGGAACGCATGAACAAGGCTTTAGAGCGGGCTTTACTCGGGTCATCAATGACTACGTAAGAAAAAT
AAAATTTCTAAAGAAATGAGGACAATTTGACAGGAGAAGATGTTGTTGAAAGGTTTACGCGCGGTAATTTCTGTTAAGCATCCAA
15 ATCTCAATTTGAAGGTCAAACCAAAACAAAATTTGGGCAACTCAGAAAGTGGTAAAGATCACTAATCGTCTCTTTAGTGAGGCCCTT
TCAACGTTTTCTTTTGGAAAACCCACAAGTTGCTCGTAAGATTGTGGAAAAAGGGATTTTGGCTTCTAAAGCTAGAATTCAGCT
AAGCGAGCCCGCAAGTCACCCGCAAAAAATCAGGCTTAGAAATTTCAAACCTTACCTGGAATTTAGCAGACTGTTGTTCAAT
GACGCTAACCAAAACGAATTTTTCATCGTCGAAGGAGATTGAGCGGGTGGGTCGGCCAAATCAGGTCGTAACCGAGAGTTTCA
AGCTATCTTGCCATTTCGCGGTAATAATTTGAACGTGGAAAAAGCAACTATGGATAAGATTCTTGCCAACGAAGAAATAGAAGT
CTCTTTACCGCTATGGGTACAGGTTTTGGTGCAGATTTTACGCTGTCAAAGCTCGCTACCAAAAGCTGGTTATCATGACCGAT
20 GCCGATGTGGATGGCGCTCATATTAGAACCCTTACTTTAACCTTGATTTACCGCTTTATGAGACCTGTTCTAGAAGCTGGCTATG
TTTACATCGCCAGCCACCTATTTATGGTGTAAAGGTCGGTAGTGAGATTAAGAGTATATTCAGCCAGGTATTGATCAAGAAGA
CCAAATTAACAGCTTTGAAAAATATAGTATTGGTCGTTCAAACCAACTGTTCAACGTTATAAAGGCTTTGGGAAATGGAT
GACCATCAACTTTGGGAACTACTATGGATCCTGAAAATCGTTTGATGGCGGTGTGACAGTTGATGATGCCCGAGAAGCAGAT
AAAGTATTTGATATGTTAATGGGAGATCGTGTGAACCAAGACGTGATTTTCAATGAGGAAATGCGGTTTATAGTACACTGGATA
TTTAG

25

SPy0737

Sec. ID 36

30 ATGCGTAAGGTCAAAAAAGTCTTTGTTAGTTCATGTATGCTTTTAAACAGTGGGCCCTCGGAGTTGCCGTACCTACTGGATTACGCC
AATCTAATGGCGTGATGTTGTAAGGCTCGGGAAGTGCCGGCGACAGATTTATCACGTGAGGCTGATTGCGAGAGGGTA
GATGAATCGTCTTTATTGCAGAAAGAAAACCTTACAGTAGATTCAATTTAAATAGAAAATTTAAATGGATGGGAAGCTGAAATGA
TACAGCAGGTAATTTGGGAAATTTAAAGATCCAGATAGTTCGGGCTATCAAATATTTGACATCATCTGGAAGAATATCAGT
35 GTAGCTGTTGCTCCCAAAGGTTGAGTAAATGAACATTAAGTAACTAAAAGATCAAATTTTTCAGGGTGGATATTATGTAGGTG
GTCTTAGAACTCAAACCTCCGGTATTGAAGTTAAATGATGTTTATCGATATTTTCAAACCTAAAAATTTATCAGGAAATTTCTCAG

40

45

50

55

60

65

ES 2 330 334 T3

AGTTCAAAACGAGAGTTAAGCCCGTTGAATCTAATAATAAAGCTAGGGAAAGAGCTTGTTATTAGGGTGGATAATAAAAATGTATC
TACTAAGCATGATTGGCTCCAGACATCTCTGATGGAAGCTCATACTGTGACTTCACTGGTCTTGATAAAAAATTATCTGTTGCTT
TCAGATTTCTCCAAAGCAAACCTTCGAATGTTGTTACGAATTTCTAACATAAATAAAAAACATTAGTCTGCATCAGTGCCG
GCTATTCCTTCGAAAGTTTAGAGGGAAACCAGCGCTTGTGCGGGTACTGCAATATCTTCTGGAGATACATTAGAAAAAGAAAA
5 CGTTTGATGGCGATATCCTAAGAGTTTATAAAGATAGCAAATCATTGCTAGAACAGTAATAAAAGGCAATAAAGTGGGATGTTAA
ACTTTCAAAGCCTCTTATTGCAGGTGAAAAATTAGATTTTGGATTTTGCATCCGAGATCTCAAACGTTAGTAAAAAAATTTCAA
AACAAAGTGAAGCTAAACCTTTGATCCAGCTTCTATAAAGAAAAAGTTATAGCCAAATTAAGCCCGGTTTATGAAGCTACTAG
AAAGTAGCGATATCAGAGGCTGGAAGCTAAACAAGAGCTATAGATGCAGCATATAATAAATATTCAAGTCAAACAGATCCAGACT
CTCTTCTAGTCAAGTATAAACAAGGTAATAAAGAAAAATGAACAAGAAAAAGGGCGTCAAGATTTAATCCAGACTCGTGATCTGAC
10 GTTGAAGCCATTCAAGAAAGCAAAATGGCTAACAGAGCAGGAGAAAAAATCAAAAAGAAAGCAATTAAGGCTTTTGAAGCT
GGTATAGAAAAGTGAATCAACAGTATCATTAGAACAGTTGAAGCAACGGTTAATAGTGTATAAAGCTTCTGAAAAAGATTGAG
AGAAAAAGAATATCCTGAGTCAATTCCTAATCAGCATATTCCAGGGAAAGAAAAAGAAAGTAAAGCTGCTAAACAAGAAAGAACT
TAAAAAATTACATGACACAACCTTTGAAAAATCAATCAAGATAAATGGTTGACGCCAGACCAACAGCTGAACAGTTAAAAACAA
CGGGAAGTTACTTTAAAAAGGCCAAGAAAGCAATTAAGGCTGTCAGACTTTAACTCAGCTTGAGACAAAAAGCTGATTATG
15 TTTCTGAGAATGAAGGTAAGGAAATCTATCCCGATAAATAAATACTGGCAATAAAGATGATTTGGTAAATAAGGCTGAAAGT
TAACTTAAGGAAGCTCACGAAGCTACTAAACAAGCAATTAAGGCTTAAAAAGATCCATGGTTGAGTCCGGAACAGAAAAAGCTCAAAA
AGAAAAAGCCAAAGCAAGACTAGATGAGGGCTTGAAGCTTAAAGCTGCAGATAGTTTAGAGATTCTTAAAGTGAACAGAA
AGCTTTGCTTGATAAAGAAAAAAATCCAGATTCATTAAGCTCAAAATCAACATAAAGCTGGAAGCTGATCAAGTGAAAAAAGCT
TTAGATAGTTTAGATAAAGGAGGTTCAAAAAGAGTTAGAGTCAATGATAACGATAAATCTTAAACAAGCTGATGAGAAAGCAAGCTG
CTAAGAAAAAGTCAATGACGCTTATGATGAGCTAAGCAAAAGCTATGGAAGCCAAATCTTATGAAGATTGACTACTATTA
20 GATGAGTTCTTATCTAATTTACCTATAAACAAGGAAGCCGCTTAAAGATCAACAATCTGATGCTATTGCAGAAATAGAGAAGA
AGCAGCAAGAAATGAAAAAGCTATTGAGGGTGATAAAACATTACCAAGAGACGAAAAAGAGAAACAATTTGCTGACTCTAAGG
AACGTTTAAATCTGACACGCAAAAAGTTAAAGATGCTAAAAATGCTGATGCTATTAAAAAGCAATTTGAAGAAGGAAAGTGA
TATTCCTCAAGCACATCCAGGTGATTTGAACAAGTAAAGAAAACTTCTTGCAGAAATGAAGCAAAAAGCTGATGATAAG
GAAAAAGCTATTGATGTTGATAAACTCTGACAGAAGATGAGAAAAAGAGCAAAAAGTCAAAAACAAAGCTGAAGTTGAAAAAG
CTAAAAGCTGATGTTAAAAATACTCAGACAGCTGAAGAACTAGATAAAAAAGTTCCAGAACTTAAGAAAGCTATTGAAGCACTCA
25 CGTTAAAGGTAATCTTGAAGGTGTTAAGAATAAGGCTATTGAAGCTTAAAAAGCTCATACTGAAACAGTTGCTAAAAATAATG
GTGATGATACCTTTGAAAAAGCTACTAAAGAGCTCAAAAGAGCTGAAAGAAAGCTGACAAAGCTTTGGCAGCAGGTAAGATCCGATCA
CTAAAGCAGATGATGCTGATAAAGTAAGTACAGCTGTTACAGAGCACACACCAAAAATTAAGCAGCACATAAAAGCTGGTGACC
TTAAAAAGCTCAAGTAGATGCTAACACAGCTTGTGACAAAGCAGCTGAAAAAGAAAGCTGGAGAAATCAATAAAGATGCTACACT
AACGACAGAGATAAAGCAAAAACACTGAAAGAAAGTTGAGACAGCTCTTAAAGCTAAAGATAACGTGAAAGTGAAGGAC
AGCAGACGCTATCAATGACGCACGTGATAAAGGCGTAGCAACAATTGATGCCGTCCATAAAGCAGGTCAAGACTTAGGTGCTC
30 TAAAGTCAAGTCAAGTCCGCTAAACTGAAAGAGCAGCTAAAGCAAGCAAGAAAGCAAGATTTGAGCTGCAACTTTGACAAGCA
AAGAAAAAGAAAGCAATCTAAAGCTGTTGACGCTGAACTTAAAGAAAGCAAGGATAGAAGCTGTTAACGCAGCTGACACAGTGA
AGGTTGACGATGCTCTTGGTGAAGGTGTTACAGACATCAAGAACCAACCAAGTCAAGGTGACTCTATCGACGCTCGTCTGAG
GCTCATGGTAAAGAACTTGATAGAGTCCGCTCAAGAACTAAAGGTGCGATTGAAAAAGACCCTACTTTGACGACTGAAGAAAA
GCTAAACAAGTTAAAGACGTAGATGCCGCTAAAGAAAGGCGATGGCTAAGCTTAATGAAGCTAAAGATGCTGATGCTTTAGAC
AAAGCTTACGGTGAAGGTGTTACAGACATCAAGAACCAACCAAGTCAAGTCAAGTCAAGCTGACCCCTGTCGACGCTCGTGGATTACACAA
35 CAAGTCAATCGACGAAGTGGCGCAAGCAACTAAGGACGCTATCACAGCAGATACGACTTTGACTGAAGCTGAAAAAGAAACAC
AACGTGGCAATGTTGATAAAGAAAGCAACTAAAGCTAAAGAAAGCACTTGTAAAGGCTAAAGATGCTGATGCTTTAGACAAAGCGT
ACGGTGACGGTGTAAACAGCATCAAGAACCAACCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGT
CTTGAAGCTGTTGCTAAACGCTGCTACTGCTGAAATGAGGCTGATCCAACCTTAACACCAGAAGTGAAGAAACAACAAAAAGCA
GAGGTTCAAAAAGAGCTTGAAGTGGCAGCTGATAAGATTGCTGAAGCTAAAGATGCAAGTGAAGCAGACAAAGCTTACGGTGAC
GGTGTACAGCGATCGAAAATGCCACGTTATTGGTAAAGGTTATCGAAGCTCGTAAAGACCTTGTAAAGAAAGCTTGTGAA
40 GCTGCTGCTAAAGCAAAAGCTCTCATTATTGAAGACAAAAGCTTACTGATGATCAACGTAAAGAAACAGTTATTAGGTTGTTGATA
CAGAGTATGCTAAAGGTATCGAGAATATTGATGCAGCTAAGGATGCTGCAGGTGTTGATAAAGCATATAGTGAAGGTTGCTG
ACATCCTGGCACAGTCAAAAGAAAGTCAAAACCTTAATGATCGTCTGTAATGCTGCCAAAGAAATTTCTTCTTAAAGAAAGCAGACAA
AGTGACGAAACTAATCAATGATGATCCAACCTTGACTCATGACCAAAAAGTTGATCAAAATCAACAAGCTTGAACAAGCTAAGTTA
GACGCAATCAAGTCTGTTGATGATGCTCAAACAGCTGATGCTATCAATGATGCTCTTGGTAAAGGTATTGAAAACATCAACAACC
AATACCAACATGGCGATGGCGTTGATGTTGTTAAAGCGACTGCCAAAGCGATCTTAAAAAGAAAGCTGCTAAAGTGAAGGCTC
TTATTGCTAAGGATCCGACCTTAACTCAAGCTGATAAAGCAAAACAAGCAGCGGTTGACGCAAGTAAAGTAAAGCAAGCTT
45 CAGCGGTTGATAAAGCGACAACAACCTGAAGGCATTAACCAAGAACTTGGTAAAGGCATCACAGCTATCAATAAAGCTTACCGT
CAGGTGAAGGTGTTAAAGCACGTAAGAAAGCCGCTAAAGCTGATCTTAAAAAGAAAGCTGCTAAAGTGAAGGCTTATTACTA
ACGACCCAACTTAAACAAAGCTGATAAAGCTAAACAACAAGAAAGCTGTTGCTAAAGCCCTTAAAGCTGCTATCGCAGCGGTTG
ATAAAGCGACAACAGCTGAAGGCATTAACCAAGAACTTGGTAAAGGCATCACAGCTATCAATAAAGCTTACCGTCCAGGTGAAG
GTGTTAAAGCACGTAAGAAAGCCGCTAAGGCTGATCTTGAAGGAGAAGCTGCTAAGGTTGTTGAAGCTATCGCTAACGACCCAA
CCTTAAACAAAGCTGATAAAGCTAAACAACAAGCAAGCTGTTGCTAAAGCTCTTAAAGCTGCTATCGCAGCGGTTGATAAAGCGA
50 CAACAGCTGAAGGCTAAGCAAGAACTTGGTAAAGGCATCACAGCTATCAACAAGCTTACCGTCCAGGTGAAGGTGTTGAAG
CACATAAAGAAAGCTGCTAAAGCTAATCTTGAAGAAAGTGAAGCTAAAGAAACTAAAGCTCTTATTTCAGGAGACCGTTACTTGAAGCA
AACTGAAAAAGCAGTCCAAAAACAAGCTGTTGAGCAAGCTCTTGCAGAAAGCACTTGGTCAAGTTGAGGCTGCTAAGACAGTTGA
AGCTGTTAAGTTGGCAGAAAACCTTGGTACTGTAGCTATCCGTTCAAGCATATGTTGCTGGTTTAGCTAAGATACTGATCAAGCA
ACAGCTGCTCTTAAAGCAAGCGAAACAAGCTGCTATTGAAGCTCTTAAACAAGCTGCGGCAGAAAACCTTGTAAAGTTACAACCT
60 GATGCTAAATGACTGAAGCTCAAAAAGCTGAACAATCAGAAAAATGATCATTAGCGCTTAAAGACGGCTATTGCGACTGTTGCTT
CAGCACAATCTATTGCTGCTGTAAGAAAGCAAAAGATAAAGGTATTACTGCTATCCGTGCAGCCTATGTGCTAATAAAGGCAG
TCGCAAAATCATCGTCAGCGAACCATCTTCCAAAATCAGGTGATGCAAACTCAATTGTTCTTGGCTTAGGAGTTATGCTCTCT
TCTTTAGGATGTTGCTTTATAGCAAGAAAAAGAAAGTAAAGACTAA

ES 2 330 334 T3

SPy0747

Sec. ID 37

5 ATGATTAACAAGAAATGTATAATACCTGTTTCATTGTTGACACTAGCTATTACGCTTACTAGTGTTGAAGAAGTTACTTCACGCCA
AAATTTGACTTATGCCAATGAAATCGTAACACAAAAGGCCAAAAGAGAGAATCTGTTATTAGTGATAAATCGAATTTTCCCCTCATAT
CACCTTACCTAGCAAGTGTGGATTTTGGTGAGAGAAAAACACCTTTGCCAACACCTGATAAAGGAGTAAAAGTAACTACTGAACA
GTCTATTGCTCAAGTAAGAAAGGGGCCTGAAGAAAGACCCTATACTGTTACTGGCAAGATTACGAGTGTGATCAATGGCTGGGG
AGGCTATGGCTTTTATATTCAAGATAGTGAAGGTATTGGACTTTATGTTTATCCTCAAAAAGATTTAGGATACAGTAAGGGAGATA
TTGTTCAATTAACAGGTACACTTACTCGCTTAAAGGTGATTTACAACCTCAACAGGTGACTGCACACAAAAGTTAGAGTTATCT

10 TTTCCGACTTCTGTTAAAGAAGCAGTAATATCAGAATTAGAAACAACAACACCCTCAACATTAGTTAAGTTATCTCACGTGACAGT
TGGAGAATTATCAACTGATCAATATAACAACACATCTTTCCCTTGAAGGGATGATAGTGGTAAAAGTATAGTTGTTTCATATAGATC
ATCGTACAGGGGTTAAAGGGGCTGATGTTGTTACTAAAATAGTCAGGGTGATTTGATTAACCTCACAGCCATATTGTCTATTGT
TGATGGTCAATTAACAATTAAGACCGTTTTCTCTTGAACAATTGGAAGTGGTTAAAAAGGTCAAAAGCTCAAATAGTGATGCTTCAT
CTCGTAATATTGTGAAAATAGGCGAGATTCAAGGAGCTAGTCATACGTCGCCACTTCTCAAAAAGCGGTCACCGTAGAACAGG
TTGTTGTCACCTATTAGACGATTCCACTCATTTTTATGTTCAAGATCTTAATGGTGATGGTGATTTAGCGACTTCAGATGGTATT

15 CGTGTTTTGCTAAAAACGCTAAGGTTCAAGTCGGCGATGTTTTGACCATTTCAGGTGAAGTGGAAAGAAATCTTTGGTCTGGTT
ATGAGGAACGTAAGCAGACTGACCTTACCATCACCCAAATTGTGGCTAAAGCAGTGACCAAACAGGGACAGCTCAAGTTCCAT
CACCGCTTGTGTTAGGGAAAAGATCGTATCGCGCCAGCCAATATTATTGATAATGATGGCTTGCCTGTGTTTATCCAGAAAG
ACGCTATTGATTATTGGGAATCAATGGAAGGCATGTTAGTGGCGGTTGATGATGCTAAAATCCTTGGTCCAATGAAAAATAAGA
AATTTATGCTTACCTGGCTCTAGTACAAGACCGTTAAATAATTCAGGTGGAGTATTACTTCCAGCTAATCTTATAACACAGATG
TGATTCCTGTTCTTTCAAAAAGGCCAAACAAATTTAAAGCAGGAGACTCTTACAAAGGAAGATTAGCTGGGCCAGTATCTTA

20 TAGCTATGGTAATTAACAAGGCTTTGTTGATGACAGCAAAAACATGCCAAGTTAATGGATGGTCATCTAAAACCTGAAAAACA
AACTTGCAAAAAGACCTTAGCAAGTTAAGCATTGCTTCTTACAATATTGAAAACCTTCTCAGCCAATCCTTCTCAACTAAAGATGA
GAAGGTCAAACGGATTGCCGAATCCTTTATTCATGATCTGAATGCTCCAGACATTATTGGATTAATTGAAGTCCAAGATAATAAT
GGGCCGACTGATGATGGGACAACGGATCGCACACAAAGCGCGCAACGCCTCATTGATGCTATTAAAAACTAGGTGGCCCAAC
TTATCGTTATGTTGATATTGCTCCAGAAAATAATGTTGACGGAGGTCAACCAGGTGGTAAATTTGAAACAGGATTCTTTATCAA
CCAGAGCGCGTCAGCCTTTCTGATAAGCCAAAAGGCGGTGCTCGTGATGCTCTAACTGGGTTAATGGAGAATTAACCTTAGT

25 GTTGGTCAATGATCCAACCTAACGCCGCTTGGAAAGATGTTGTAATCACTAGCAGCAGAAATTTATCTTCCAAGGTGTAAG
TCGTTGTTGTTGCAATCATTTGAACCTAAGCGTGGGATAATGCTCTTTATGGTTGTGTGCAACCAGTCACCTTTAAATCTGA
GCAAAGACGTACGCTTTGGCTAATATGCTAGCACAAATTTGCGAAAAGAAAGGGGCAAAAACACCAAGCTAATATTGTGATGCTAGG
TGACTTTAATGATTTTGAATTCACAAAGACGATTCAATTAATCGAAGAAGGTGACATGGTTAACTTGGTGAGCCGACATGATATT
CAGATCGGTATTCTTATTTTACCACAAAGGCAATAATCAGACCCTTGATAATATATTAGTTTACGCCATTACTTGATCACTACGAA
TTTGACATGGTTCATGTGAATCCCATTTATGGAAGCTCACGGACGCGCATCAGATCATGATCCATTGTTACTTCAATTAATCATT

30 TTCCAAGAAAATGATAAGGCAGAGTCTTAAACAAGGTGTAAGGCTAAAAAAGCTTCAAAAAGGAAAAGTGTGCCAAAAACA
GGAGATAGTCTTGTATGTGATAACGCTACTAGGAACGGCTAGTTTATTAGTGCTATTTTATTGACTAAAGGGCAAAAAGG
AATCATAG

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0777

Sec. ID 38

5 GTGATTTCTTTTGCCCATTTTTAAGCCCCGAAGCTATTAACATTTGCAAGAAAACGAAAGGTGCAGAGATCAGTCTCAAAAAC
 GCACAGCTCAACAAATTGAAGCAATTTATACTAGTGGCCAAAATATACTTGTATCAGCTTCTGCTGGTTCAGGAAAAACCTTTGT
 AATGGTGAACGCATACCTTGATAAAATTTGAGAGGTGTTCAATTGATCGGCTTTTATCTCAACCTTTACTGTTAAAGCAGCTA
 CAGAAGTTCGCTGAGCGGATTGAAAACAAATTTATACTCACAATTTGCTCAAACTACAGATTTTCAAATGAAAGTTTATTTAACAGAA
 CAATTGCAATCTCTTTGTCAAGCTGATATTGGTACTATGGATGCTTTTGCACAGAAAAGTAGTAAGTCGCTATGGTTATAGCATTG
 GCATTTTCATCCCAATTTCTGATCATGCAGGATAAAGCAGAAACAAGATGTTTTAAAGCAAGAGGTGTTTAGCAAACTCTTTAATGA
 10 GTTTATGAATCAAAAAGAGGCACCGGTGTTTAGGGCTCTTGTGAAAAATTTTCTGGTAACTGTAAAGACACTTCAGCTTTTAGA
 GAGTTAGTTTATACTTGTATTCTTTTAGCCAATCGACAGAAAACCCAAAAATATGGTTGCAAGAAAATTTTCTAAGCGCTGCTAA
 AACCTTACCAAAGACTTGAAGATATCCCGGATCATGATATTGAACTCTTACTTTTGGCAATGCAAGACACTGCAAAATCAGCTAAGA
 GATGTGACTGATATGGAAGATTATGGGCAGCTGACTAAGGCAGGTAGCCGATCTGCTAAATACACTAAACACTTAACGATCATA
 GAAAAGTTGCTGATTGGGTGCGTGATTTTAAATGTTTGTATGAAAAAGCCGGATTGGATCGGTTGATCAGAGATGTGACAGGC
 CTTATACCATCTGGGAATGATGTTACAGTCTCGAAGGTAAAATACCTGTTTTAAGACCTTGCATCAAAAATTAACAATTTAG
 15 GCATTTAGAAAACATTTAATGTATCAGAAAAGACTGTTTTCTTATTGGAACAGTTACAAGATTTTGTCTTTCGCTTTTCAGAAG
 CTTATTTAGCTGTCAAAATACAAGAAAAGTCTTTTGAATTTTTCAGATATTGCACACTTTGCAATCAAAAATTTAGAGGAAAATACG
 GATATTGCCTAATCCTATCAGCAACACTATCATGAGGTGATGGTTGATGAATATCAAGATAACAATCATATGCAAGAGCGACTCC
 TGACCTTACTATCGAACGGTCATAATCGCTTTATGGTAGGAGATATCAAACATCGATCTATCGATTTCCGGCAAGCCGATCCCA
 GATTTTTAATCAAAAGTTTAGAGACTATCAAAAAAACCTGAGCAGGGGAAAAGTGATTTTACTCAAAAGAAAATTTCTGAGCCAA
 CAGAGGTGTTAAATGTGAGCAATGCTGTTTTAGTCACTTAATGGACGAATCAGTAGGAGACGCTTTATACGATGAGCAACATCA
 20 GTTAATAGCAGGTAGTCATGCTCAAACAGTCCCCTATCTAGACCCTGCTGCTCAGTTATTGCTATATAATAGCGATAAAGATGAT
 GGCAACGCCCTTCAGATAGTGAAGGTATTTCAATTTAGTGAAGTTACAATTGTTGCCAAAGAAAATTTAAGCTTCACAAATGATA
 AGGGTGCCTTTTGAAGACATTACGTTACTCGTTTCTCAAGAACAAGAAAATGATATCATTCTCATACATTCAATCAATATGGT
 ATTCCTATAGCAACAGATGGTGGGCAGCAAACTATCTTAAATCTGTTGAAGTGATGGTTATGTTAGATACATTACGCACCATTA
 ATAACCAAGAAAATGATTTAGCCCTTTGTGGCTTTACTCGCTCACCAGATGTTTGCCTTTGATGAGGATGATTTAGCAAGAATAGC
 ACTTCAAAAAGACAATGAGCTAGATAAAGATTGCCTATATGACAAGATACAAGGGCTGTGATTGGAAGAGGTGCTCATCCTGA
 25 ATTGATTCACGATACCTTCTTGGCAAGTTAAATGTTTTTAAAGACGTTGAAAAGCTGGCGTCGATACGCTAAGCTAGGGTCTG
 TTGTATGACTTGATTTGGAAAATTTTTAATGATCGTTTTTATTTTTGATTTGTAGCTAGTCAAGCAAAAAGCAGAACAAGCACAAGC
 TAATCTATACGCATTAGCTCTACGTGCTAATCAGTTTGAAAAATCGGGCTATAAAGGGCTATACCGTTTTTAAATGATTGATA
 AGGTACTTTGAGACGCAAAAATGACTTAGCTGATGTGGAAGTGGCTACTCCTAAACAAGCTGTTAATTTAATGACCATTCACAAGTC
 TAAAGGTTTACAATTTCCGTATGATTTATCCTTAATTGTGACAAGCGCTTCTCAATGACAGATATTCATAAATCATTATTCTGAA
 TCGGCAGCACGGTATCGGTATCAAGTACCTTGCAGATATCAAGGTTTTACTTGGTGAACAACACTCAATTTCTGTTAAAGTAAAGC
 30 ATGGAACCTTACCTTATCAATTGAACAACAAGAGTTGCGCTTAGCAACTTTATCAGAAGAAAATGCGCTTACTGTATGTTGCTAT
 GACACGAGCTGAAAAAAAAGTTAATTTATTGGTAAAGCTAGTAAAGAGCAAAAAGTCAAGAAATCACAGATCCTAAAAAGTTAGGC
 AAACTTTTGCCGCTGGCTTTACGAGAACAGTTATTGACATTCGAAGATTGGCTATTAGCAATAGCAGATATATTTTCAACTGAAGA
 TCTTTATTTTGTGTTGCTTTATTGAAGATAGTGAATTTGACACAAGAGTCAGTCGGACGACTTCAAACACCACAGTTATTAATC
 CAGATGATCCTTAAAGATAATCGTCAATCAGAAAACAATTTGCACGGGCTTTAGATATGTTAGAAGCAGTGTCTCAATTTGAATGCCAA
 TTATGAAGCAGCTATTCAATTTGCCAACAGTTGCAACGCCTAGCCAATTAAGGCAACTTACGAGCCTTTATTAGAACCCTTTGGT
 35 GTAGATATTATAGAGAAAATCTTCTCGATCGCTATCTGATTTACTTTGCCACATTTTTCAAAAAAGCAAAAAGTTGAAGCAAGTCA
 TATTGGATCAGCTCTTCACTCAGTTGATGCAGGTGCTCCCTTTGTCAAACCAGTAAATCAACAACCGCTTTTAGACGCTTTAAGA
 GGAATTTGATAGTAAAGAGGTTAAAAACAGCTCTTGTATCTCAAAAAATAGAGTGTGTTCTTTTGTGATACAAGCCTAGGCCAAT
 TTTTTCAGACTTACCAAAAACACTTGTATCGAGAAGCGCCATTTGCTATTTTAAACCTTGAACCTATCAGTCAAGAAGAGTATGTC
 CTACGTGGTATTATAGATGCCTACTTTTTGTTTGTATGATCATATTGATTAGTGGACTATAAAAACAGATAAATACAAGCAGCCCAT
 TGAGTTAAAAAAGCGTTACCAACAACAGTTGGAGTTATATGCAGAAGCTCTCACTCAAACGTATAAACTTCTGTGACTAAGCGC
 40 TATCTGTTTTAATGGGAGGTGAAAAGCCAGAAAATGTCGAAATTTAA

SPy0789

Sec. ID 39

45 ATGGTAAAACGGATTTTAAATTACGCTATCAAGGGAGCGCAATTTGGCTATCTATGGTCTATCTTAAAACCGCTTATGATGTTTAC
 GATTATGTACTTGGTATTTAATCGTTTTCTCGCCTGGGTGGAATGTACCTCAATTTCCAGTAGCGCTTTTATGGCAAATGTCA
 TCTGGTCTTTTTTTTCAAGCAACTAGCATGGGAATGGTATCTATTGTATCTCGGGGAGACTTGTTCGAAAATTTGAACCTTTCT
 50 AAGCACATCAATTTTTTTCGGCAGTGTAGGAGCTTTAATTAATTTCTTATTAATTTGGTTGTTGTTTAAATTTTTGCGTTGATAA
 ATGGTGTGACTATACAGGTATGCTTATCTCTCTTTTTCTTTTTATAGAATAGTTGTTTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT
 TGTGCAATGCTTTGTTTATTATCGTGACTTAACTAGCTCAAGTCTGGGAAGTACTATTACAAGCAGGTATGATGCCACTCCAATCATT
 TATCCGATCACTTTGTTTTAGATAGCCACCCTTTGGCGGCAAAAGTTGTTGATGCTAAATCCAGTAGCACAAATGATTCAAGATTT
 TCGTTATTTATTGATTGACAGGGCCAACGTAACGATTTGGCAGATGTCAACCAATTTGGTTTTACATTGTTATTCATATTTAGTAC
 55 CATTTGTTATATTATTATTGGCATCTTTGCTTTAAGAAAAATGCCGATAGATTTGCCGAGATTATTTAA

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0839

Sec. ID 40

5 ATGACATTTTTATCTGATTTGATATCATTAAATGACAAAAATCAGATTATCTGGGTATAAAGGCGGGTATTTTTCAATTATTATTT
 GTAACGATTGCTAATATTGTCTTATCAGAAATTTTCTATTTTATATTAGACGTTACTGGTCAATATCATTTAGATAAAGACAATGTT
 GTGACTTTTTAAAAAATCCTATAGCACTTGCTTTATTAGGTGCCTATTTATTTTTATTAGCTGCTTTTATTCACCTTGAGTTTTTTG
 CTCTATATCGAATTATTGCGGATCAAGAAATTAGTTTTCTATCTTTTTAGAAAAACAGTTTTCTTATTACCTAAGGGGGCTTTGGAAA
 ACATTTTCTGGTTACCAATTATTACTTTTTTGTCTTATATCCTATTGACTATTCCAGTCTTACATATTGTTTTATCTTCTGTGATTA
 CTCAAAAGCTTTATCTTCCAGAAATTTATTGTTGGGGAATTTCAAAGATAACTAGCACAAAGTACTTGCTTTATGGCAGTCTTATT
 10 GAGTTGGCAAAAGACTAAAAAGAAACATGTATTGTTATGGATGAACTTTTTGCAATCAATGGTCTTACGATTGTAGTCTTATCGC
 TAGCTATTTCCATGATTTCTATTTTTGTTGATATGTTAATCCTAAGGGGAATAATATTATTGTTACGCTGGGAGCTTTGACCTTTA
 CATGGGAACCTATTTTTTACTACTATTTTTTAACTCTGTTGAGCAATGATTTTAAAAAGAGGCAATTTGAACCACAAAAAGCAAT
 ATGATGAGCCAAGAAAGTAATAAGGCATATGTTGTAATCTTTATCGTGGTTACAGTAGGTTTTGCTTATCAATCTCTTGAACGT
 TTAACTTTTTTGACACATCTCACTCTAAGACAGTTATCGCGCATAGAGGACTTGTATCAGCAGGTGTAGAAAAATCTCTGGAAG
 CCCTTGAAGGTGCTAAGAAAAGCAGGAAGTATTATGTGAAGTGGATCTAATCTTGACTAAGGATAATCACCTTTGGGTGTCTCA
 15 TGATAATCGATTGAAGCGTTTAGCTGGAGTAAATAAGCAGACTCGCAACTTAACTTAAAGAAAGTTGAACATCTAAGCAGTCAAT
 CAAGGACATTTTTTCAAGGGCGTTTTGTTTTCTTTGACACTTTTTATCAAAAGGCTAAGAAAGTTGAATATGCCATTACTTATTGA
 CAAGCCAATTGGTACAGAACTGGAAATATGTGCGATTTGTTTTAGAACTTATCATCGACTTGGTATAAGCAAGATAATAAAG
 TCATGCTTTAGATTTAGAAGTAATAGAAGCTATCAAGAAAAAATCCATCAATACGACTGGTATACATACCAATTTCAATTTG
 20 GATTTTTGGAGATGAATTTGTTGATTTCTATGTCAATGAAAGCTTTCTTATCGGTCTTATTTGCTGCCCAAGCTTTTTGGAA
 ATAAAGAAATTTACGTTTGGACTATTAATGATCCCAAGCGCATAGAGCATTATCTCCTAAAGCCTATTGAGGGAATTTACAGAC
 CAACCAGCTTTAACTAATCAATTTGATTAAGACITAAAACAAGATAATTTCTATTTTAGTCGATTAGTCAGAATTATTAGTAGTCTT
 TATTAA

25 SPy0843

Sec. ID 41

30 ATGAAGAAACATCTTAAAAACAGTTGCCTTGACCCCTCACTACAGTATCGGTAGTCACCCACAATCAGGAAGTTTTAGTTAGTCA
 AAGAGCCAATCTTAAACAACTCAAGCTTCTCATCGATTTCTGGCGTGACTACGCAGAAAGTAGCGGTAAGCAAGTTAAA
 GATTAATGAAACTCTGGCCCTGTTGATGATACAGTCACTGACTTATTTTCGGATAAACGTACTACTCCTGAAAAATAAAAGATA
 ATCTTGCTAAAGGTCGAGAGAACAAGAGTTAAAGGCAGTAACAGAGAATACAGAATCAGAAAAAGCAGATCACTTCTGGATCTC
 AACTAGAACAAATCAAAAGAGTCTCTTTCTTAAATAAAACAGTGCCATCAACGTCTAATTGGGAGATTTGTGATTTTATTACTAAG
 35 GGGAAATACCCCTTGTGGTCTTTCAAAATCAGGTGTTGAAAAGTTATCTCAAACTGATCATCTCGTATTGCCTAGTCAAGCAGCAG
 ATGGAACCTCAATTGATACAAGTAGCTAGTTTTGCTTTTACTCCAGATAAAAAGACGGCAATTGCAGAATATACCAGTAGGGCTGG
 AGAAAATGGGGAATAAGCCAACTAGATGTGGATGGAAAAGAAATTTAACGAAAGGTGAGGTTTTTAACTTATCTACTAAAG
 AAGTTAAACATCCCACTGGTTATAACATATTTGGTCAAGTCTTTTGTGGACAATAAGAATATTGCTGAGGTTAATCTTCTTGA
 AAGCCTCGAGACTATTTCTGACTATGCTTTTCTCACCTAGCTTTGAAAACAGATCGATTTGCCAGATAATTTAAAGCGAATTTGA
 GAATTAGCTTTTTTATAAATCAAAATCAGGTAACCTTTCTTTGCCACGTCAAGTAAATGCGATTAGCAGAACGTTGCTTTAAATC
 40 AAACCATATCAAAACAATTGAGTTTAGAGGAAATAGTCTAAAAGTATAGGGGAAAGCTAGTTTTCAAGATAATGATCTGAGTCAA
 CTAACTGCTAACCCTGACGGTCTTGA AAAAATAGAATCAGAAGCTTTTACAGGAAATCCAGGAGATGATCACTAACTAACCGTGTG
 TTTTGTGGACAAAATCTGAAAAAATCTTCTGGTCTTGTACTGAAAAACCTATGTTAATCCTGATAAGTCACTATGGCAGGAA
 AGTCTGAGATTGATTATACTAAATGGTTAGAGGAAGTTTTACCTATCAAAAAAATAGTGTACAGGTTTTTCAAATAAAGGCTT
 GCAAAAAGTAAACGTAAATAAAACTTAGAAATCCAAAACAGCAAAATGGTGTACTATTACTGAAATTTGGTATAATGCTTTTTC
 GCAATGTTGATTTTCAAATAAAACTTTACGTAATATGATTTGGAAGAAAGTAAAGCTTCCCTCAACTATTGCGAAAAATAGGTGCT
 45 TTTGCTTTTCAATCTAATAACTTGAATCTTTTGAAGCAAGTGACGATTTAGAAAGAGATTAAGAGGGAGCCTTTATGAATAATCG
 TATTGAAACCTTGAATTTAAAGATAAATAGTTACTATTGGTGATGCGGCTTTCCATATTAATCATATTTATGCCATTGTTCTTCC
 AGAATCTGTACAAGAAATAGGGCGTTCAAGATTTTCGCAAAATGGTGCAAAATAATCTTATTTTTATGGGAAAGTAAAGTTAAGACC
 TTAGGTGAGATGGCATTTTTATCAATAGACTTGAACATCTGGATCTTTCTGAGCAAAAACAGTTAACAGAGATTCCTGTTCAAG
 CCTTTTCAGACAATGCCTTGAAGAAAGTATTATTACCAGCATCACTGAAAACGATTTCGAGAAGAAAGCCTTCAAAAAGAAATCATT
 50 AAAACAACCTGGAAGTGGCATCTGCCCTGTCCATATTGCTTTTAAATGCTTTAGATGATAATGATGGTGAATGAACAATTTGATAATA
 AAGTGGTTGTTAAACGCATCATAATCTCAGCACTAGCAGATGGTGAAGATTTTATCGTTGATCCAGATAAGTTATCTTCTACA
 ATAGTAGACCTTGAAGAAATTTTAAACTAATCGAAGGTTTATGATTATTCTACATTACGTGAGACTACTCAAACCTCAGTTTAGAGA
 CATGACTACTGCAGGTAAGCGTTGTTGTCAAAATCTAACCTCCGACAAAGGAGAAAAAATAAAATCTTCAAGAAGCACAAATTT
 TTCTTGGCCCGCTTGATTTGGATAAAGCCATAGCTAAAGCTGAGAAGGCTTTAGTGACCAAGAAAGGCAACAAAAGAAATGGTCA
 55 TTGCTTGAAGAAAGTATTAACAAAGCGGTATTAGCTTATAAATAAGCGCTATTA AAAAAGCTAATGTTAAGCGCTTGA AAAAAG
 GTTAGACTTCTAACAGGATTAGTTGAGGGAAAAGGACCATTAGCGCAAGCTACAATGGTACAAGGAGTTTATTTATTAAGAC
 GCCTTTGCCATTGCCAGAATATTATATCGGATTGAACGTTTTATTTGACAAGTCTGGAAAATTTGATTTATGCCTTGATATGAGTG
 ATACTATTGGCGAGGGACAAAAAGCGCTTATGGTAATCCTATATTAATGTTGACGAGGATAATGAAGGTTATCATGCCTTGGC
 AGTTGCCACTTTAGCTGATTATGAGGGGCTGACATCAAAACAATTTTAAATAGTAAGCTTAGTCAATTAACATCTATTCGTCAGG
 TACCGACTGCAGCCTATCATAGAGCGGATTTTCCAAGCTATCAAAATGCAGCGGCAAGGACAGAGCAGTATTGCCTAAAC
 60 CAGGTACGCACTGAGAAAGTCAAGCTCAAGTGAATCTGCTAACTCAAAAGATAGAGGATTGCAATCAAAACCAAAAACGAATA
 GAGGACGACACTCTGCAATATTGCCTAGGACAGGGTCAAAGGCAGCTTTGTCTATGGAATCTTAGGTTACTAGCCTTGTCTT
 TACTGTCACTAATAACTGCTATAAAAAAGAAAAATTTAA

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0872

Sec. ID 42

5 ATGAAAAAATATTTTATTTTAAAAAGTAGTGATTGAGTATCCTGACTAGTTTTACTCTATTAGTTACAGATGTTCAAGCAGATCAA

10 GTTGATGTGCAATTCCTTGGCGTCAATGATTTTACGGCGCTCTTGATAATACCGGAACAGCTTACACACCAAGTGGTAAAATAC
 CAAATGCTGGGACGGCTGCTCAATTAGGTGCTTATATGGATGACGCTGAGATAGACTTCAAGCAAGCAAATCAAGACGGAAACAA
 GTATACGTGTTCAAGCTGGAGATATGGTCGGAGCCAGTCTGCTAACTCTGCACTTTTACAAGATGAGCCTACTGTCAAAGTCT
 TTAACAAAATGAAATTTGAATATGGCACTCTTGGTAATCATGAATTTGACGAAGGACTAGATGAATTTAACCGTATCATGACAGGT
 CAAGCGCCTGATCCTGAATCAACAATTAATGATATCACCACCAATATGAGCAGCAAGCTTCGCATCAAACCATCGTCAATTGCTA
 ATGTTATTGATAAAAAAACCAAGGATATCCCCTATGGTTGGAAACCTTATGCTATAAAAGACATAGCCATTAATGACAAAATCGTT
 AAGATTGGCTTCATTGGTGTGTGACTACAGAGATTCCAATCTCGTTTTAAAGCAAACTATGAACACTATCAATTTTTAGATGT
 15 AGCTGAAACCATGGCCAAATATGCTAAAGAACTACAAGAAACAACATGTTCAATGCTATTGGGTTTTAGCTCATGTTCTCGCAACA
 AGTAAAGATGGTGTGTTGATCATGAAATGGCTACGGTTATGGAAAAAGTGAACCAAATCTATCCCGAACATAGCATTGATATTA
 TTTTTGCAGGACATAATCATCAATACTAATGGAATATCGGTAACACAGTATCGTTCAAGCCCTCTCTCAAGGAAAAGCTTA
 TGCAGATGTCCGTGGTACGCTAGATACTGATACCAATGATTTTATTAACCACTCCATCAGCAAATGTTGTTGCTGTAGCACCAGGT
 ATCAAAACAGAAAATTCAGATATCAAAGCTATAATAATCATGCTAATGATATTGTTAAAACAGTTACTGAACGAAAAATCGGAAC
 TGCAACTAATCTTCAACTATTTCTAAAACAGAAAAATTTGATAAAGAATCTCCTGTCGGTAACTTACGAAACAAGGCTCAGCTTA
 20 CTATTGCTAAGAAAATTTTCCAATGTTGACTTTGCTATGACCAATAATGGTGGTATTGAAAGTACCTAGTTGTCAAAAATGAC
 CGGACCATCACCTGGGGAGCTGCACAGGCTGTACAACCATTTGGTAATATCCTTCAAGTCAATCAATGACTGGTCAACACATT
 TACGATGTCCTAAATCAGCAATACGATGAAAACAGACCTATTTTCTTCAAATGTCAGGTTTAAACATACACTTATACAGATAATGA
 TCCTAAGAACTCTGATACCCCTTCAAGATAGTTAAGGTTTATAAAGACAATGGTGAAGAAATTAACCTAACAACTACTTACACCG
 TTGTTGTCAACGACTTTCTTTATGGTGGTGGTATGGCTTTTACAGATTTAAAAAAGCTAAATTAATCGGAGCTATTAACACAGAT
 ACTGAAGCTTTCATCACATATATCAAAAATTTAGAAGCATCAGGTAACCTGTTAATGCTACTATAAAAAGGGTTAAAAAATTTAGT
 25 AACCTCAAACCTTGAAGTTTCGACAAAAGTTAATAGTCTGGTAAACACAGTATCATTAGTAAGGTTTTTGAAGAAATCGTGATGGC
 AATACAGTGTCTAGTGAAGTCATTTAGACCTTTTACTGCTACTGAAAACACTAATAACAGCCTTGGCAAAAAAGAAAACAACA
 CAAACAAAATACTATCTCTAGTCCACTCTTCCAATAACAGGGGACAATATAAAATGTCTCCTATTATGACAATCCTTGCCTTG
 ATAAGCTTAGGTGGACTAAACGCTTTTATTAAAAAAAGGAAATCCTAG

30 SPy0895

Sec. ID 43

35 ATGACTAATAATCAAACACTAGACATCCTTTTGGATGTCTATGCTTATAATCACGCCCTTAGAATTGCTAAAGCCTTGCCAAATAT
 CCCTAAAACCTGCCCTCTATTTACTAGAGATGTTAAAAGAGCGCAGAGAATTGAACCTTGCCTTTCTAGCGGAACATGCAGCAGA
 GAATCGGACCATTGAAGACCAGTATCACTGTTTATTATGGCTTAAACCAATCGCTTGAAGATGAGCAGATTGCCAATTACATTTTG
 GATTTAGAAGTTAAAGTAAAAACGGTGTCTATTATTGATTTTCGTCAGGTCAGTGTCCGCTATTCTTTACCGACTTTTCTCAGACT
 40 AATCACGTCAGAAATTCAAAACCTTCAAGGCTTATATTTTTGATACAAAGAAATGACCAATATGATACCTGGCATTTCAGGCCATGT
 TGAATCTGATCACGAGGTTTTCAAGGCTTACCTGTCTCAAAGCAGTCTCGCAATGTGACGACCAAAAAGCTTAGCAGACATGT
 TGACGTTGACCTCCTTACCTCAGGAAATCAAGGACTTGGTTTTTGTACGACATTTTGAAGAGGCTGTCGGTAAATCCTCTGGC
 TCATTTGATTAGCCTTTTGATGAAGAGGAACTGCATCGCACCCTCAATTTTCTTCTCAGGCTTTTTTGGAAAACATTATCACCT
 TGGCGACTTTTTCTGGTGAATCTACCGACGTGAGCCTTTTACTTTGATGACATGAATGCCATTATTAAGAGGAGTTGAGCCT
 TTGGAGACAATCTATTGTCTGA

45 SPy0972

Sec. ID 44

50 ATGAAGACAACATCCCTGATTAAAGTAGATTTGCCATCAACAATCGGTATAGGTTATGGCGCTTTTTGGCGGTCTAGAAATTTTT
 ATCGAGTAGTTAAAGGCAGCCGTGGATCTAAAAAATCTAAAACGACTGCTTTAAATTTTATCGTCAGACTGCTGAAGTACCCTTG
 GGCTAACTTATTGGTCATCCGTAGATACTCAAAACACTAACAAAATCTACTTATACCGATTTTAAATGGGCGTGTAAATCAATTA
 AGGTTACACACCTTTTTAAGTTTTAATGAGAGTTTCCAGAAAATACTGTAAGGCAACGGGCCAAAAGATACTGTTCCGTGGACT
 55 TGATGATGAGTTAAAATCACATCTATTACTGTGATGTTGGCGCTTTGTGCTGGGCTTGGTTTGAAGAGGCTTATCAAATTTGAG
 ACCGAAGATAAGTTTTCAACAGTTGTCGAATCAATCCGCGGTAGTTTATGATGCTCCTGATTTTTTAAACAGATAACAGTCACGTT
 TAACCCGTGGTCAGAAAGACATTTGGCTTAAACGTGTCTTTTTGATGAAGAACTAAACGGGCTGATACATTTTCTGGGACTACA
 ACATTTAGAGTAAACGAATGGCTTATGATGATGTCGATAAAAAGACGCTACGAAGATTTGTACAAGACTAATCCAAGGCCGGGCTAGA
 ATCGTGTGCGATGGTGAATGGGGCTTGTGTAAGGCTTGTTTTTGATAACTTTGAAGTCGTAGATTTTATGTTGAAAAACAA
 TCAACGCGTTAAAGAGACCTCGGCCGGTATGGACTTTGGTTTTACTCAAGACCCTACAACCTTATATGTTGTCAGTTGACCT
 60 CGCAAAACAAAGAGTTATGGCTTTACAACGAACATTATCAAAAAGGCTATGTTAACAGATCATATTGTCAAAAATGATAAGAGATAAAA
 ACTTGCATAGGTTACATCGCAGGGGATAGCGCCGAAAACGCTCATTGCGAAGAAATAAAAGTAAAGGGGTGTCTGGAATTTG
 TCCCAGATTAAGAGTAAAGGGTCAATCATGCAAGGATTCATTCATGCAAGGGTTAAGATATATTTACCCATCTTTCGCA
 ACACACAATAGAAGGTTAATACTTACCTTTTAAAGCAAGACAAGAAGGTAATTGGTTAAACGAACCGATAGATAAGAATAAC
 CAGTTATTGATGCGATTAGATATGCGCTTAAAAATACCATATCAGAAGCAACGAGTCAAATCAGTTTTGAAGTTCTTAGGGCTG
 GTTTTGGTACTAG

65

ES 2 330 334 T3

SPy1054

Sec. ID 48

5 TTGCTGACCTTTGGAGGTGCAAGTGCAGTTAAGGCGGAAGAAAATGAAAAAGTAAAGAGCAAGAAAAGCTCATACAGCAACTT
 TCTGAAAAGCTAGTGGAAATTAATGACTTACAAACTTTAAATGGTGATAAAGAGAGTATACAGTCTCTCGTAGATTATCTGACTCG
 AAGAGGAAAACCTTGAAGAAGATGGATGGAAATTTGAAATCTGGTATTCAACGCCAAACTTTTTGTTGGTCCAAAAGGACCTGCA
 GGTGAAAAAGGAGAACAAGGTCCCTACTGGAAAACAAGGCGAGCCTGGT GAGACCGGCCCTGCAGGTCCACGTGGTGACAAGG
 GCGAAACTGGTGACAAAAGGAGCCCAAGGTCCAGTAGGTCCCGCTGGCAAGGACGGCCAAAACGGTAAAGATGGTCTTCCAGG
 TAAAGACGGCAAGGACGGCCAAAACGGTAAAGATGGTCTTCCAGGTAAAGACGGCAAGGACGGCCAAAGACGGTAAAGATGGC
 10 CTCCAGGTAAAGACGGTAAGGATGGCCAAAATGGCAAAGATGGTCTTCCAGGTAAAGACGGTCAACCAGGTAACCAGCTCC
 TAAAACACCAGAGTCCCTCAAACCCAGATACTGCCACACATCTCAAACCCCTCGGATCCCTGGTCAATCAAAGACGT
 GACACCTGCTCCTCAAACCCCTTAATAGAGGTCTAAACAAACCACAACACAAGGTGGTAATCAGCTCGCAAAAACACCGGC
 AGCTCACGACACACAGACAATTGCCAGCAACAGGCGAAAACAACCAATCCATTTTACAGCAGCTGCTGTAGCTATCATGAC
 GACAGCTGGAGTTGTAGCTGTTGCAAAACGTCAAGAAAACAACTAA

15 SPy1063

Sec. ID 49

20 ATGTATATATCTCATCGTCAAAAAAGATAGTGCTAAAGAATTAGTTATCTTGACTCCTAATAGCCAACTATTTTAAACAGGGAC
 TATCCAGCCTTTGAGGAAAAGTATGGGGTTAAAGTAAAGATTAATCAAAGGTGGGACGGGCCAACTTATTGATCAATTAGGTGCG
 AAAAGATAAACCATTAAACGCTGATATTTCTTTGGTGGCAATTACACTCAATTTGAAAGCCATAAAGATTTATTTGAATCTTATGT
 TTCTCCGCAAGTTTCTACTGTCATTTAGATTACCAATTGCCTAGTCATCGCGCAACCCCATATACGATCAATGGCAGTGTACTG
 ATTGTTAATAACGAATTAGCAAGAGGACTTCATATTACCAGTTATGAGGATTTGCTACAACCAGCTTTAAAAGGCAAAATTTGCTTT
 TGCTGATCCCAACAGTTTCAAGTGCCTTCTCACAGCTGACTAATATATTGTTAGCTAAGGGGGGTACACAACCGTGACCG
 25 TTGGCTTACATGAAGCGCTTGTGGTCAATATGAATTTCTATTAGGGCTACGAGTCTTTCAGAACTATCAATCTGTGCGCTGAG
 GGTAAGATGATTGTTGGGCTAACCTACGAAGATCCTGTATCAACCTGCAAAAAAGTGGTCCAATGTTTCCATTGTTTATCCAA
 AAGAAGAAACGGTGTGTTGCGCCCTCTCTGTTGCTATTATCAAACATGCGCCAAACATGACAGAGGCTAAGCTCTTTATTAATTT
 TATGTTATCACGTGATGCAAAAATGCTTTGGCCAATCAACCAGTAACCGACCCATTTCGTCAAGATGCCAAACCAAGTCACGA
 CATGAAAGCCTTAGAAACGATAGCTACTTTGAAAGAGGATTATGCTTATGTTACCAAGCACAAGAAAAAATAGTGGCTACGTAC
 AACCAGTTGCGCCAACGTTGAAAAAGCTAAGTAG

30

SPy1162

Sec. ID 50

35 ATGCCGACTAGTATTAAGCTATTAAGAAAGCTTAGAGGCCGTTACTAGCCTCTTGGACCCCTCTTTCAAGAATTGGCAACC
 GACACTAGGTGAGGCGTCCAAAAAGCTCTAAAAAGCCGACAAAAGGTTATTCAGGCCGAGTTAGCAGAAGAAGAACGATTAGA
 AGCCATGCTTTCTATGAAAAAGCTCTTTATAAAAAAGGTTATAAAGCCATTGCAGGTATTGATGAGGTGGGACGTGGTCCCTTA
 GCAGGTCCCGTTGTGGCAGCTTGTGTGATTTTACCTAAGTATTGTAATAAAGGCCTTAATGATTCTAAAAAATCCCTAAAG
 40 CTAAGCATGAGACCTTATCAGGCAGTGAAGAAAAGGCTTTGGCTATCGGTATCGGTATTATTGACAATCAGCTTATTGATGA
 GGTCAATATTTATGAAGCAACAACTGGCCATGCTAGAAGCCATTAAACAGTTGGAGGGCCAACTCACACAACCAGATTATCT
 CTTGATTGATGCCATGACATTGGATATTGCTATTTGCGAGCAGTCTATTCTTAAAGGCCGATGCCAATTCCTTGTCTATTGCAGCA
 GCATCAATTGTAGCTAAGGTCAACAGAGATCAGATGATGGCTAACTATGATCGCATTTTTCTGGTTATGACTTTGCTAAAAATG
 CAGGCTATTGGCACCAAAAGAACATTTACAGGGATTAAGGCTTACGGCATAACGCCATCCATCGTAAAAGTTTTGAACCTGTTAA
 45 ATCCATGTGCTGCGATTCAACTAATCCTTAA

45

SPy1206

Sec. ID 51

50 ATGACAGTTAAGGAAGAAACGATGAGTATTTAGAAGTTAAGCAGTTGAGTCACGGTTTTGGGGATCGGGCTATTTTTGAAAATG
 TGTCATTTCCGCTCTTAAAGGCCAACAATTTGACTAGTTGGGGCAATGGTGAAGGAAAATCAACCTTTATGAGTATAGTCAC
 AGGACATTTACAGCCTGACGAAGGAAAAGTAGAGTGGTTCGAAGTATGTCACTGCAGGTTACCTGGATCAACATACAGTGTGGGA
 55 ATCAGGACAAAACCGTTGCGTATGCTTTCGCAACTGCTTTTATGAGTATTTAAGACCGAGAATCGTATTAATGAGATTTACGCG
 TCAATGGCAGATGATAAAGCTGATAATTGCTGTTTTGATGGAAGAAGTAGGTGAGCTTCAAGATCGTTTGAAGAGTCGTGATTTCT
 ATACTTTGGATGCTAAGATTGATGAAGTAGCCGCTGCGCTTGGTGTATGGATTTGGAATGGAGTCAGATGTTACATCCTTATC
 AGGTGGGCAACGAACAAGGTTTTATTAGCCAAATFACTATTAGAAAAACCTGATATTCTGCTATTAGATGAACCAACTAACCTATT
 TGGATGCTGAGCATATTGAATGGTTAAACGCTATTACAACTATGAAAATGCTTTTGTGTTGATTTGCGATGATATTTCTTTCT
 TAAATGATGTGATTAATATTGTTATCATGTTGAAAATCAAAGTTTGTGCTACTGGGGATTATTACCAATTTCAAGCTGTTT
 60 ATGAGATGAAACAATCTCAACTTGAAGCAGCCTATGAACGTCAACAAAAAGAGATTGCTAACTTGCAGGATTTTGTCAACCGAAA
 TAAGGCTCGGGTAGCCACACGTAACATGGCAATGCTCGCCAAAAAAACTTGATAAGATGGATATAATTGAACTTCAAGCTGA
 GAAACCAAAACCAATTTTGAATTTAAGCAAGCTAGAACTCCAGTCGATTCAATTTTCAAACAAAAAATCTTGTGATTGGTTATG
 ATTACCATTTGACCAAGAACCCTTAAATATAACGTTTGAAGAAATCAAAAAATGCTATTGTTGGGGCAACGATTTGGAAA
 ATCTACTTTGCTAAAAAGTTTATTAGGTGTTATTGAGCCTTTAGAAGGTGATATTGTCACAGGGGATTTTTTGAAGTTGGCTACT
 TTGAACAAGAAGTGACAGGTGTTAACCGACAACTCCGCTAGAAGTAGTTTGGGATGCTTTTCTGCCTTAAATCAGGCAGAAG
 65 TTCGAGCGGCACTAGCTGTTGCGGACTAACATAAAACATATCGAAAAGTCAAATTCAGTACTTTCCGGTGGTGAACAAGCAA
 AAGTTCTGTTTTTTGTTTGTGATGAATCGTGAATAACGCTTATTTTTATAGCAGCAACCAACAAATCATCTTATGATTTGATGCTAAA
 AATGAGCTCAAACGTGCTTTAAAGCATATAAGGGTTCTATTTAATGGTTTGTGATGAACCTGATTTCTACAATGGGTGGGTAA
 CCGATACTTGGGATTTTAGTAAGTTAACCTAA

ES 2 330 334 T3

SPy1228

Sec. ID 52

5 ATGAACAAGAAATTTATTGGTCTTGGTTTACGCTCAGTGGCTGTGCTGAGTTAGCTGCTTGTGTAATCGTGGTGGCTTCTAAAG
 GTGGGGCATCAGGAAAACTGATTTAAAAGTTGCAATGGTTACCGATACTGGTGGTGTAGATGACAAATCATTCAACCAATCAG
 CATGGGAAGGCCTGCAATCTTGGGGTAAAGAAATGGGCCTTCAAAAAGGAAACAGGTTTCGATTATTTTCAATCTACAAGTGAAT
 CTGAGTATGCAACTAATCTCGATACAGCAGTTCAGGAGGGTATCAACTGATTTATGGTATCGGCTTTGCATTGAAAGATGCTAT
 TGCTAAAGCAGCTGGAGATAATGAAGGAGTTAAGTTTTGTTTATCGATGATATTCGAAGGAAAAAGATAATGTAGCCAGTGTT
 10 ACCTTTGCCGACCATGAAGCTGCTTATCTTGCAGGAATTCAGCTGCAAAAACAACAAAAACAACAGTTGGTTTCGTGGGC
 GGTATGGAAGGAACTGTCATAACTCGATTTGAAAAAGTTTTGAAGCAGGAGTTAAGTCTGTTGACGATACAATCCAAGTTAAAG
 TTGATTATGCTGGATCATTTGGTGACGCTGCAAAAGGAAAAACAATCGCAGCAGCTCAGTATGCAGCAGGTGCTGATGTTATTT
 ACCAGGCAGCAGGAGGCACTGGAGCAGGTGATTTAATGAAGCAAAAGCTATTAATGAAAAACGTAGTGAAGCTGATAAAGTTT
 GGGTTATTGGTGTGACCGTGATCAAAAAGACGAAGGAAAAACACTTCTAAAGATGGCAAGAAAGCAAACTTTGACTTGCATC
 ATCAATCAAAGAAGTCGGTAAAGCTGTTGAGTTAATCAACAAGCAAGTAGCAGATAAAAAATCCCTGGAGGAAAAACAACCTGTC
 15 TATGGTCTAAAAGATGGCGGTGTTGAAATCGCAACTCAAAATGTTTTCAAAAGAAAGCTGTTAAAGCTATTAAAGAAGCGAAAGCAA
 AAATTAATCTGGTGACATTAAGTTCTGAAAAATAG

SPy1245

Sec. ID 53

20 ATGAAAATGAAAAAAAATTCITTTTTGTTAAGTCTTTTGGCCCTATCAACTTTCTTTTTATCCGCATGTTCTAGCTGGATTGATAAA
 GGTGAGTCAATAACCGCTGTAGGATCAACAGCACTACAACCTTAGTAGAAGCAGTAGCTGATGAATTTGGAAGCAGTAATCTA
 25 GGCAAGACTGTCAATGTTCAAGGTGGTGGTTTCAAGTACAGGGTTGTCTCAAGTTCAATCAGGAGCTGTCCAAATTTGAAAAAGT
 GATGCTTTTGGGAAGAAAAAGATGGTATTGATGCTTCTAAATAGTTGATCATCAAGTAGCTGTTGCAGGACTTGCAGTTATTG
 CCAATCCTAAAGTCAAGTTTTCCAATCTCAGTAGTCAGCAGTTGCAAAAGATTTTTTTCAGGAGAATATACCAATTTGGAACAAGT
 TGGAGGAGAAGATCTTCCGATTTCACTGATCAACCGAGCAGCAAGTTCTGGCTCACGAGCAACCTTTGACAGTGTTCATGAA
 AGGGGTCAACGCTAAACAAGTCAAGAGCAAGACTCCAATGGGATGGTTAAATCGATTGTTTCACAAACACCAGGTGCCATTTT
 TTACCTTTCTTTGCCTACGTTGATTCATCTGTTAAATCTTTGCAATTAATGGTTTTAAGGCAAAATGCTAAGAAGCTGGCTACAA
 30 ATGATTGGCCAATCTGGTCTACGAACACATGTATACCAAAGATAAAACCAAGGGTTGACCAAGGAATTTCTGATTATATGTT
 TTCAGATGAAGTACAACAAGCAACTTTTACACATATGGGATATATTCGATAAATGATATGGAAGTGGTCAAATCTCATGATGGA
 AAAGTACAACAAAAGGTTAA

SPy1315

Sec. ID 54

35 ATGACGCACAAAAATAAAAGTATTGCTGCTTGGGATAATGTCTATTTTTTTGACATGCAATATTGCAAGTCTGAAACTATTGCTAT
 40 TGTTTTAGATACAGCTTATGCCCAATTTGAATTTAAAGACTCAGATCAAATTTACAAAAGGAATGACGTTGATATTATTAATGAAG
 TAGCCAAACGTCATCTTTGGGATTTAGTATGAGTTTCCCGGGTTTTGATGCAGCTGTAATGCTGTTCAATCTGGTCAAGCGA
 GTGCTCTAATGGCCGGTACAACCAATTCGAATGCTCGTAAGAAAAGTCTTTCAATTTCTCAGAGCCATATTACGATACCAAAATTTG
 CATTCGCACACGTAAGCCAAATGCCATCAAAAAATACAGTACTTAAAAGGAAAAACGGTGGTAAAAATGGAACAGCGGC
 TCAAGCCTTTTTGAATAACTATAAAAAAAGTATGATTACTGTTAAAACATTTGACACAGGTGATCTTATGATAAATAGTTTATC
 45 TGCTGGTTCTATTGCCGCTGTTATGGATGATGAGGCGGTTATCCAATACGCAATCAGCCAAAACCAAGATATTGCTATTAACATG
 AAAGGAGAGCCCAATTTGGAAGCTTTGGGTTTTGCTGTCAAAAAGGGAAGCGGATGATTATCTAGTTAATGATTTCAATACAGCTC
 TAAAGCTATGAAAGCTGATGGTACCTACCAAGCTATCATGACCAAGTGGTTAGGCACAGATGATAAAGCTACCACCAAGTCAGG
 CAACGGGAAATCCATCTGCCAAAGCTACACCTACAAAGGACAGTTATAAAATTTGCTCTGATTCGCTTTTGCACCGTTTTGAATT
 TCAAAATGGTAAGGGCAAAATACGTTGGTATTGACATAGAATTAATCAAAGCTATTGCTAAACAACAAGTTTTCAAAATGAAATCG
 CTAATCCAGGTTTTGATGCTGCCTAAATGCTGTGCAATCTAGCCAAGCAGATGGGGTCATTGCTGGTCAACTATTACTGACG
 50 CTCGTAAGCTATCTTTGATTTTTCTGATCCTTATTATACTTCAATATCATTTAGCTGTTAAAGCTGGAAAAACATCAAGAAGT
 ATGAAGACTTAGACAGAAAAACAGTCGGTGTAAAACGGCACTTCATCTTACTCTTGGTTAAAAGAAAAACGCTCCTAAATATGG
 TTATAATGTCAAGGCATTTGATGATGGTTCTAGCATGATGATAGCTTAAATTCAGGTTCTGTAGATGCTATCATGGATGATGAG
 GCGGTTCTTAAATACGCTATCTCTCAAGGTCTGCTGTTTTGAAACACCTCTTGAGGGCATTCTACTGGTGAAGTTGGTTTTGCTG
 TCAAGAAAAGGAACTAATCCAGAATTAATCGAAATGTTCAACAATGGCTTAGCTGCTCTCAAAAAATCTGGTCAGTATGATGACAT
 TATAGATAAATACCTTGACTCTAAGAAAGCTGCAACTCCTTCTGAAAAGGTTGCTGATGAGTCTACTATTTCAAGGCATTTATCAA
 55 ATAACTACAACAACCTATTGGCAGGACTTGGAAACCAGCTCAGTTAACCCCTTATTTCAATTTGCTATTGCTATAAATATCGGGATC
 ATCTTTGGGATGATGGCCGTGTCACCAACTAAATCGACTTATTTCAACGGTCTTTGTGGACGTTGTTGAGGGGATTCTCTT
 TGATGATTGTGGCTGCCTTCAATTTCTGGGGAGTACCAACCTTATCGAGAGTATGACCGGCCACCAGTCACCGATTAATGATT
 TCTTAGCTGCTACAATTCAGCTGTCACTTAATGGCGGAGCCTATATTGCTGAAATTTGTCGGGTGGTATCGAAGCTGTTCCAG

 CAGGGCAAAATGGAAGCTAGTCGAAGTCTTGGTTTTGCTTACGGAAACCAGATGAGAAAAGTAAATCTCCACAAGCTGTGAAAC
 60 TAATGTTACCTAATTTATCAATCAGTTTTGTTATTTCAATTGAAGGATACAACAATCGTCTCAGCAATTTGGTTTAGTGGAACTCTTC
 CAAAACAGGTAATAATCATTATTGCTAGAAATACCAGTCGTTCCGTATGTATGCTATTTTAGCAATTTTACCTTATCATGATTATA
 CTCTAACAAAGACTTGCAAAAACGTTTAGAAAAGAGGCTTAACATA

ES 2 330 334 T3

SPy1357

Sec. ID 55

5 ATGGGAAAAGAAAATAAAAGTGAATGCTTTTTGCGTAGATCAGCTTTTTGGATTAGTTGCGGTGTGAGCATCAGTATTAGTCGGTT
 CAACAGTATCTGCTGTTGACTCACCTATCGAACAGCCTCGAATTATCCAAATGGCGGAACCTTAACTAATCTTCTGGCAATGC
 TCCAGAAAACCTGGCATTACGTAATGAAGAAAAGGCCATTGATGAATTAATAAAACAAAGCTATTGAGGATAAAGAAGCTACGACA
 GCTATAGAAGCAGCAAGTTCAGATGCCTTAGAAGCATTAGCGGATCAAACAGACGCTTTACAATCAGAAGAAGCTGCGGTTGTT
 AAAGCGGATAACGCTGCTAGTGACGCCTTAGAAGCATTGGCGGATCAAACAGACGCTTTACAATCAGAAGAAGCTGAAGTAGTT
 CAATCAGATAACGCTGCTAGTGACGCCTGGGAAAAGCAGCAACTCCAATCGCTTTAGATGTTAAGAAAACATAAGATACAAAA
 10 CCTGTAGTTAAAAAGAAAGACAAAACGTTAATACCTTCTCAACTGGTGAAGAGTCTAACCCATTCTTTACAGCTGCTG
 CGCTTGAATAATGGTAAGTACAGGTGTGTTAGTTGTAAGTTCAAAGTGCAAAGAAAATTAG

SPy1361

Sec. ID 56

20 ATGAAAACGAAAAAGTTATTATTTAGTTGGTCTATTGTTATCATCTCAGTTGACTTTGATAGCTTGTCAATCACGAGGTAATGG
 TACATATCCATTAAAACGAAAACAATCACGTAAGGGAATGACGTCAAACAAAATTAACCGATTAAAAAAGCAAAGACAAAC
 AAGACTCAGAAAGGTGTGGCGGGTGTGCTATTTCTACAGATGATGGGTTATTTAAACAAAGACTCAAATAATCTTATCAAAAA
 CAGATCAGGGAATCGTTGTTGACCATGATGGTCAATCGCATTATTTTTATGCGGATTAAAGGGAGTCCATTGAATCACTT
 ATTTCAAAGGAGCAAAGTTAGCTAAGCCAGCTGTTGCTCAGCGAGCAGCTAGTCAAGGGACTTCTAAAGTAGCAGATCCTCAT
 CACCATTATGAATTAACCCAGCGGATATTGTGGCTGAAGATGCTTTAGGCTACACGGTTCGCCACGATGATCACTTCCATTATA
 TTTTGAAGTCAAGCTTATCAGGTGAGACACAGGCACAAGCTAAACAGGTTGCTACTCGCTTCCACAAAACAGTAGCCTTGT
 25 CAACAGCTACAGCTAATGGTATCCAGGCTTGCATTTCCCAACCTCAGATGGTTTTCAATTTAACGGTCAAGGTATTGTTGGGGT
 AACAAAAGACAGTATTTAGTGGACCACGATGGTCACTTACATCCTATTCTTTGCGGACCTTCGTCAAGGGTGGCTGGGCACA
 TGTGGCAGATCAATACGATCCCGCTAAAAAAGCAGAAAAGCCAGCAGAAAACCCATCAGACACCAGAGCTATCTGAACGTGAAAA
 GGAATACCAAGAAAATTAGCTTATTTGGCAGAAAATTGGGGATTGATCCATCAACTATTAACCGTGTGAAAACACAAGACGGT
 AAACCTTGGTTTGAATACCCTCACCATGACCACGCACAGTATTGATGTTATCTGATATTGAAATCGGAAAAGACATTCCAGATC
 CACATGCTATTGAGCATGCCCGTGAATTGAAAAACATAAGGTTGGAATGGATACCTTGCCTGACCTTAGGGTTTATGAAGAAG
 TGATTTTGGATATCGTTCGCACTCACGATGCTCCAACCCATCCCATCAAATGAAAAGATCCGAATATGATGAAAGAATGGTT
 30 AGCAACGGTTATCAAACCTGACTTGGGCAGCCGTAAGATCCTTTGCAACGTAAAGGACTTTCACTGTTACCCAACCTTAGAAA
 TTAGGAATGGCTTACCCAATCAAAGATATCTCACCTGTTTGAATTTAAAAAATTGAAACAGTTGTTAATGACAAAAACAGG
 GGTGACTGATTATAGATTTTTGGATAATATGCCACAGTTAGAAGGCATTGATATTTCAAAAACAATCTCAAAGATATTAGTTTCT
 TGAGCAAAATAAAAACTTAACTCTAGTAGCGGTGCTGATAATGGTATTGAAGATATTAGGCCGCTTGGTCAATTAACCAATCT
 CAAATTCCTGATTGAGTAACAATAAGATTTCTGATTTAAGCCCACTGGCATCGTTACATCAATTGCAAGAATTGCACATTGATA
 ATAATCAGATTACAGATTTAAGCCCTGTTTCTATAAAGAATCATTGACGGTGTGATTTATCAAGAAATGCTGATGTTGACTTA
 GCAACACTTCAAGCACCACAAATAGAAACGTTAATGGTCAATGATACCAAGGTTTCTATTGGATTTGAAAATAATCCTAA
 TCTATCTAGCCTATCTAATTAACCGTGCGCAATTGCAATCCTTGAAGGATTGAAGCAAGTAGCGTCAATTGTCAGAGTAGAAGCA
 35 GAAGGTAACCAAAATTAATCGCTTGTGCTTAAAGACAAGCAAGGGTCACTTACTTCTGGATGTGACAGGCAACCAGTTGACTT
 CTCTAGAAGGTGTTAATTTTTACAGCACCTGACATTTAAGCGTGTCTAAAAACCAATTAACAAATGTCAACCTATCTAAACCC
 AATAAGACAGTTAACTAATGATATTAGTATAACAATATCTCATTAGCAGACCTTAAATGAACGAGCAACATTTCCAGAAGC
 CATTGCGAAAAACTTCCAGCGGTTTACGAAGGTTCTATGGTAGGTAATGGAACAGCTGAAGAAAAGCAGCTATGGCTACTAA
 40 GGCAGAAAGAAAGTGTCAAGAAGCATCGAATCACATGACTACAACCAATATACCTATGAAGATGAAGAAGGTCATGCTCA
 CGAGCACAGAGACAAAGATGATCAGCACCATGAACATGAGGATGAAAATGAAGCTAAGATGAGCAAACCATGCTGACTAA

SPy1371

Sec. ID 57

50 TTGGCAAAACAATATAAAATTTAGTGAACGGTGAATGAAAACATCAGAAAACGAGATTACCATTACGCACCAGCAACAGGTG
 AAGAGTTAGGATCAGTTCAGCGATGACGCAGGCAGAGGTAGATGCTGTTACGCTTACAGCTAAAAAGGCTCTATCAGATTGGC
 GCGCTTTGTCTTATGTGGAACGTGCAGCTTACCTTCATAAAGCGGCTGATATTTAGTACGTGATGCTGAAAAGATCGCGCGCA
 TTCTTTCAAAGAAGTAGCCAAAGGTCAAAAGGCAGCTGTGAGTGAAGTATTGACACCGCTGAAATCATTAAATATGCAGCAGA
 AGAAGGGCTTCGTATGGAAGGTGAAGTTCCTGAAGGTGGTAGCTTGAAGCTGCAAGTAAGAAGAAGATTGCTATTGTTTCGTCG
 TGAACCAGTTGGTTAGTCTTCCATCTCACCTTTAATTATCCCGTTAACTGGCAGGTTCTAAAATGCTCCAGCTCTATTG
 CAGGAAATGTTGTTGCTCTTAAACCACCAACACAAGGCTCTATTTCTGGTTGTTACTAGCAGAAGCTTTGCGAAGCTGGTAT
 55 TCCAGCAGGTGCTTTAATACCATTACAGGGCGAGGTTCTGTTATCGGTGATTATATCGTTGAGCACGAAGCGTTAGCTTTATC
 AACTTTACAGGTTCTACTCCAATTGGGGAAGGAATCGGTAATTAGCGGGTATGCGACCAATTATGCTTGAGCTTGGCGGTAAG
 GATTCTGCTATCGTTTTGGAAGATGCAGATCTTGTCTTAGCAGCGAAAAATATTGAGCCGGTGTCTTTGGTTACTCAGGCCAAC
 GTTGTACAGCGGTTAAACGTGTTCTGTGATGGACAAGGTGGCGGATCAATTGGCGGTGAGATTAAAACACTTGTGAAAAAC
 TAAGTGTCCGTAATGCCTGAAGACGATGCTGATATTACACCAATTAATTGATACATCAGCTGATTGTTGTTGAAGGTTGATTAA
 60 AGATGCAACTGATAAGGGAGCTACTGCTTTGACAGCCTTAATCGTGAAGGCAATCTTATTTACCCGTTCTCTTTGATCATGTG
 ACAACTGACATGCGTTTGGCATGGGAAGAGCCGTTGGGCCAGTATTACCAATTAATCGTGAACCACTGTAGAAGAAGCCATC
 AAGATTTCTAATGAGTCTGAATATGGTTTGAAGCTTCTATTTACAACCTAATTTCCAAAAGCTTTGGCATTGCTGAGCAATT
 AGAAGTTGGAAGTGTACCTTAAACAATAAAACACAACGTGGAACAGATAATTTCCATTCTTAGCGCTAAAAAATCAGGTGCA
 GGGTACAAGGAGTTAATATCTATCGAAGCTATGACAACCTGTTAATCTGTTGATTTGATATCCAGTAA

ES 2 330 334 T3

SPy1375

Sec. ID 58

5 ATGAGTCTCAAAGATCTTGGCGATATTTTCATATTTTCGCCTAAATAATGAAATTAACCGTCTGTTAATGGTAAAAATCCACTTCA
 TAAAGACAAAGAAGCTTTAAAAGCTTTTTCCGCTGAAAATGTGCTGCCAAACACCATGTCTTTTACTTCCAITTACGGAAAAAATGG
 AGTATTTAATCTCAAATGATTACATTGAATCAGCTTTTTATTGAGAAATACCGCCCTGAATTTATTACTGAATTAGATAGCATAATCA
 AATCAGAAAAATTTTCGCTTTAAATCATTATGGCAGCCTACAAGTTCTACCAGCAATACGCCTTAAAAACAATGATGGAGAGCAT
 TATTTAGAAAAACCTTGAAGACCGTGTCTTGTAAATGCTTTGATTTTGCAGATGGTCAAGAAGACTTAGCAAAGATTTAGCCGT
 10 TGAATGATTAACCAACGTTACCAACCGGCTACTCCTTCTTTTAAATGCTGGTGAAGCCGCTGTTGGTGAATTGGTCTCTTGT
 TTCTTGATTCAAGTAACTGATGACATGAACTCTATCGGACGTTCTATCAACTCTGCTTTCGCAATTATCCCGTATTGGTGGAGGAG

15 TTGGGATTACCTTGTCTAACCTCCGTGAAGCTGGCGCACCAATCAAAGGCTATGCTGGTGCAGCCTCAGGAGTTGTTCTGTTA
 TGAAATATTTGAAGATAGTTTTCTTATTCCAAATCAACTGGGGCAACGTCAGGAGCTGGTGTGTTTACCTAAATGTTTTTCAT
 CCTGATATCATTGCTTTCTTATCTACTAAAAAGAAAATGCCGATGAAAAGGTGCGTGTAAAACCTTGTCACTAGGGATTACCG
 TTCTGATAAATCTACGAATTAGCTCGTAAAAACGAGGACATGTATCTCTTTAGTCTTACAATGTTGAAAAAGAATATGGCATT
 CCCTTTAACTATCTCGACATTACCAATATGACGATGAGTTAGTGGCGAACCCCTAAAATTACTAAGACTAAAAATTAAGCTCGTGA
 CTCTTGAACAGAGATTTCAAATTAACAACAAGAATCTGGTACCCTTATATCATCAATATTGATACAGCTAATAAAGCTAATCCAT
 20 TATCATCAAACCGACTAGCAGTTGCTCAAATGGCTTATTTTACAAGTTCAAACACCTAGCCTTATCAATGATGCCGAAGAGTTT
 GTAGAAATGGGAACGATATTTTATGTAACCTTGGTCCACTAATATCCTGAACATGATGACCTCACCAGACTTTGGCCGTTCTA
 TTAAGACCATGACACGTGCCCTAATTTTGTACTGATTATCAAGCATTGAAGCTGTTCAAACCATTAACATGGCAATAGCCA
 AGCTCATACTTTTGGCCTTGGAGCTATGGGACTACATTTTACCTTGTCTAACATCATATTGAATATGGCAGTCCAGAATCCATC
 GAGTTTACTGATATTTACTTTATGCTCCTGAATATTGGACCTTGGTGAATCCAATAACATCGCTCGTGAGCGCCAAACTACCT
 TTGTTGGCTTTGAGAACTCTAAGTACGCTAATGGTAGTTACTTTGATAAATACGTTACAGGACACTTTGTTCCAAAATCTGATTTG
 GTGAAAGATCTGTTCAAAGACCATTTTATCCGCAAGCTTCAGATTGGGAGGCTCTTCGCGACGCGCTTCAAAGATGGTCTT
 25 TATCATCAAACCGACTAGCAGTTGCTCAAATGGCTTATTTTACAAGTTCAAACACCTAGCCTTATCAATGACTGCTCTGCTTATTACCCAACTACACACA
 ACGCATCGAAGAGCGTCAAGAAAAGAAAATTTGGTAAAATCTACTATCCTGCAAAATGGTTTGTCTACGGATACCATTCCTTACTAT
 ACATCTGCTTACGATATGGACATGCCAAAAGTTATTGATGTCTATGCCGCTGCGACCGAACATGTGGACCAAGGCTTGTCAATTA
 ACTCTATTCCTTGTAGTGAAGTTGCCATGGAGCTTTATGATGGAAAACACAAAAGCAAACAACTCGTGAATTTATCCACTT
 TACGAAACTACGCTTTCAATAAAGGCATTAATCTATCTACTATATCCGTACCTTTACGGATGATGGGGAAGAAGTGGCGCAAA
 CCAATGTGAATCTTGTGTCATTTAA

30

SPy1389

Sec. ID 59

35 ATGAAAGAATTATCGTCTGCACAAATCCGCCAAATGTGGTTGGATTCTGAAATCTAAAGGACATTGCGTTGAGCCTTCAGCTA
 ACTTGGTTCCTGTGAACGACCCAACGCTTCTTTGGATCAACTCAGGTGTTGCAACCTTGAAAAAATATTTTATGATGGTTTCAAGTAT
 TCCAGAAAATCCACGATTTACCAATGCACAAAATCAATTCGTAATGATATTGAAAATGTTGGTAAAACAGCAGCTCACCATA
 40 CTATGTTGAAATGCTTGGTAACTTCTCAATGGAGACTTTCCGATGAAAGCTATTGAGTGGGGATTTGAACCTTTGACAGTTCGACAGA
 TCCAGACTGGTTTATTTCCCTAAAGACAAGCTCTACATGACTTATTACCCAGATGACAAGGATTGATATAACCGTTGGATTGCT
 TGTGGCGTTGAACCAAGTCACTTGGTCCGATCGAGGATAACTTCTGGGAAATCGGTGCTGGTCTTCAAGTCCAGATACGGA
 GATTTTCTCGACCGTGGTGAAGATTTGATCCAGAAAATATCGGACTTCGCTCTTGGCTGAAGATATCGAAAACGATCGTTAC
 ATCGAAATCTGGAACATCGTTTCTCACAATCAATGCTGACCCAGCCGTACCACGTTTCAAGATACAAAAGAATTACCAAAACAAA
 ACATTGATACAGGTGCTGGTCTTGAAGCTCTTGCAGCTGTTATGCAAGGGGCAAAAACAACTTTGAACTGACCTCTTATGC
 CAATCATCCGTGAAGTAGAGAAGTTGTCAGGTAACCTACGATCCAGATGGCGACAACATGAGTTTCAAGGTTATCGCTGACC
 45 ACATCCGTGCGCTTTCAATTTGCTATCGGTGATGGTCCGCTTCTGGAAATGAAGGTGCTGGTTACGTTCTTCTCGTCTTCTCC
 GTCGTGCGGTTATGCACGGTCCGCTTGGCATCAACGAACTTTCTTTACAATTTGGTCCGACTGTTGGACAAATCATGG
 AAAGCTACTACCCAGAAGTCTTGAAAAACGTTATTCGAGAAAATCGTTAAACGTGAGGAAGAAAACATTTGCTCGTACTAT
 CGATGCAGGTAGCGTCACTTAGATTCATTGCTTCCGACGCTTAAAGCTGAAGGTAAGGATACTCTTGAAGTAAAGATATCTT
 CAAACTTTATGATACTTATGATTTCCCGGTTGAATTTGACAGAGGAATGGCAGAAGATGCAGGCTACAAGATTGACCACGAAGG
 CTTTAAAGTACCCATGAAAGAACAACAAGACCGTGCAGCTGCAAGCTGTTGTTAAGGGTGGTTCAATGGGGATGCAAAAATGAAA
 50 CCCTAGCTGGTATTGTTGAAGAATCACGATTGCAATACGACATATAGTCTTGAATCAAGTCTTTGAGTCAATCATCGCTGATA
 TGAACGTACCAGACTGTTTCAAGAAGGTCAAGCCCTTCTTGTCTTTCGCTCAAACACCCATTCTATGCTGAAATGGTGGACAGGT
 TGCTGACACAGGTAGAATCAAAAATGATAAGGGTACACAGTTGCTGAGGTTGTTGATGTTCAAAGACCAAAATGGTCAACC
 TCTACACACTGTAACGTTTTAGCATCACTTTCAAGTTGGAACAAAACACACTTGAATCAACAAAGAGCGTCTTTGGCTGTT
 GAGAAAAACACACAGCTACTCACTTGTCCATGCAGCTCTTCACAATGTTATCGGTGAACACGCAACTCAGGCTGGTTCAATG
 AACGAAGAAGAATTTTGCCTTTGATTTTACTCACTTTGAAGCAGTAAGCAATGAGGAACCTTCTGACATTGAACAAGAAGTTA
 55 ATGAGCAAATTTGAACGCTCTTACAATCACACGACTGAAACTGACGTTGAAACCGCAAAAAGAGATGGGAGCAATGGCGCTTT
 TTGGTGAAGAAATATGGTAAAGTGGTTCGTGGTTCAAATTTGGTAAATTTCTGTTGAACTTTGTGGTGAAGTCACTTAAATAAT
 TCTTCAGAAATCGGTCTCTTCAAGATTGTCAAAGAAGAGGATTTGGTTCAGGCACTCGTCTGATTTGCAAGTACTGGTAGAC
 AAGCTTTTGAAGCTTATCGTAACCAAGAGGATGCCCTAAAAGAGATCGCTGCTACTGTAAGGCTCCGCAATTTGAAAGATGCAG
 CAGCTAAAGTACAAGCTCTTACGACTCGCTTCTGATCTTCAAAGAAAATGCAGAATTAAGAAAAGCAGCAGCTGCAG
 CAGCTGGTATGTTTAAAGATGTTCAAGAAGCTAAGGCTGCGCTTATTGCTAGTCAAGTTGATGTTGACAGATGCAGGGG
 60 CACTTCGTACATTTGCTGATAACTGAAAACAAAAGACTACTCTGATGTGCTTGTCTCGTAGCAGCTATTGGTGAAGGTTAA
 TGTCCTTGTGCAAGCAAAACCAAGATGTCCACGCTGGTAAACATGATCAAAGAATTTGGCACCATTGTAGCAGGCTCGTGGTGG
 AGGTAACCAAGACATGGCTATGGCAGGTGGTAGCGATGCAAGTAAAATTCGAGAGCTGCTAGCAGCAGTTGCTGAAATAGTGT
 AA

65

ES 2 330 334 T3

SPy1390

Sec. ID 60

5 ATGAAAACTCAAATAAATCATTGCTAGTGTGTGACATTGGCCTCAGTGATGGCTTTAGCAGCTTGTCAATCAACTAATGACA
 ATACTAAGGTTATTTTCGATGAAAGGTGATACAATTAGCGTTAGTGATTTTTACAATGAAACAAAAACACAGAAGTATCGCAAAA
 GCGATGCTAAATCTGGTAATTAGTCGTGTTTTGAAGCTCAATATGGTGATAAGGTTTCAAAAAAGAAAGTTGAAAAGGCGTATC
 ATAAAACAGCTGAACAGTATGGCGCTTCATTCTCTGCTGCTTTGGCACAATCAAGCTTGACACCTGAGACTTTAAGCGTCAGAT
 CCGCTCTTCAAAATTAGTAGAATATGCGGTTAAAGAAGCAGCTAAAAAGAATTGACAACACAAGAATAAAGAAAAGCATATGAA
 10 TCTTATACTCCAACAATGGCAGTCGAAATGATTACTTTAGATAATGAAGAGACAGCTAAATCAGTCTTAGAGGAACTAAAAGCCG
 AAGGCGCAGACTTTACAGCTATTGCTAAAGAAAAACAACACCTGAGAAAAAGTACCTATAAATTTGATTCAGGTGCGAC
 AAATGTACCGACTGATGTCGTAAGGCGGCTTCAAGTTTGAATGAGGGTGGCATATCAGACGTTATCTCGGTTTTAGATCCAAT
 TCTTATCAAAAAGAGTTTTACATTGTTAAGGTGACTAAAAAGCAGAAAAAATCAGATTGGCAAGAAATATAAGAAACGTTTAA
 AGCTATCATTATAGCTGAAAAATCAAAAGATATGAATTTCCAAAACAGGTTATTGCAAATGCATTGGATAAGCTAATGTA
 TAAAGACAAAGCTTTTCTAATATTTTGGCGCAATATGCAAATCTTGGTCAAAAACTAAAGCTGCAAGTAAAAGTTCAACAACC
 AGCGAATCATCAAAAGCTGCAGAAAGAAACCCATCAGAATCAGAGCAAACACAGACATCATCAGCTGAAGAACCAACTGAGACT
 15 GAGGCTCAGACGCAAGAGCCAGCTGCACAATAA

SPy1422

Sec. ID 61

20 GTGCTTTATCCAACACCCATTGCAAAGTTAATTGACAGTTACTCTAAACTTCAGGAATTGGTATCAAGACGGCGACGAGATTAG
 CTTTTATACTATTGGAATGTCAAATGAAGATGTCAATGATTTTCTAAAAACTTATTAGCAGCTAAAAGAGAACTGACCTATTGT
 25 TCGATTTGTGAAACCTTACCGATGACGATCCTTTGTCACATTTGCACAGACGAGTCGTGATCAGACGACCATTCTGGTAGTA

30 GAAGATGCTAAAGATGTTTCTGCCATGGAAAAATCCAAGAGTATCATGGCTATTATCATGTGCTTCACGGCTTGATTCGCCTA
 TGAATGGTGTGGGGCCAGATGACATCAACCTTAAAAGTTAATTACCCGCTAATGGATGGTAAGGTGAGCGAAGTTATCGTAG
 CTACCAATGCCACAGCAGATGGGGAAGCAACGTCCATGTATTTACGCTGTCTTGAAACCGCCGGGATTAAGGTAACCTCGTT
 TGGCAAGAGGTCTCGCAGTAGGTTGAGATATTGAGTATGCTGATGAAGTAACATTATTGAGAGCTATTGAGAATCGTACTGAACT
 TTA

SPy1436

Sec. ID 62

40 ATGGATATGTCTAAATCAAATCGTCGTAAGGTTGAGGTTGTTATTTAATAGCTATTCTCACCCTTTTACCACAAGTAC
 TGTTACGGCAGCCAGAAAAATTAGAAATTTCCCTGATACCACGGAAATTTTGTAGGAACGAAGGCGACTGAGACACCAGGAAT
 CTTACCATTCACTGGTAGCTACCAATTAGTTTTGGCGATCTTGACAATCTGCAAAGGCCAACCTTCGCACACATCCAGCTAAAA
 GATCAAGATGAGCCTAATATTAACGAAAAGGACTTAAATTTCAATCCTCTGGCTGGCATAATTACAAATGACTGACGCTAATG
 GAAAAACAACCTGGTTAATGGACCGTGGCCATTTAGTTGGTTACCAATTTAGCGGCTTAAATGACGAGCCTAAAAACCTAGTTAC
 AATGACAAAATATCTAATACTGGCTTTAGTGACAAAAATCCTTTAGGAATGCTCTATTATGAAAATAGATTAGATAGCTGGTTAG
 45 CTACACCCTAACTTCTGGCTAGACTATAAAGTTACTCCTGTTTATCATAAAAATGAGTTAGTTCCCTCGCCAAGTAGTTCTACAG
 TATGTTGGAATTGATGAAAATGGAGATCTACTTCAAATTAAGTTAGGTAGTAAAAAGAAAGTGTAGACAACCTTTGGAGTAACAT
 CAGTTACATTAGATAACGTATCTCCTTTAGCTGAATTTACCAAACAGGAATGATGCTAGATTCAACTCAAACGAAGAAGA
 TAGTAATTTAGAAACCGAAGAGTTTTGAAGAAGCGGCTTAA

SPy1494

Sec. ID 63

55 ATGACTAGTAAAAAGCGTGTTTTATCAAGCATCATTGTGTTAGCAAGTTTAACTGTGGAAATGATACTGTTAGTGCCAAATCATCT
 CTCAGCAACTGGAGATAAGTTGATGATTGCTCAACACTTGTGAAAAAGATGTGGCCCTAAAGATGAAGTTGAGATGTTAGCA
 TGGTCTCGTCTCAAACAACCTGATGATGCTGACAGAGACTATGAAGATTTTTCTCGATGATGATTTCTTTATTTCTCAAATGAAAC
 TGATAAGATGTTGAGAATTAACCTGATGATAGGTTAATGAATGAATGATGAAATGATGAAAGAAAATGAAGAAGATGAAGAAG
 ATACAATTGAGCCAGAGCAAAATGTAATAATGCCTAGTGACGATGAGCTATTTGATTTAACTGATGCTGTTGAGACACGCTTAC
 60 TGTTTCTAGTGCTCCCATTTAGAGGCTGAATTTGCCGAAACACATTTGAGGAGCCTATCAGATACAGCACTGCGGCTGGTGA
 AATTAGAGGACATTTAGATAACAACTGGACGCTTTGTCTGTAACAGCTACAAGTTAGCATTACCGATGGCTCAAAAATTTGATT
 TGACAACGCATGCTATTCTATAGGTGAAAGCTTTAGTGAAGTATTAGCTGCTCATTATGAAGACAGAAAAGCAGAATCAGCTTT
 TTCTAAGAAAAGAGATTTACCTTCTATTGCTACTCCAGATGTTGTTATAGAGGAGTTAAGGCGCCTAGTCTCTTCTATTGGA
 AGTTCAAAAAGAGATGTTTCAGTTCTTATAGTCGGGAGCTAGGTATGGCAGTTGCAAAAAGAAAAATAGCCCTGCCACAAACG
 GGAGAGAGGTTCTTATTATCCAGTTTTACTTGGTTAATGATATTAGGATTAACGCCGATTATGATACCAAAGAAGATAAATAA
 65 TTAG

ES 2 330 334 T3

SPy1523

Sec. ID 64

5 ATGGCAAAAGATAAAGAGAAACAAAGTGATGACAAGCTGTTTTGACAGAGTGGCAAAAGCGTAACATTGAATTTTTAAAGAAAA
AGAAGCAGCAAGCTGAGGAAGAAAAAACTCAAAGAGAAATTATTGAGTGATAAAAAAGCGCAGCAGCAAGCTCAAATGCTT
CTGAAGCGGTTGAGCTTAAAAGTATGAGAAAACTGATAGTCAAGAAATGAGTCAAGAAACGACGTCAAAACCTAAAAACCA
AAAAAGTTAGACAACCCAAGGAAAAAGCGCGACACAAATCGTTTTCAAAAATCCTTGCCTGTTCTTTGGGGGCGCTCTTACT
CATGGCGGTGTCTATTTTTATGATCACTCCTTATAGCAAAAAGAAAGAGTTTTCTGTAAGAGGAAACCATCAAACGAACCTTGAC
10 GAATTAAATCAAAGCTAGCAAAGTCAAAGCATCTGACTATTGGTTAACGCTGTTAACTTCGCCTGGTCAGTATGAACGACCGATT
TTCGTAATCCATGGGTGAAATCTGTACATCTCTTACCAATTCCTAATCACTTTCTATTTAACGTTATTGAATTTGAAATCA
TCGCTTATGCACAAGTTGAAAACGGTTTTAGCCCTATTTGGAGAATGGAAAACGTGGGACAAGGTCAGGGCATCAGAAGTAC
CGAAATCTTTCTGATTCTAATTTAAAAGATGAGAAAGCGATCCAACAGTTAGTTAAGCAATTAACGACATTACCTAAAAATTA
GTCAAGAATATCAAGTCAGTGTCTCTTCAAATTCAAAACGACAGCGGATTTACTACTTATTGAAATGCATGACGGTAATGTAG
TTAGAGTACCGCAGTCACAACACTCACATTGAAACTTCCCTATTATCAAAAATGAAAAAAACCTTGAAAATGATAGTATAGTGGAT
15 ATGGAAGTGGGAATTTATACTACAACACAGGAGATTGAAAATCAACCTGAAGTTCCTTACGCCTGAACAAAACGCAGCTGATA
AAGAAGGAGATAAGCCTGGTGAACATCAGGAACAGACAGACAATGATTCAGAAAACGCCAGCAAATCAGAGTAGTCTCAGCAA
ACACCACCATCCCAGAAAACGGTCTCGAACAGGCCCATGGCTAG

20 SPy1536

Sec. ID 65

25 ATGAAAAGACTTAAAAAATCAAATGGTGGTGTAGTGGGTCTGCTAGCTTTAATCTCTTTGTTGCTAGCGTTATTTTTCCGCTACC
TTATTATATTGAAATGCCTGGAGGCGCTTACGATATTCGGACTGTCTTACAAGTCAATGGCAAAAGACAAACGAAAAGGAGC
TTACCAGTTTGTGCAGTGGCATTAGTCGTGCCAGCCTCGCTCAGCTATTATATGCTTGGCTGACACCGTTTTACTGAAATAGT
ACAGCAGAAGATACAACAGGCGGATACAGCGATGCTGATTTCTTCGAATTAATCAATTTTACATGGAAACATCACAAAATGCAG
CTATTATCAAGCTTTATCCTTAGCTGGAAAACAGTTACATTAGATTATAAAGGCGTATATGTTTTAGACGTAACAACGAATCT
ACTTTTAAAGGAACGCTACACTTAGCAGATACTGTAACAGGTGTAATGGTAAACAGTTTACTAGTTCAGCAGAACTTATTGACT
30 ATGTTTCTCACCTAAAAGTGGGGATGAAGTTACGGTTCAGTTTACGAGTGATAATAAGCCTAAAAAGGAGTTGGCCGTATTAT
CAAAGTAAAAATGGGAAAAATGGGATTGGCATTGCCTTACTGATCATACAAGTGTCAATTGAGAAACACAGTGATCTTTAGT
ACTAAAGGAGTAGGAGGACCTAGTCTGGTCTAATGTTTACTCTTGATATATATGATCAAATAACTAAAGAAGATTTACGCAAGG
GCCGTACAATTGCAGGTACAGGAACCTATTGGCAAGGATGGCAAGTGGAGATATTGGTGGTGCAGGTCTTAAAGTAGTTGCA
GCAGCTGAAGCTGGTGCAGATATATTTTTGTTCCGAATAATCCTGTTGATAAGGAAATTAAAAAAGTTAATCCAAATGCTATAAG
TAATTACGAAGAAGCCAAACGGGACGCCAAACGACTAAAGACCAAATGAAGATTGTTCTGTTACGACTGTTCAAGAGGCACT
GGTTTATCTTCGCAATAA

35 SPy1564

Sec. ID 66

40 ATGTTGGAACACAAAATTGATTTTATGGTAACCTTGAAGTGAAGAAGCAAATGCAAATGGTGATCCCTTAAATGGAAACATGC
CTCGTACAGATGCCAAAGGATATGGTGTGATGAGTGTCTCCATTAACGTAAGATTTCGTAATCGTTTGAAGATATGGGGA
AGTCTATTTTTGTGCAAGCTAATGAGCGTATTGAAGATGATTTTCGTTCACTGGAAAACGCTTTTCGCAACATTTTACAGCTAAG
ACACCTGACAAAGAAATTGAAGAAAAAGCAAATGCATTATGGTTTGTGTTTCGTTGTTGGACAAGTTTTACTTATCTGAAAAA
45 ATCAATTGGGGTGCCTGGACCAAGTTCCATCAGTATGGCTAAGTCTTGGAGCCAATTGTCATTTCCAGCCTTCAAATACGCG
TAGTACCAATGGTATGGAAGCTAAGAATAATAGTGGCCGCTCTCTGATACGATGGGACAAAACATTTGTAGATTATGGTGTG
TATGACTTAAAGGTTCTATCAATGCTTATTTTGTGAAAAGACTGGTTTTCTCAGGAAGATGCTGAGGCTATTAAGAAAGTTTT

50 GGTTAGCTTGTGTTGAAAATGATGCGTCTGACGCTCGGAAAGGCTCTATGCGAGTTTGTGAAGTCTTTGGTTTACGCATTC
AAGCAAATGGGAAATGTTTCAAGTGCCTGCTCTTTGACTTGTAGAGTATCATCAATCAATAGAAAGAAAAAGCACTTATGAC
GCTTATCAGATTCATCAATCAAGAAAAATTGGCTAAATATGAAGCGAAAGGTTAACGCTTGAATCCTAGAAGGACTCTAG

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy1604

Sec. ID 67

5 ATGGCAACTAAAAAGTACATATTTTACACAGTCACTGGGATCGCGAGTGGTACATGGCTTACGAACAACACCACATGCGT
 CTGATTAACCTAATAGATGACCTGTTAGAAGTTTTTCAAACGGATCCTGATTTTCATAGTTTCATTTGGATGGGCAAACCATTAT
 CCTAGATGATTATTTAAAAGTACGCCCGAACGAGAACCTGAGATTAGACAAGCCATTGCTTCGGGAAAACTCCGTATCGGACC
 TTTCTATATCTTACAGGACGATTTTTGACCAGCAGTGAATCCAATGTGCGCAATATGCTGATTGTAAGGAAGATTGTGACAGA
 TGGGGCGCTAGTGTGCCACTTGGTTATTTTCTGATACCTTTGAAATATGGGACAAACACCACAGCTGATGTTAAAAGCCGCGC
 CTACAAGCTGCTGCCTTTGGTCGTGGCATTCTCCAACCTGGATTTAAACAATCAGGTGGATACCAGTGAAAAATACAGCTCCCAA
 10 TTCTCTGAAATCAGTTGGCAAGGCCAGATAACAGTCGATTCTTGGACTCCTCTTCGCCAAGTGGTACAGCAATGGCAATGAG
 ATCCCGACAACAGAAGCTGAGGCGCGTCTTTTTGGGATAAAAAAAGTCTGATGCCGAACGCTTCGCCCTCAACCAAGCACCTT
 CTGATGATGAACGGGTGTGATCATCAACCCGTACAACCTTGATGTCAACCAAGGCAATCGCCTTAGCCAACCAACTCTATCCTGAC
 TACGAATTTGTGCATTCTGCTTTGAAGATTACTTGGCTGATCTCGCAGATGATTTACCAGAGAACCCTTTCAACCGTCCAAGGAG
 AGATTACCAAGTCAAGAAACCGATGGCTGGTATACCCTAGCTAACACGGCTTCTGCTCGTATTTACCTCAAACAGGCTAATACCA
 GAGTCTCTCGCAACTCGAAAACATCACCGAACCCCTTAGCAGCAATGGCTTATGAGGTAACAAGTACCTACCCTCAGACCAAC
 15 TCGGTTACGCTTGGAAAAACCTCATGCAAAATCACCCCTCATGATTCTATCTGTGGTTGTAGTGTGATAGCGTTCATCGGGAAAT
 GATGACGCGCTTTGAAAAAGCCTATGAAGTCGGACACTATTTAGCAAAAGAAGCTGCTAAGCAAATTTGCTGACGCCATTGATAC
 CAGGGATTTTCCAATGGATAGCCAACCCCTTCTGCTTATTTAATACCAGCGGCCATTCCAAAACAAGTGTGCTGAGCTCAGCCT
 GACCTGGAAAAATATCATTTTGGCCAACGCTTTCCTAAAGAGGTTTACCAAGAAGCTCAAGAATATTTGGCAAGACTCTCCCAA
 TCTTTCCAAATTTATTGACACTAGTGGAAGTGAAGACCCGAAAGCAAAATTTAGGCACAAGCATCGCTTTTACTACGATTTGC
 CCAAGAGATCCTTCCGCGAACCTTATTTCCGCATCAAAGTGAAGTACGGCTACCAATAACTCTCCAGCCATGTCTTGGAAAA
 20 CCTTAGCATTAAAGCTAGGAAATGAAACAACCTTCCAGAAAACCGTTTCCCTCTACGATGACAGTAATCAGTGCCTTGAAAAATGG
 GTTTCTAAAAGTTATGATACAAACCGATGGTCTGCTAACCATCACCGATAAACAATCTGGACTAATCTATCAAGACCTGTTGCGG
 TTTGAAGATTGTGGCGATTTGAAATGAATATATTTCTCGCCAGCCAAATCATGACCAACCTTTCTATGCGGATCAAGGGACCA
 TCAAGCTTAACATCATTAGCAACACCGCTCAAGTTGCTGAACCTGAAATCCAGCAAACCTTTGCCATTCTATCTCCGCAGATAA
 GCTCTTACAGGCTGAGATGGAGGCTGTCAATTGACATCACAGAACGCCAAGCAAGACGTTTCAAGAAAAAGCTGAGCTAACCT
 TAAACAACCTTATCCGCATGGAGAAAAATATCCTCGCTCCAAATTCACCACACGTTTTGATAACCAATGACTAATCATCGCTT
 25 GCGCGTCTATTCCCAACGCACCTTAAAACAGACCATCATCTAGCTGACAGTATTTTTGAAACTGTCAAACGTCCAAATCATCCA
 GATGCCACCTTTTGGAAAGATCCAAAGTAAACCCACAGCACAAGAATGCTTTGTGAGTCTCTTTGATGGTGAAGATGGAGTCACT
 ATTGGTAACTATGGCTCAACGAATATGAGATCTTACCAGATACCAACACCATTGCCATCACTCTTACTGTTCTGTTGGCGAAA
 TGGGCGACTGGGGTTACTTCCCAACACCTGAAGCCAGTGTCTTGGCAAAACACAGCCTTTCTTATAGTTTTGAAAGCATCA
 AGCAAACACAATTTGCCAGCTACTGGCGAGCTCAAGAAGGCCAAGTCCCTGTTATTACCACACAAACAAACCAACAGAGGGAA
 CATTAGCCCGAGAATATAGCTATTTGACGGGTACAAACGACCAAGTTGCCCTCACAGCTTTCAAACGTCGCTTAGCAGACAATG
 30 CCTTATCACGCGCAGCTATAATCTCTCAAACGATAAAAACCTTGTGACTTTAGCCTAAGCCTGCCAAACTACAATGCCAAGGTCAC
 TAATTTGTTAGAAAAAGACAGCAAGCAAGCACACCCAGCCAACCTTGGCAAAGCGGAAATTTTAACTCTAGCTTGAAGAAACA
 ATAA

SPy1607

Sec. ID 68

40 ATGAAAATCACTAAAATTGAAAAGAAAAACGCCTCTACCTTATCGAATTGGATAATGACGAATCCCTTTATGTAACAGAAGATAC
 TATTGTTGCGTTTTATGTTGAGTAAAGATAAAGTCTTGTACAATGATCAGCTTGAAGACATGAAACATTTTGGCCAACCTGCTAC
 GGCAAAAATTTAGCCCTTTATTTTCTTTTCTTTCAAACAACGCAGCAACAAGCAAGTTGCTGATTACCTGCGCAAGCATGAGATTG
 AAGAACACATTATTGCTGACATCACTCAACTCCAAGAAGAACAATGGATAGACGACACCAAAATTGGCTGATACCTACATTTCG
 CCAAAAACAGTTAAATGGTATAAAGGTCCTCAAGTCTTAAAACAATAATTTTCAAAAAGGCATTGCAAGTCATGACATTGATC
 CTATCTTATCTCAAACCTGACTTTAGCCAACCTGCTCAAAAAGTAAGCCAAAACCTCTTGTACAAATATCAAGAAAAATTTGCCACCA
 AAAGCCTTGAAAGATAAAATCAACCAAGCATTACTGACCAAAAGGCTTTTCATACGATCTAGCTAAACATAGCCTCAATCACCTTA
 45 ATTTTGACCAAGATAATCAAGAAATAGAAGATCTTCTGACAAAGAATTAGACAAACAATATCGTAAACTCAGTCGCAAAATATGAT
 GGTTATACCTTAAAGCAAAAGCTCTATCAGGCTCTTACCAGAAAGGCTACAACAGCGACGACATTAATTGCAAGTTAAGAAATT
 ATTTATAG

SPy1615

Sec. ID 69

55 ATGATCTGTCTACTATGTCAACAAATTAGTCAAAACACCAATAAGTATTACAGAAATCATCTTTTTAAGACGTATCTCTTACCAGATT
 TGTCAACAATGTCAAAAAGCTTTCAAAGATAGGAAAAAGTGTGTTGTCGACATGTTGTGCAAACTCAGATATAATAGCTTGTG
 GAGATTGTCTAAAATGGGAAAACAAAGGATACAATGTAATCATAGAAGCTTATATTGTTATAATGCTGCTATGAAAGCATACTTC
 AGTCAATATAAGTTTCAAGGAGACTATTTTAAAGAAAAGTTTTGCGAGTGAACCTTCCCGATGTTATCACCAAGTACTATAAAGG
 CTATATCCCAGTCCCGGTTCTGTAAGTCCCGGTTGTTTTGAGAAAGACAATTAATCAAGTGAAGGCTATTCTTGGGCGAGCT
 AATGTTAGTACCTTTCTCTTTTTGAAAAGCTAGATAACTACCAATCTTCCAGAACAATAAGAGAGATTATTAGTAGAAAA
 ATCTTATCGACTACTAAAAGTATCAACATTCCTGATAAAAACCTTATAGTAGATGATTTTATACTACTGGTAGTACAATATCGC
 60 TCTTAGAAAAACAAATTTGGCTAAAGTAGCAAAATAGTACATTAAGGTTTGTCAATTGCACGTTAA

65

ES 2 330 334 T3

SPy1666

Sec. ID 70

5 ATGAAATCCTTTTCTCTACTTTTTTCATTTCTAAACCTTTTGAAGTATGGTACAATTAAGTTATGACAAAAGAATTTATCACAGTG
 ACCGTACTCCTTACGAAACAGTGGACATGCTTGACATAAAGCCTGATGGGATTTATGTTGATGCGACGCTAGGTGGCTCAGGC
 CACTCAGCTTATTTGTTGTCCAAACTTGGTGAAGAAGGGCACCTCTATTGTTTTGACCAAGACCAAAGGCTATTGACAATGCAC
 AAGTTACCCTCAAATCTTATATTGACAAAGGACAGGTAACCTTTTATAAAGATAATTTAGACACCTCAAAGCACGTTTAAACAGCG
 CTTGGAGTTGATGAAATGATGGTATCTTATATGACCTTGGTGTTCAGCCCGCAATTGGATGAAAGAGAACGAGGGTTTTCTT
 10 ATAAACAAGATGCTCCATTGGATATGCGCATGGATCGTCAGTCGCTTAAACAGCTACGAAAGTGGTGAATACCTATCCATTCAA
 TGATTTGGTTAAGATTTTTTCAAATATGGTGAAGATAAATCTCCAAGCAGATCGCTCGAAAAATTGAACAAGCAAGAGCTATTA
 AGCCTATTGAGACAACAACAGAGTTGGCAGAATTGATTAAGGCAGCAAAGCCAGCTAAAGAGTTGAAGAAAAAAGGCCACCCT
 GCTAAACAGATTTTTCAAGCTATTCGCATTGAAGTCAATGATGAATTGGGAGCGCCGATGAATCTATTGAGGACGCTATGGAAT
 TATTAGCCCTGATGGTCGTATCTCAGTTATTACCTCCATTCTCTGGAAGATCGCCTAACCAAGCAGTTGTTTAAAGAAGCTAG

15

TACGGTGGATGTGCCAAAAGGGCTTCTCTAATTCCTGAAGATATGAAACCTAAGTTGAACTTGTTCACGTAAGCCGATCTTA
 CCTAGTCATTGAGAGTTAACAGCTAATAAAAGGGCACACTCAGCCAAGCTACGTGTTGCCAAAAAATTCGGAAATAA

20

SPy1727

Sec. ID 71

25 GTGACAACGACGGAAACAAGAACTTACCTTGACTCCCTTACGTGGGAAAAGTGGCAAAGCTTATAAAGGCACCTTATCCAAATGGG
 GAATGTGCTTTATAAAATTAATACGACCCCTATTCTACCTGCTTAGCAAAGAACAGATTGCGCCACAGTTACTTTGGGCCA
 AACGCATGGGCAATGGTATGATGAGTGCCCAAGAATGGCTAACGGCCGTACATTGACCAAAGAAGATATGAACAGTAAG
 CAAATCATTCAATTTCTATTGCGCTTCACAAATCTAAAAATFAGTCAATCAACTGCTTCAGCTCAATTTAAGATTGAAAAACCA
 TACGATTTATTGGTTGATTTTGGCAAAATGCACCTTGCAAATTCAGCAAATTCATACTTACAGCTATCGTTAAAGAATTA
 30 ACGGAGCTTACCAGAGTTCAAATCAGAAGTAGCAACGATTGTGCATGGAGATTTAAACATAGCAATTTGGGTGATTACTACTAGT
 GGTATGATTTTTTAGTAGATTGGGATTCTGTTCTGCTAACTGATCGGATGTATGATGTTGCTTACCTGTTGAGCCACTATATTCC
 ACGGCTCTCGTTGGTCAGAATGGCTGTCTTATTATGGCTATAAAAAATAATGACAAGTTTATGCAAAAAATTTATTTGGTATGGTCAAT
 TTTCTCACCTGACACAAATCTCAAGTGTGTTTGAACAAGCGTGACATGGAGCATGTGAATCAGGAGATTTATGCCCTCAGAAAAAT
 TAGAGAAATATTTAGAAAAGAAATAA

35

SPy1785

Sec. ID 72

40 ATGATATTAACAGCTCCTATGTCCAACCTAAAGGGATTTGGACCAAATCAGCAGAAAAATTCAGAAATTAGATATTTATACAGT
 AGAAGATTTACTGCTTTATTATCCGTTTCGCTATGAAGATTTTAAATCAAATCTGTTTTGATTTAGTGGATGGTAAAAAGCAG
 TCATTACAGGCTTAGTCGTTACTCCAGCTAATGTACAATATTATGGTTTTAAACGTAACCGTTTTAAGTTTCAAATTCGCTCAAGGG
 GAAGCTGTCTTAAATGTTAGTTTTTAAATCAACCCTATTTAGCTGATAAAATAGAACTTGGTCAAGAGGTAGCTGTTTTGGTAA
 45 ATGGGATGCCACTAAATCGGCTATTACTGGGATGAAGGTTTTAGCTCAAGTTGAAGATGACATGCAACCTGTTTATCGCGTAGC
 TCAGGGAATTTACAGTCTACTTTGATTAAGCTATTAAGTCAGCTTTTAAAATCGATGCGCATTTGGAATTTGAAGGAAAAATTTAC
 CAGCTACTTTATTGGAAAAATACCGATTGATGGGTCGTAGTCAGGCTTGTAGCTATGCATTTCCCAAAGATATCACAGAGTA
 TAAGCAAGCGCTCCGTCGGATTAATTTGAAGAATTTTACTTTCAAATGAACCTTCAAGTTTTGAAAGCCGAAAAATAAATCTG
 AAACAAATGGTTTGCCTATTCTTTATAGTAAACGTGCTATGGAGACAAAGATTTCTCTTTACCTTTTATTCTAACGAATGCTCAA
 50 AAGCGCTCTTTAGATGACATATTATCTGATATGTCATCGGGAGCTCATATGAATCGTTTTATTGCAAGGAGATGTAGGATCAGGAA
 AGACAGTCATTGCTGGTCTATCAATGTATGCAGCTTATACAGCAGGTTTTCAATCGGCTTTGATGGTCCAAACGGAAATCCTAGC
 TGAACAACACTACATTAGTCTGCAAGAGTTATTTCCAGATTTATCAATCGCTATATTAACCTCGGGTATGAAAGCAGCTGTCAAG
 CGTACGGTTTTAGCAGCTATTGCAAATGGCTCGGTTGATATGATTGTAGGAACCTCATGCTCTTATCCAAGACTCGGTACAGTACC
 ATAAACTGGGGCTTGTCAATTACAGACGAGCAACATCGTTTTGGTGTAAACAGCGTAGAATTTCCGTGAAAAGGGAGAAAAATC
 CTGATGTTTTAATGATGACAGCCACCCCAATCCCGAACTCTAGCAATCACAGCTTTTGGAGAAATGGATGTTTCTATTATTGA
 55 TGAATTACCTGCCGGTCTAAACCTATTATGACACGCTGGGTGAAACACGAGCAGCTAGGTACTGTGTTGGAATGGGTAAAAG
 GTGAATTTGCAAAAAAGATGCTCAAGTGTATGTCATTTCACTTTGATTTGATTTGATTTGATTTGATTTGATTTGATTTGATTTGATTT
 ATTGCATGCTGAATTATCTACTTATTTTTGAAGGAATTGCTAAGGTTGCTCTTGTACATGGACGTATGAAAAATGATGAAAAAGATG
 CTATAATGCAAGATTTCAAGGATAAAAAAAGTCATATTTAGTATCCACAACAGTTATTGAAGTAGGGGTAATGTCCCAAATGCA
 AATCATACGCTGTTTTAGTGGCTAATCCCAAACCTGATTCGGGGAAAAAACGAATGACAATCATGACAGAAACGACAGATGGTTT
 60 CGTTTTAGCTGAGTCGGATTTAAAAATCGCTGGTCTGGTGAATCTTTGGTACTCGTCAGTCTGGAATTCAGAAATTTCAAGTA
 GCTGATATCGTTGAGGATTATCCTATTTTGAAGAAGCACGCAAGTTTCTGCAGCGATTGTTTCTGATCCTAACTGGATATATG
 AAAAAACAGTGGCAATTAGTGGCACAAAATATTAGAAAAAAGAAAGTTTATGATTA

65

ES 2 330 334 T3

SPy1798

Sec. ID 73

5 ATGAAAAAATCAGCAAATGTGCGTTTGTGGCAATATCTGCCCTTGTCTCATTAGGCTACTCAAAGTGTAAATCACAAGAGC
 CTTTAGTTAGTTCAGTCACTCGTGCACACAGTACTTTAACTCAGGATAATCGACTTTTAGTTGAAGAGATAGGCCCTTACGCTAG
 TCAATCAGCTGGAAAAGAGTATTATAAACATATTGAAAAGATTATTGTTGATAATGATGTCTATGAAAAAGCCTGGAGGGCGAG
 CGAACCTTTGATATTAACACCAAGGGATTAAGATCAATGCTGACCTTATAAGACGGTAAGCATGAATTGACTATTGTAATAA
 AAAAGATGGTGATATCCTAATTACCTTTATTA AAAAGGGCGATAAAGTACCTTTATTTTCAGCTCAAAAATTAGGAACAACAGATC
 ATCAGGATTCATTA AAAAAGATGTGCTCAGTGATAAAACAGTGCCACAAAACCAAGGCACACAAAAGTTGTTAAATCTGGGAA
 10 AATACTGCTAATTGTCATTAATAACAAAATTGAGTCAAGAAGATGGTGCAATTTTATTTCCAGAAAATTGATCGTTATTCTGATAA
 CAAACAGATAAAAAGCATTGACTCAGCAAATCACAAGGTTACAGTCAATGGTACAGTTTATAAAGATCTTATTTTCAGATTCTGTAA
 AAGATACTAATGGCTGGGTCTCGAATATGACAGGGCTTCATCTTGGAAACAAAAGCTTTCAAAGATGGAGAAAATACAATCGTGAT
 ATCCTCAAAGGATTTGAAGACBTACTATTACCGTTACCAAGAAAAGATGGTCAAATCCATTTTGTATCTGCCAAAACAAAACAAC
 ATGTGACTGCTGAAGACAGACAATCAACAAAAGTTGGATGTCACCACCTTTGGAAAAGCTATCAAAGAAGCGGATGCGATTATTG
 CTAAGAAGAACCAAGACGCGGTCAAAGATCTGGCTGAGAAAACCTCAAGTCAAGGATCTTACAAGAAGAAATCAAAGATA
 15 GTAAGCTACTCGCCGATACTCATCGACTGTTAAAAGATACCATCGAGTCTTATCAAGCAGGTGAGGTTTCTATTAACAATCTCAC
 AGAAGGAACCTATACGCTAACTTTAAAGCTAATAAAGAAAACCTCAGAAGAGTCCCTCATGCTTCAAGGTGCTTTTGATAAAAAGA
 GCCAAATTAGTGGTTAAAGCAGATGTAACAATGGAAATTTCCATGCTTAAACTGCTTTGGGACAATTTTATTGACTTTTCTAT
 TGAAAGCAAAGGGACCTACCCAGCAGCAGTGCCTAAACAAGTTGGCCAAAAGATATCAATGGTAGCTATATTCCAAGCGAATT
 TACCATGCCTATTGATGATTTGGATAAATACACAAGGTTGCTGTTTTGGTATCAGCCATGGGAGGTCAAGAAAAGTATTTAAAC
 CACTATGACAAAATACCCAACCTTGACATGACCTTTAGTAAAGACCGTTACCAAAGCCTGGAGTGGTTATCAGGTAGAAAACGAT
 20 GATAAAGAAAAGGGGTTGGGACTGACGCTTGA AAAAGTTTTAGTTAACTTGGCAAAGATTTAGACGGCGATGGTAAATTAT
 CAAAACCGGAATTAGAACAGATTGAGGGCAGTTGCGTCTAGACCATTACGAGTTAACTGATATTTCTTTATTGAACATGCTAA
 AAATATTACAGAACTACATCTGGATGAAAACCAAAATACGGAAAATCCAAAAGAGTTATTTAGTCAAATGAAGCAACTCGATTTC
 TTAACCTAAGAAGTAATCATTTAATCTATCTAGACAAAAGATACATTTAAAAGCAATGCTCAATTAAGAGAACTCTACTTATCAAGTA
 ACTTTTACTCTCTTTGAAGGAGGACTATTCCAGTCTGCTTATCACCTGGAGCAACTTGATCTTTCCAAGAATCGTATTGGCCG
 ACTTTGTGATAACCCATTTGAAGGATTGTCTCGTCTGACTTCAATAGTTTCCGAGAAAATAGTCTTGGAGAGATACCTGAAAAA
 25 GCGCTAGACCTCTAACATCTAATTTTATCGACTTATCTAAAATAATTTAGCACTACTGCCAAAAACATAGAAAAATTTGCG
 CGCCTTAAGCACTATTGTGGCAAGTGA AAAATCATATTACTCGTATTGATAATTTTCAATTTAAAATCTTCTAAATTATCTGACT
 CGATTTATCAACTAATGAAATTTCAAATCTTCAAATGGTATATTTAAACAGAAATAACCAATTAACAAAACCTTGATTTTTCAATAAC
 TTGCTTACTCAGGTTGAAGAATCAGTATTTCCAGATGTTGAAACGCTTAATTTAGATGTGAAGTTCAATCAGATAAAAAGTGTGAG
 TCCAAAAGTAAGAGCTCTTATCGGACAACACAACTGACTCCACAAAACATATTGCAAAAACCTGAAGCTTCTTAGATGGCGAA
 AAAATAAAATATCATCAAGCTTTGAGTCTTTTAGATTTGATTTATTGGGAGCAAAAACAAATTTCTGCCATTGATAAAGAAGTATG
 30 GTCTGTTGAAGAATATCAACAATTGTTACAAGAAAAGGTTGAGATACGGTTTCTTACTTAAATGATATGCAAGTCCGATTGGAGTA

TTGTGATTGAGTTGCAAAAAAAGCTTCCAATGGACAGTATGTGACGGTTGACGAAAAGCTTCTCTCAAATGATCCGAAAAGATGA
 CTTAACGGGAGAGTTTCTTTAAAAGATCCAGGTACATATCGGATTGCGAAAAGCTTTAATAACAAAAGAAATTTGCTACTCAAAAAG
 AACATATCTATTTGACATCTAATGATATCCTTTGGGGCAAGGACCACATTACATCAGAAAAGATTTAGTTGAGAACGGCCTTAG
 35 AGCATATAAATCAAAAACAATTTGCGTATGGTATTTACTTTAAATGCCAGCATGTTAAAACCTGACTTAGCATCTGATCCATGT
 CAAAACAAGGCTATTAATCATCGAGTACTTTGGTAGTTAAAAGGTTGTTTCTATTTAGAAGTTGAGTTTAGAGGTATAAAGGTT
 GGTAAAATGTTAGGCTACCTTTGGTGAATTTGAGCTATTTCTAGATGGTTACCAAAGAGATTTAGCTGGTAAACCAAGTTGGTGGAA
 CAAAAGGCAAGAGGTTGTGCTTATTTACGGATGTAACCTGCCATACCATTGGCAGATCGTTATGGAAAACCAATCCAAAAGT
 GCTGCGTATGAAATGATTGAACAAGCGAAAGAAAGACGGACTTTGTGCCATTACAGGTCTTTGTGCTTATCATGGATGCCATTTT
 AAAAGGGTCTGGCCTTCAAACCGTTTTTATGCGTTTAGACTGGGCAAGCCTTACAACAGAGAAAGGCAAAAGGTTGCAAGAAAAC
 TAATAATCCACAAGAAAATAGCCATCTAACTTCAACAGATCAGTTGAAAGGACCTCAAATCGTCAACAAGAAAACACCTACA
 40 AGTCTCTTCAAGCAGCTACTGGTATTGCAACTTAACTGATCTCTGGCTAAAAGAAAGCAACCGGCAATCAAGAAAACCT
 CTAAGACAGATGATACTGATAAGGCAGAGAAATGAAGCAGTTAGTGCCTGACCATCAACATCAATTGAAGGTA AAAACAGCAA
 AAGATACTAAGACTAAAATCTGATAAGAAACATCGTTCCAATCAACAATCAAATGGTGAAGAAAGTAGCTCTGTTATCACTTA
 ATTGACAGTCTATCTAGCTTTATGATCGTAGCTCTGGGATTCAATTATTGGTCAAGAACATTATTTAAATAA

SPy1801

Sec. ID 74

50 ATGAATAAAAACAACTATTAAGAGTTGCCATGCTACTAAGTCTCTTAGCCCGACAGCAGAAAAGCATGACAGTCTGGCTCAA
 GATGTAATGCTTGAGACGCATAAAGCAACTACAAATGAAACCAGTGATTCTTCTCAAAGAGGAAAATAATAAAAATCGACAC
 CTACAACATCAGATAAAAAGTACCAAGGTCCTTATGATGCTTGCAGAAAACAAACTCTAATAGTCTTGTAAACCGGGATGATAA
 AAAAAGAAAGCGATTCTAGTCACTGCTATAGGCTCTTGGGACAACAAGGCAGAAAGCAGAAAACCAAGGTAGATGATAAATCAAC
 TGATCATTGCAAAATCAACTGATCATTGAAACCAACTGACCAGCCCAACCATCACCATCTAAAGTTGATACGGCACCTGCTTCT
 55 TCATTGTCGAAAACCACTGCCAGAGCAAGAATCCTATTCACTGCTGTGTCCTTACGATCAGATTTAGATTTGAGTGAGATAG
 ATATCCCTTCTGTCAACACATACCGGGCATATGTAGAGCAATGGAGTGGTAAAAATGCCTATACCCACCATCTTTTATCTCGCCG
 TTATGGTATTAAGCTGACCAGATTGATAGTACTTAAAATCAACAGGCATTGCCTATGACAGCACAGTATTAATGGTGAAGAG
 CTATTGCAATGGGAAAAGAAAAGTGGGCTGGATGTTGCGAGCTATCGTAGCTATTGCGATGTCTGAGAGTTCTTTAGGAACTCAA
 GGGATTGCAACTTTGCTTGGAGCTAATATGTTGGCTATGCAGCTTTTATGATCTAGATCCGACTCAAGCAAGTAAAGTTAATGATG
 ATAGTGTATTGTCAAATGACACAAGACACCATTATTA AAAACAAAATAGCAATTTTGCCTTCAAGATTTAAAAGCGGCTAAG
 TTTTCAGGAGGTCATTAACCTTTGCAAGTGAAGGGGGTGTATTATTACTGATACTACTGGTAGTGGTAAACCTGCGCACAAA
 60 TTATGGAAGACCTGGATAAGTGGATTGATGACCATGGTGGCACACCAGCCATTCAGCCGAATGAAAGTGCAGTCAACGCTA
 GTTTTGCATCTGTCCAGCAGGTTATAAGCTCTAAGAGTTATGATGCTTGGGTTATCAAGCTTCGAGTTATGCTGGGACA
 ATGCATTTGGTATGTATAATCGCGCCAAAAGAAATGGGTTACCAATTTGATCCTTTTATGGGAAATGGTGGAGATTGGAAGTAT
 AAAGTAGGGTATGCCCTTTCAAAGACTCCAAAAGTAGGTTATGCTATTTCAATTTGCACCAGGGCAAGCGGGCGCTGATGGCACT
 ATGGCCAGCTATCAATTTGTAAGAAGATGTTAAGAAGATGGGTTACTTCTTATTTTCAGAGTCTAACTGTATCGGCTTAGGTAAGA
 65 TTTCTTATCGTACCTTTACAGCTCAGCAGGCTGAACAGCTAACATATGTTATTGGCAAGAGTAAAACATAA

ES 2 330 334 T3

SPy1813

Sec. ID 75

5 ATGGATAAACATTTGTTGGTAAAAAGAACTAGGGTGTGTTTGTGCTGCAACGTTGATGGGAGCTGCCTTAGCGACCCACCAT
 GATTCACCTCAATACTGTAAAAGCGGAGGAGAAGACTGTTCAAGTTGAGAAAGGATTACCTTCTATCGATAGCTTGCATTATCTGT
 CAGAGAATAGCAAAAAGAAATTTAAAGAAGAACTCTCAAAGCGGGGCAAGAATCTAAAAGGTCAAAGAGATATTAGCAAAAAG
 CTCAGCAGGCAGATAAACAAAGCTCAAAGAACTTGCCAAAATGAAAATTCCTGAGAAAATACCGATGAAACCGTTACATGGTTCTCT
 CTACGGTGGTTACTTTAGAACTTGGCATGACAAAACATCAGATCCAACAGAAAAGACAAAAGTTAACTCGATGGGAGAGCTTCC
 TAAAGAAGTAGATCTAGCCTTTATTTCCACGATTGGACAAAAGATTATAGCCTTTTTGGAAAAGAAATGGCCACCAAAACATGTG
 CCAAAGTTAAACAAGCAAGGGACACGTGTCATTCTGACCTTCCATGGCGTTTCTAGCTGGGGGTGATAACAGTGGTATTGCA
 10 GAAGATACCAGTAAATACCCAAATACACCAGAGGGAAATAAGCTTTAGCCAAAGCTATTGTTGATGAATATGTTTATAAATACAA
 CCTTGATGGCTTAGATGTGGATGTTGAACATGATAGTATCCAAAAGTTGACAAAAAGAAAGATACAGCAGGCGTGAACGCTC
 TATTCAGTGTGGAAAGAAATGGGAAATTAATTGGACAAAAGGTGTTGATAAATCGCGTTATTTATTATGGATAGCACCTACA
 TGGCTGATAAAAACCCATTGATTGAGCGAGGAGCTCCTTATTAATTTTACTGGTACAGGCTATGGTTCACAAGGAGAGAA
 AGGTGGTTGGGAGCCTGTTTCTAATCGACCTGAAAAACAATGGAAGAACGATGGCAAGGTTATAGCAAGTATATTCGTCCTGA
 ACAATACATGATTGGTTTTCTTCTATGAGGAAAATGCTCAAGAAGGGAACTTTGGTATGATTAATCTCGCAAGGACGAG
 15 GACAAAGCAAATGGAATTAACACTGACATAACTGGAACGCGTGCCGAACGGTATGCAAGGTGGCAACCTAAGACAGGTGGGGT
 TAAGGGAGGTATCTTCTCCTACGCTATTGACCGAGATGGTGTAGCTCATCAACCTAAAAAATGCTAAACAGAAAAGAGTTAAG
 GACGCAACTGATAACATCTTCCACTCAGATTATAGTCTCAAAGGCATTAAAGACAGTTATGCTAAAAGATAAGTCGTATGATC
 TGATTGATGAGAAAGATTTCCAGATAAGGCTTTCGAGAAAGCTGTGATGGCGCAGGTTGGAACCAAGAAAGGTGATTGGAA
 CGTTTCAATGGCATTACGATTGGATAATCCAGCGATTCAAAGTTTGAAGGTCTAAATAAATTTAAAAAATTAGCTCAATTAGA
 CTTGATTGGCTTATCTCGCATTACAAGCTCGACCGTCTGTTTACCCTAATATGAAGCCAGGCAAAAGATACCTTGGAAACA
 20 GTTCTTGAACCTATAAAAAGGATAACAAAGAAAGAACTGCTACTATCCACCAGTATCTTGAAGGTTTCTGGTTAACTGGTC
 TGAAGAATTAGATTTGTCAGGTTTTGACCGTGAACCTTGGCTGGCTTGGTATGCGGCTACTCTAACGCTTTAGAAAAAGTTGA
 TATTTCTGGCAACAACTTGATTTGGCTCCAGGAACAGAAAATCGACAAATTTTTGATACTATGCTATCAACTATCAGCAATCATG
 TTGGAAAGCAATGAACAACAGTGAATTTGACAAGCAAAAACCAACTGGGCAATACCAGATACCTATGGGAAAACATGCTGCG
 GCTTACCAGTGGCAATGAAAAGTTGATTTGCAAGCCAGCTTTTGGGACTGTGACAAATCAAGGAACCTAATCAATAG
 25 CGAAGCAGACTATAAGGCTTACCAAAATCATAAAATGCTGGACGTAGCTTTGTTGATTCAAATATCATTACAATAACTTTAAG
 TTTCTTATGAGAATACCGTTAAAGTAACTGATTCCACATTGGGAACCACTACTGACAAAACGCTAGCAACTGATAAAGAAGA
 GACCTATAAGGTTGACTTCTTAGCCAGCAGATAAGACAAAAGCTGTTCACTACTGCTAAAGTATTGTTGGTGACGAAAAACC
 ATGATGGTTAATTTGGCAGAAGCGCAACAGTTATTGGAGGAGTCTGATCCTGTAATGCAAGAAGGTTATTTGATGGGCAA
 CTGGGCAGTGAGACTGATAATATCTTTAGGATGGGATTCTAAGCAAAGTATTATTTAAATTGAAAGAAGATGGATTATAAA
 GCATTTGGCGTTTCTTCAATGATTAGCCCGAAATCCTGAGACAACCAATAAACCATTACAGGAAGCAAGTCTACAAATTTTTAAT
 30 ATCAAAGATATAATCTAGATAATTTGTTGGAAAATCCCAATAAATTTGATGATGAAAAATTTGGGACTGATGATACTTACAGT
 GCACAAGGAGAGAGAGCTACTGCATTCACTAATACATTAATAATTACTAGTAAATATTGGCGAGTTGCTTTGATACTAAAG
 GAGATAGATATAGTTCGCCAGTAGTCCCTGAACTCCAAATTTAGGTTATCCGTTACCTAACGCCGACACTATCATGAAAACAGT
 AACTACTGCTAAAGAGTTATCTCAACAAAAGATAAGTTTTCTCAAAGATGCTTGTGATGAGTTAAAAATAAAGAGATGGCTTTAG
 AAACCTCTTTGAACAGTAAAGTTTTGATGTAAGTCTGATTAATGCTAATGCTGGAGTTTTGAAAGATTGATTGAGAAAAGGCAG
 CTGCTAAAAAATAA

SPy1821

Sec. ID 76

40 ATGATTGAAGCAAGTAAAGCTTAAAGCAGGTATGACATTTGAAGCAGAAGGAAAAATTAATCCGTGTCTTGAAGCTAGCCACCAC
 AAACCAGGTAAGGAAACACTATCATGCGTATGAAACTACGTGATGTGCGTACAGGTTCTACTTTTGACACAACCTACCGCCCA
 GATGAAAAATTTGAGCAAGCCATCATTGAAACTGTCCAGCACAATACCTATACAAAATGGATGACACTGCTTACTTCATGAACA
 CTGACACTTATGATCAGTACGAAATCCAGTTGCTAACGTTGAGCAAGAATGCTTTACATTTCTGAAAACCTCAGACGTGAAAA
 45 CCAATTTTATGGAAGTGAAGTATTGGGGTAAAGGTTCCAACAACCTGTTGAATTGACCGTTGCGGAAACACAACCATCTATTTAA
 GGAGCGACAGTGACGGGTTGAGGAAACCTGCAACTCTTGAGACAGGACTTGTGTTAACGTTCCAGACTTTATCGAAGCTGG
 CAAAAACTAATCATTAACTGCAGAAGGTAAGTACGTTTTCTGCTGCTTAA

SPy1916

Sec. ID 77

50 ATGACTAAAACATTACCTAAAGATTTATTTTTGGTGGTGTACAGCTGCTTACCAGGCTGAAGGCGCTACCCACACAGATGGTA
 AAGGACCAGTAGCTTGGGATAAATACTTAGAAGACAACATTTGGTACACAGCTGAGCCAGCAAGTATTTTTATAATCGTTACCC
 55 TGTCGATTTGAAACTTAGTGAAGAAATTTGGTGTCAACGGCATCCGTATCTATTGCCTGGTCTCGTATTTTTCCAACAGGAAAA
 GGAGAAGTTAACCCCTAAAGGAGTAGAATACTACCACAATCTTTTGCAGAGTGTGATAAGCGTCTGTTGAGCCTTTTGTACAC
 TTCACCTTTTGTACCCAGAGCTCTCCACTCGGATGGTACTTCTCAATCGTGAAGCAATTTGAAATTTGTAATTTATGC
 AGAATTTTGTTTAAAGAATCTCAGAAGTTAACTATTGGACAACATTTAACGAAATGGGCCTATTGGTGTGAGCAATACTTAG
 TTGGTAAATTCCTCCAGGTATCCAATATGATCTTGTAAAGTTTTCCAATCACACCATAACATGATGGTCTCTATGCTGCTGCA
 60 GTCAAACCTTTAAAGATAGTGGTTATTCAAGTGAATGGTGTGTTGTCATGCACTTCCAACCTAAGTATCCATTTGACGCTAACAA
 TCCTGATGATGTTAGAGCAGCTGAACCTGAAGATATCATCCATAATAAATTTATCCTTGTGCTACTTATCTTGGTAAAGTATTCAG
 ATAAAACATGGAAGGTGTTAACCATATCCTTGAGGTGAATGGCGGTGAACCTGATCTTCGCGAAGAAGATTTGCCGCACTAG
 ACGCCGCAAAAGATTTGAATGATTTCTTGGTATTAACACTATATGAGTATTGGATGCAAGCTTTTGTGGTGAAGTGAATTTG
 CATTCACAATGGCAAGGTGAAAAAGGCAGCTTAAATACCAAAATCAAGGGTGGTGGTGAAGAAAAGCACCCGTTGATGTTCC
 AAAACGGACTGGGACTGGATTATCTTCCACAAGGCTTATATGATCAAATCATGCGTGTCAAAGCCGATTATCCTAATTACAAG
 AAAATTTACATTACAGAGAATGGCTTGGCTACAAGATGAGTTTGTAGATAAATCTGTCTATGATGGTGGACGATCGATTATGT
 65 GAAAAACACTTAGAATTTCTGATGCTATTTCTGATGCTAAAGTGTGCAAAATGTTAAAGGATACTTTATGGTCACTGATGGATGTCT
 TTTCTGTTGTTGCTATGAAAAACGTTACGGTCTTCTATGTTGATTTGAAACTCAAGAAGCTTATCCTAAGAAGAGTGC
 CTACTGGTATAAAAAGTAGCAGAAAACCAAGTATTGAATGA

ES 2 330 334 T3

SPy1972

Sec. ID 78

5 ATGAAAAAGAAAGTCAACCAAGGATCAAAGCGCTATCAATATCTGTTAAAAAGTGGGGGATAGGTTTTGTAATCGCTGCAACTG
GGACTGTCGTGTTAGGGTGCACCCCTAGTATCTTAAACACATCAAGTTGCTGCTAAAACCATTGTTGGACTAGCCCGCGATGAAG
CTCAACAAGGAGATGGCAATGCTAAATCTGGTATGGTCTTCAATCGTCTAGCAAGGAGGCCAAAACCAGTTTTAGACAGCTCGT
CAGCTAATCTGCTAGTATTGCTGAGCATCATTTGCGTATGCATTTAAAACATTGCCAGCTGGTGAAGTGCCTAGGAAGCTTGG
GACTTTGGGTGTTGGGGAGATGTGGATCAACCTTCAAAGGATTGGCCAAATGGTGCATCACCATGACAAAAGCGAAAAAGAT
10 GACTATGGCTATTATCTAGATGTGCCACTAGCAGCTAAACACCGCCAGCAAGTGTCTTATCTCATTAATAATAAGCTGGAGAGA
ATCTTTCAAAGGACCAGCACATCTCGCTTCTCAGCCAAAAATGAATGAAGTTTGGATAGACGAGAATTACCATGCGCACGCTT
AGATGTCAAAACCCCAACGACCGACTGGCCAAATGGACTTGACTTGCACATAAAGGGCATTATGGAGCTTATGTTGATGTCCC
CTTAAAAAGAGGAGCTAACGAAATCGGATTTTTAATCCTTGATAAAGTAAGACAGGAGATGCTATTAAGTGAACCAAAAAGAT
TATCTATTTAAAGAGTTAGACAATCATACTCAGGTTTTGTCAAAGACTGACCCAAAAGTTACAACAATCCTTATTATATTGAT
15 CAGGTTAGTCTCAAAGGAGCTGAACAAAACCGCCAAATGAGATTAAGGCCATTTTTACGACCTTAGATGGGCTTGATGAAGAT
GCGGTGAAACAAAACATCAAGATCACTGACAAAGCAGGGAAAACCTGTTGCAATTGATGAGTTGACACTTGACAGGGATAAGTCT
GTAATGACATTAAGGGTGATTTAAGCGCAAGGTGCAAGTCTACACGGTACATTTGGAGAAGTTAGCCAAGTCTGCTCGCCAA
TCTGGCAATTAAGAGATAAACTCTATGCTTACGATGGTGAACCTGGAGCTACCCTAGCTAAGGATGGTCTGTGATTAGCGC
TATGGTCTCCAAGTCTGATACTGTTAAGGTTGTCGTTTATGATAAACAAGATCAGACAAGGGTGGTGGTCAAGCTGATTTGAC
CAAGTCGGACAAGGGTGTGGAGAGCTCATCTAATCTGACAGTGTCAAGGGCATTAGTATTACACAGGCTACTATTACCT
20 TTATGAAATCAGCGCGGTGAGGAAAAAGTCAATGTTGGTCTTACGCCAAATCTCTCGCTGCTGGAATGATGCGACTGC
TACTGATGACATCAAAACAGCAAAAGCTGCCTTTATTGTTCCAAGCAACTAGGACCAACAGGCTTATTTGCCAAAATTAAC
AACTTTAAAAAGCGTGAAGACGCTATTATCTATGAAGCATGTGCGAGATTTACGTCAGATAAGGCTTAGAAGGCAAGTTAA
CACACCTTTTGGGACTTTTTGAGCTTTGTTGAACAGCTAGACTATCTCAAAGACTTGGGGTTACCCACGTTCAATTGCTACC
GGTTTTGAGTTATTTTTATGCCAATGAGCTGGACAAGAGCCGCTCAACAGCCTACACGCTTTCAGACAATAATTAACAACGGGGT
TATGACCCACAACACTACTTTGCCCTTCTGGCATGTATTCGGCAAATCCTAATGACCCTGCTTACGATCGCAGAGCTTAAAA
ACCTTGTCAATGAGATTCACAACCGTGGTATGGGTGTTATTTTATGTTGGTTTATAACCACACGGCTAGAACCCTATCTCTTTGA
25 AGATTTGGAACCCAACTACTATCATTTTATGAATGCTGATGTCAGCTAGAGAGAGTTTTGGCGGAGGCTGCTAGGAACGAC
ACATGCCATGAGTCGTCGATCTTGGTGGATTGATTACTTATCTGACTCGTGAATCAAGGTAGATGGTTTTGTTTTGACATG
ATGGGTGACCATGATGCGGCAGCTATTGAGCAAGCCTTAAAGGCAGCCAAAGCCATTAATCCAAATACCATTATGATTGGCGAA
GGCTGGCGTACTACCAAGGTGATGAGGGGAAAAAGAAATTCGGGCAGATCAAGATTGGATGAAAGCAACCAATACGGTCCGG
TGTTTCTCTGATGATACAGAAATACCCTCAAGTCAGGTTTTCCAAATGAAGGCACAGCAGCCTTTTACTGGTGGCGAAAA
AATCTAGAAGGTTTATTCAAACGATCAAAGCACAGCCTGGTAACTTTGAAGCAGATGCCCCAGGAGATGTAGTGCAGTATATT
30 GCAGCCATGACAACCTGACCTTACATGATGTCATTGCCAAATCCATCAATAAGGATCCTAAAGTGGCTGAAGAAGAGATTAC
AAGCTATTGCTAGGAAATACCATGATTTTAACTGCTCAAGGGACTGCCTTTATCCATTCTGGTCAGGAATATGGACGAACCA
AGCAGCTTCTAAATCCCGACTACAAGACAAGGGCTGATGACAAGGTGCCAAATAAGGGCAGCTCTGATTGATGCTGTAGCG
CAATACCCTTACTTCAACACGATTTATGATTGCTGATGCGGTCAATCATTTTACTGGGCAAAAGGCAACAGATCCATAG
CTCACCGATTAGCAACCAAAAGCCCTATACACAGGGACTAATTCGTTGCGTCTCAACAGATGCCTTTACAAAAGCAA
35 CCAAAGCTGAGGTAGATCGGGATGTGACCTTGAATCACCACAGGACAAGATGGTATTCAACAAGAGGACCTCATCATGGGT
TACCAACAGTGGCATCAAATGGAGATCGCTATGCTGCTTTGTCAATGCAGACAACAAGACCCGCAAGGTAGTTTTACCTCAA
GCCTACCGCTATTTGCTAGGAGCCAAAGTGTGTTGATGCTGAGCAAGCTGGTGTACTGCCATTGCTAAGCCTAAGGGAGT
CCAGTTTACCAAGAAAGGCTTGAATTTGAAGGCCTAAGTCCCTGGTCTCAAAGTATCCTCAAAGATATCCTCAAAGAGGCTCA
GCAAAAGAGTCAGACAGACAATCATCAAACCAAAACACCAGATGGCTCAAAGACCTAGACAAATCATTATGACTAGACCAAA
AAGAGCTAAAACAAACCAAAAGCTCCCAAAAACGGGTGAAGCCTCCTCAAAGGCTTATTAGCAGCTGGAATAGCTCTGCTTTT
40 ATGGCTATTAGCTGTTGATGAAGCGCCAAAAAGATTAG

SPy1979

Sec. ID 79

45 ATGAAAAATTACTTATCTATTGGAGTGATTGCACTGCTGTTTGCATTAACATTTGGAACAGTCAAGTCCGTCACAGCTATTGCTG
GGTATGGATGGCTACCAGACCGTCCACCTATCAATAACAGCCAGTTAGTTGTTAGTATGGCCGGTATCGTTGAAGGTACCGATA
AAAAAGTTTTATAATTTTTTGAATCGATCTAACATCAACCTGCTCACGGAGGAAAGACAGAGCAGGGGCTTAAGTCCAAA
50 ATCAAACCATTTGCTACAGATAAATGGCGCAATGCCACATAAACTTAAAAAGCTGACTTATTAAGGCTATTCAAAAACAGCTG
ATCGCTAACGTTACAGTAACGACGGCTACTTTGAGGTCATTGATTTTGAAGCGATGCAACCATTACTGATCGAAACGGCAAG
GTCTACTTTGCTGACAAAGATGGTTCGGTAACCTTGGCCACCCAACTGTCCAAGAAATTTTTGTTAAAGGGACATGTGCGGCT
AGACCATATAAAGAAAAACCAAGTACAAAATCAAGCAAAATCTGTTGATGATAGAATAACTGTACAGTTACTCCTTTAAACCCCTGA
TGACGATTTGACAGCAGGGCTCAAAGATACTAAGCTATTGAAAACACTAGCTATCGGTGACACCATCACATCTCAAGAATTACTA
55 GCTCAAGCACAAAGCATTTTAAACAAAACCCACCCAGGCTATACGATTTATGAACGTGACTCCTCAATCGTCACTCATGACAATG
ACATTTTCCGTACGATTTACCAATGGATCAAGAGTTTACTTACCATGTCAAATAACGGGAACAAGCTTATGAGATCAATCCTAAA
ACAGGTATTAAGAAAAAACGAACAACACTGATCTGGTCTCTGAGAAATATTACGTCCTTAAACAAGGGGAAAAAGCCGTATGATC
CCTTTGATCGCAGTCACTTGAACCTGTTCAACATCAAATACGTTGATGTCAACACCAACGAATTTGCTAAAAAGCGAGCAGCTCTT
AACAGCTACCGAAGCTAATCTGACTTCAAGATTTATACGATCCTCGTGAATAAGGCTAAACTACTCTACAACAAATCTCGATGCT
60 TTTGATATCATGGACTATACCTTAACTGAAAAAGTGAAGGATAATCAGGATAAGAAATAATCGTGTGCTTACAGTTTATATGGGCA
AGCGCCCTAAAGGGGCAAGGGTAGCTATCATTTAGCTTATGATAAAGATCTCTATACCGAAGAAGAACGAAAAAGCTTACAGCT
ACCTGCGTGATACAGGGACACCTATACCTGATAACCCCTAAAGACAATAA

ES 2 330 334 T3

SPy1983

Sec. ID 80

5 ATGTTGACATCAAAGCACCATAATCTCAACAACTAGTCTGGCGCTACGGGCTAACCTCAGCCGCTGCCGTCTTCTAGCCTTT
GGAGGCGGGGCAAGCAGCGTTAAGGCTGAGGTTTCTTCTACGACTATGACGTCGAGTCAAAGAGAGTCAAAAATAAAGAGAT
CGAAGAAAGTCTTAAAAATATCCAGAAAGTGTCCAATGAGAAATTTGGGAAAGAAAGTGGTATGGAACCTATTTAAAGAGAA
GATTTTCAAAGGAGCTAAAAGATTTACTGAGAAAGAGGCTTAAGGAGATTCTAGATTTAATTTGGTAAATCTGGAATCAAGGGAG
ACCGTGGTGAAGCTGGTCTGCTGGCCAGCCGGACCAAGGTAAAAGTGGTGAAGGGGGCCCAAGGTCTAAAGGTGA
10 CCGCGGTGAGCAAGGAATCAAAGTAAAGCTGGTAAAAAGGTGAGCGCGGTAAAAAGGCGACAAAGGTGAAACCGGTGAA
CGCGGTGAAAAAGGCGAAGCTGGAATCCAAGGCCCAAGGTGAAGCTGGTAAAGATGCGCTCCAGGTAAAGATGGAGCTC
CAGGCGAAAAGGTTGAAAAAGGTGACCGCGGTGAAACCGGAGTCAAGGTCCAGTAGGCCCAAGGTGAAAAAGGTGAAAC
GGGCGCCCAAGGCCAGCAGGCCCAAGGTGAGGCAGGCAAAACAGGTGAGCAAGGCCAGCAGGCCCAAGGTGAAAGGTGAAG
CAGGCCAACAGGCCGAAAAGCTCCAGAAAAGAGCCAGAAAGCGCAAGCAGGCCAACAGGCCGAAAAGCTCCAGAAAAGAG
CAAAGAGGTAACCTCAGCTGCAGAAAACCTGCTGACAAAAGAGCTAACCAACGCCAGAACGCCGCAATGGCAATATGGCTA
15 AGACACCTGTAGCCAACAACCACAGACGCTACCAGCAACTGGTGAAGCAAGCCAACCCATTCTTACAGCAGCAGCAGTAGCA
GTGATGACAACAGCTGGTGTCTAGCCGTTACAAAACGCAAAGAAAACAATA

SPy1991

Sec. ID 81

20 ATGATACTTAAATTGATAATTACGATTCATTTACCTACAACCTCGCCCAATATTTAAGTGAATTTGACGAGACGATTGTCTTGTAT
AACCAAGACCCAACTTATATGACATGGCCAAAAAGCTAACGCTCTAGTCTCTCACCTGGTCTGGTTGGCCCAAGGAAGCC
25 AACCAAATGCCAAAATCATTCAAGACTTTTACCAAACAAAACCTATCTTAGGAGTGTGTCTGGGACACCAAGCTATCGCTGAAA
CTTAGGGGAAACCTTAGCCTTGGCCAAACCGCTCATGCATGGGAGACAAAGCACCATTGAAACGCAAGGCCCTGCTAGTCTT
TTTCGCTCCCTGCCACAAGAGATCACCGCTCATGCGCTACCATTCCATCGTTGTGGATCAGTTACCAAAGGTTTTAGCGTAACC
GCTAGAGACTGTGACGATCAAGAAAATCATGGCATTGAAACCCACACCCCTGCCACTTTTTGGGCTACAATTTACCCAGAAAAGC
ATCGGAACTCCTGATGGCATGACCATGATTGCCAACTTCATCGCAGCCATTCCCCGTTAA

SPy2000

Sec. ID 82

35 GTGTCAAATACCTAAAATCTTCTATTATCACGTTATTTTTGACTGGGCTTATTTAGTTGCATGTCAACAACAAAAGCCTCAA
ACAAAAGAAGCTCAGCGCAAACAACGTCCTAAAAGACGAACTTGTCTTTCTATGGGGCAAAGCTCCCTCATGAATTCGATCCA
AAGGACCGTTATGGAGTCCACAATGAAGGGAATATCACTCATAGCACTCTATTGAAACGTTCTCCTGAACTAGATATAAAGGAG
AGCTTGCTAAACATACCATCTCTCTGAAGATGGGCTGACTTGGTCTTTGACTTGCATGATGATTTTAAATCTCAAATGGTGA
40 GCCTGTACTGCTGATGATGTTAAGTTTACTTATGATATGTTGAAAGCAGATGAAAGGCTTGGGATCTAACCTTCATTAAGAAC
GTTGAAGTAGTTGGGAAAATCAGGTCAATATCCATTTGACTGAGGCGCATTGACATTTACAGCACAGTTGACTGAAATCCCAA
TCGTCCCTAAAACATTACAATGATAAGTATAAGAGCAATCCTATCGGTTGAGGACCTTACATGGTAAAAGAATATAAGGCTGG
AGAACAAAGCTATTTTTGTTGTAACCCCTTATTGGCATGGGAAAAACCATACTTTAAAAAATGGACTTGGGCTTACTTATGAAA
ACACAGCACTAGCAGCTTTAGAATCTGGTATGTTGATATGATCTACGCAACGCCAGAATTGCTGATAAAAAAGTCAAAGGCA
CCCGCTCCTTGATTTCCATCAAATGATGTGCGCGGCTTATCATTACCTTATGTGAAAAAGGGCGTCATCACTGATTCTCCTGA
45 TGGTTATCCTGTAGGAAATGATGTCACTAGTATCCAGCAATCCGAAAAGCCTTACTATTGGTTTAAATAGGCCAAAAGTTCTC
GATACGGTTTTAAATGGTTATGGTAAACCAGCTTATTCAATATTGATAAAACACCATTTTGAATCCAAAACAGCCATTAAGA
TAATAAAGTAGCTAAAGCTAAGCAATTTTACAAAAGCGGGATGGAAAGAACAAGCAGACGGTAGCCGTAAAAAAGGTGACCT
TGATGCAGCGTTTATCTGACTACCCTACTAATGATCAATTGCGAGCGAACTTAGCCGTTGAAGTAGCAGAGCAAGCCAAGGC
CCTAGGGATTACTATTAACCTCAAAGCTAGTAACTGGGATGAAATGGCAACGAAAGTACATGACTCAGCCTTACTTTATGCCGG
AGGACGTCATCAGCGCAGCAATTTTATGAATCGCATCATCCAAGCCTAGCAGGAAAAGGTTGGACCAATATTACGTTTTATAA
50 CAATCCTACCGTACTAAGTACCTTACAAAAGCAATGACATCTTCTGACCTTGATAAAGCTAACGAATATTGGAAGTTAGCGCAG
TGGGATGGCAAACAGGTGCTTCTACTCTTGGAGATTTGCCAAATGTATGGTTGGTGAAGCCTTAACCATACTTATATTGGTGATA
AACGTATCAATGTAGTAAACAAGGCGTCCACAGTCATGGTCAATGATTGGTCAATTTGACTAACATTGCCGAGTGGACTTGGG
ATGAATCAACTAAGTAA

ES 2 330 334 T3

SPy2006

Sec. ID 83

5 GTGAAGAAAACATATGGTTATATCGGCTCAGTTGCTGCTATTTACTAGCTACTCATATTGGAAGTTACCAACTTGGTAAAGCATC
ATATGGGTTGAGCAACAAAGGACAATCAAATGGCTATATTGATGATAGCAAAGGTAAGGCCAAAAGCCCCTAAAACAAAACAAAAC
GATGGATCAAATCAGTGCTGAAGAAGGCATCTCTGCTGAACAGATCGTAGTCAAATTTACTGACCAAGGCTATGTGACCTCACA
TGTTGACCATTTATCATTTTTACAATGGGAAAGTTCCCTATGATGCGATTATTAGTGAAGAGTTGTTGATGACGGATCCTAATTACC
10 GTTTTAAACAATCAGACGTTATCAATGAAATCTTAGACGGTTACGTTATTAAAGTCAATGGCAACTATTATGTTTACCTCAAGCCA
GGTAGCAAGCGCAAAAACATTGAAACAAAACAACAATTTGCTGAGCAAGTAGCCAAAAGGAACTAAAGAAGCTAAAGAAAAGGT
TTAGCTCAAGTGGCCCATCTCAGTAAAGAAGAAGTTGCGGCAGTCAATGAAGCAAAAAGACAAGGACGCTATACTACAGACGAT
GGCTATATTTTTAGTCCGACAGATATCATTGATGATTTAGGAGATGCTTATTTAGTACCTCATGGTAATCACTATCATTATTTCTT
ATGCGTAGAGCAGAAAATAACAAACACAGCCGCTATTCATTGCAAACTGAGCGTTGGGGTAACGAGTATAGCAATTGCGAGT
CTCTTTTTAGGAAAGGTTGCCTATGCCGTAGATGGCATCCCTCCAATCTCTCTTACTCAAAGACTACAGCCACTACATCAGAAA
15 ATTTGGCATCATATTGATAAGGATGGCCTTATTCCTTTAGGTATAAGCTTAGAAGCTGCCAAAGAGGAATTTAAAAAAGAAGTAGA
AGAATCACGTTTATCTGAAGCACAAAAAGAAACGTATAAACAAAAAATTTAAACTGCACCAGACAAAGATAAGCTATTATTACGCT
ATCATAGTGAGTATATGACAGCCGTTAAGGATCTTCCAGCGTCTACTGAGTCTACTACTCAGCCAGTTGAGGCACCCGTCAGG
AGACACAGGCATCAGCTTCAGATTCGATGGTGACAGGTGATTCAACATCAGTTACGACTGATTCTCCTGAGGAAACCCCATCTT
CGGAAAGTCCAGTGGCCCCAGCTTTATCTGAGGCTCCAGCTCAACCAGCTGAGAGTGAGGAACCTTCAGTAGCAGCATCTTCT
GAGGAAACCCCATCTCCATCAACTCCAGCGGCCCCAGAACTCCTGAAGAACCAGCAGCTCCATCTCCATCACCTGAGAGTGA
20 GGAACCTTCAGTAGCAGCTCCTTCTGAGGAAACCCCATCTCCAGAACTCCTGAAGAACCAGCAGCTCCATCTCAACCAGCTGA
GAGTGAAGAATCTTCAGTAGCAGCTACGACAAGCCGCTCCATCAACTCCAGCTGAATCAGAGACTCAGACGCCACCAGCTG
TTACTAAAGACTCTGATAAGCCATCTTCAGCAGCTGAAAAACCAGCAGCCTCTTCACTTGTTTCAGAACAACCCGTTCAACAACC
AACTTCAAAGAGATCTTCTGATAAAAAAGAAAGCAAGAACAGTCTTACTCTCAAATCGCTCATTGTCAAGACAGGTTAGGGCC
CATGAGTCAGGTAAGTACTTGCCTTCAACAGGTGAAAAAGCACAGCCACTCTTTATAGCTACTATGACTTTGATGTCTCTATTTG
GCAGTCTTTTAGTCACAAAACGCCAAAAAGAACTAAAAAATAG

25

SPy2009

Sec. ID 84

30 ATGCGTAGAGCAGAAAATAACAAACACAGCCGCTATTCATTGCAAACTGAGCGTTGGGGTAACGAGTATAGCAATTGCGAGT
CTCTTTTTAGGAAAGGTTGCCTATGCCGTAGATGGCATCCCTCCAATCTCTCTTACTCAAAGACTACAGCCACTACATCAGAAA
ATTTGGCATCATATTGATAAGGATGGCCTTATTCCTTTAGGTATAAGCTTAGAAGCTGCCAAAGAGGAATTTAAAAAAGAAGTAGA
35 AGAATCACGTTTATCTGAAGCACAAAAAGAAACGTATAAACAAAAAATTTAAACTGCACCAGACAAAGATAAGCTATTATTACGCT
ATCATAGTGAGTATATGACAGCCGTTAAGGATCTTCCAGCGTCTACTGAGTCTACTACTCAGCCAGTTGAGGCACCCGTCAGG
AGACACAGGCATCAGCTTCAGATTCGATGGTGACAGGTGATTCAACATCAGTTACGACTGATTCTCCTGAGGAAACCCCATCTT
CGGAAAGTCCAGTGGCCCCAGCTTTATCTGAGGCTCCAGCTCAACCAGCTGAGAGTGAGGAACCTTCAGTAGCAGCATCTTCT
GAGGAAACCCCATCTCCATCAACTCCAGCGGCCCCAGAACTCCTGAAGAACCAGCAGCTCCATCTCCATCACCTGAGAGTGA
40 GGAACCTTCAGTAGCAGCTCCTTCTGAGGAAACCCCATCTCCAGAACTCCTGAAGAACCAGCAGCTCCATCTCAACCAGCTGA
GAGTGAAGAATCTTCAGTAGCAGCTACGACAAGCCGCTCCATCAACTCCAGCTGAATCAGAGACTCAGACGCCACCAGCTG
TTACTAAAGACTCTGATAAGCCATCTTCAGCAGCTGAAAAACCAGCAGCCTCTTCACTTGTTTCAGAACAACCCGTTCAACAACC
AACTTCAAAGAGATCTTCTGATAAAAAAGAAAGCAAGAACAGTCTTACTCTCAAATCGCTCATTGTCAAGACAGGTTAGGGCC
CATGAGTCAGGTAAGTACTTGCCTTCAACAGGTGAAAAAGCACAGCCACTCTTTATAGCTACTATGACTTTGATGTCTCTATTTG
GCAGTCTTTTAGTCACAAAACGCCAAAAAGAACTAAAAAATAG

45

50

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy2010

Sec. ID 85

5 TTGCGTAAAAAACAAAAATTACCATTGATAAACTTGCCATTGCGCTCATGTCTACGAGCATCTTGCTCAATGCACAATCAGACAT
 TAAAGCAAATACTGTGACAGAAGACACTCTGCTACCGAACAAGCTGTAGAAAACCCCAACCAACAGCGGTTTCTGAGGAAGC
 ACCATCATCAAAGGAAACCAAAACCCCAAACTCCTGATGACGCAGAAAGAAACAATAGCAGATGACGCTAATGATCTAGCCCC
 TCAAAGCTCCTGCTAAAACCTGCTGATACACCAGCAACCTCAAAGCGACTATTAGGGATTGAACGACCCTTCTCAGGTCAAAAC
 CCTGCAGGAAAAAGCAGGCAAAAGGAGCTGGGACTGTTGTTGCAGTGATTGATGCTGGTTTTGATAAAAAATCATGAAGCGTGGC
 10 GCTTAAACAGACAAAAACAAAGCAGCTTACCAATCAAAAGAAAGATCTTGAAAAAGCTAAAAAAGAGCAGCGTATTACCTATGGCG
 AGTGGGTCAATGATAAGGTTGCTTATTACCAGCATATAGTAAAGATGGTAAACCGCTGTCGATCAAGAGCAGCGGCACACAGC
 TGTCAGGGATCTTGTCAGGAAATGCTCCATCTGAAACGAAAGAACCTTACCGCCTAGAAGGTGCGATGCCTGAGGCTCAATTG
 CTTTTGATGCGTGTGAAAATTGTAATGGACTAGCAGACTATGCTCGTAACTACGCTCAAGCTATCATAGATGCTGTCAACTTGG
 GAGCTAAGGTGATTAATGAGCTTTGGTAATGCTGCACTAGCCTATGCCAACCTTCCAGACGAAACCAAAAAAGCCTTTGACTA
 TGCCAAATCAAAGGTGTTAGCATTGTGACCTCAGCTGGTAATGATAGTAGCTTTGGGGCAAGACCCGCTACCTCTAGCAGA
 TCATCCTGATTATGGGGTGGTTGGGACACCTGCAGCGGCAGACTCAACATTGACAGTTGCTTCTTACAGCCCAGATAAACAGCT
 15 CACTGAACTGCTACGGTCAAACAGCCGATCAGCAAGATAAGAAATGCCTGTTCTTTCAACAAACCGTTTTGAGCCAAACAA
 GGCTTACGACTATGCTTATGCTAATCGTGGGATGAAAGAGGATGATTTAAGGATGTCAAAGGTAAGATTGCCCTTATTGAACGT
 GCGGATATTGATTTCAAAGATAAGATTGCAAACGCTAAAAAGCTGGTGTAGGAGTCTTGATCTATGACAAATCAGGCAAG
 GGCTTCCCAGTTGAATTTGCCAAATGTTGATCAGATGCCTGCGGCTTTATCAGTCGAAAAGATGGTCTCTTATTTAAAGAGAATC
 CCCAAAAACCACTCACCTTCAATGCGACACCTAAGGTATTGCCAACAGCAAGTGGCACCAAACTAAGCCGCTTCTAAAGCTGGG
 GTCTGACAGCTGACGGCAATATTAAGCCAGATATTGCAGCACCCGCGCAAGATATTTGTCAATCAGTGGCTAACAAACAGTATG
 20 CCAAACCTTCTGGAAGTAGTATGCTGCGCCATTAGTAGCGGATCATGGGACTGTTGCAAAAAGCAATATGAGACACAGTATC
 CTGATATGACACCATCAGAGCGTCTTGATTTAGCTAAAAAGTATTGATGAGCTCAGCAACTGCCTTATATGATGAAGATGAAAA
 AGCTTATTTTTCTCCTCGCCAACAAGAGCAGGAGCAGTCTGATGCTAAAAAGCTTACGACGCAACGATGTATGTGACAGATAA
 GGATAATACCTCAAGCAAGGTTCACTGAACAATGTTTCTGATAAATTTGAAGTAACAGTAACAGTTTACAAACAAATCTGATAAAC
 CTCAAGAGTTGATTACCAAGCAACTGTTCAAACAGATAAAGTAGATGAAAAACTCTTTGCCTTGCTCCTAAAGCATTGTATGA
 GACATCATGGCAAAAAATCACAAATCCAGCCAATAGCAGCAAAACAAGTCAACATTCCAATCGATGTTAGTCAATTTAGCAAGGAC
 25 TTGCTTGCCCAATGAAAAATGGCTATTTCTTAGAAGGTTTTGTTGTTTTCAAACAAGATCCTACAAAAGAAAGAGCTTATGAGTAT
 TCCCTATATTGGTTCCGAGGTGATTTTGGCAATCTGTGAGCCTTAGAAAAACCAATCTATGATAGCAAAGACGGTAGCAGCTAC
 TATCATGAAGCAAATAGTGATGCCAAAGACCAATTAGATGGTGTGATTACAGTTTTACGCTCTGAAAAATAACTTTACAGCAC
 TACTACAGAGTCTAATCCATGGACGATTATTAAGCTGTCAAAGAAGGGGTTGAAAAATAGAGGATATCGAATCTTCAGAGAT
 CACAGAAACCAATTTTTGCAGGTACTTTGCAAAAACAAGACGATGATAGCCACTACTATATCCACCGTCACGCTAATGGCAAGCCA
 TATGCTGCGATCTCTCAAATGGGGACGGTAAACAGAGATTATGCTCAATCCAAAGTACTTTCTGCGTAAATGCTAAAAACCTTG
 30 TGGCTGAAGTCTTGGACAAAAGAAGGAAATGTTGTTGGACAAGTGAAGTAACCGAGCAAGTTGTTAAAAACTACAACAATGACT
 TGGCAAGCACACTTGGTTCAACCCGTTTTGAAAAACCGGTTGGGACGGTAAAGATAAAGACGGCAAAAGTTGTTGCTAACGGAA
 CATACACCTATCGTGTTCGCTACACTCCGATTAGCTCAGGTGCAAAAAGAAACAACACTGATTTTGTGATGTGATTGTAGACAATAC
 GACACCTGAAGTCGCAACATCGCAACATTCTCAACAGAAGATCGTGGTTGACACTTGCATCAAACCAAAAACCGCAACC

35 GGTTACCCTGAGCGTATTGCTTACACTTATATGGATGAGGATCTGCCAACACAGAGTATATTTCTCCAATGAAGATGGTACC
 TTTACTCTTCTGAAGAGGCTGAAACAATGGAAGGCGCTACTGTTCCATTGAAAATGTCAGACTTTACTTATGTTGTTGAAGATA
 TGGCTGGTAACATCACTTATACACCAGTGACTAAGCTATTGGAAGGCCACTCTAATAAACCCAGAACAAGACGGTTTACAGTCAAG
 CACCAGACAAAAACAGAACTAAACCAGAACAAAGACGGTTTACAGTCAAGCACCAGATAAAAAACAGAACTAAACCAGAAC
 AAGACGGTTTACAGTCAAAACCCAGACAAAAACAGAACTAAACCAGAACAAAGACGGTTTACAGTCAAAACCCAGATAAAAAAC
 40 CAGAAACTAAACCAGAAAAAGATAGTTTCAAGTCAAACACCAGGTAACAACTCCTCAAAGGTTCAACCTTCTCGTACTCTAGAGAA
 ACGATCTTCTAAGCGTCTTTAGCTACAAAAGCATCAACAAAAGATCAGTTACCAACGACTAATGACAAGGATACAAATCGTTTA
 CATCTCCTTAAGTTAGTTATGACCACCTTCTTCTGGGATTAGTAGCTCATATCTTTAAACAAAACCGCACTGAAGATTAG

SPy2016

Sec. ID 86

50 ATGAATATTAGAAATAAGATTGAAAAATGTAACAACTACTATTTACATCCCTTGAGCCGTGGCTCTACTAGGAGCTACACAACC
 AGTTTACGCCGAAACGTATACATCACGCAATTTGACTGGTCTGGAGATGACTGGTCTGGAGATGACTGGCCTGAAGATGACTG
 GTCTGGAGATGGTTTGTCTAAATATGACCGGTCTGGAGTTGGTTTGTCTCAATATGGCTGGTCTAAATATGGCTGGTCTAGCGA
 TAAAGAAGAATGGCCTGAAGATTGGCCTGAAGATGACTGGTCTAGCGATAAAAAAGATGAGACAGAAGATAAAACGAGACCAC
 ATATGGAGAAGCATTAGGTACAGGGTATGAAAAACGTGATGATTGGGGAGGACCTGGTACGGTGGCAACTGACCCTTACTCTC
 55 CACCATATGGAGGAGCATTAGGTACAGGGTATGAAAAACGTGATGATTGGGGAGGACCTGGTACGGTGGCAACTGACCCTTACTC
 ACTCCACCATATGGAGGAGCATTAGGTACAGGGTATGAAAAACGTGATGATTGGAGAGGACCTGGACATATTCCTAAACCTGAG
 AACGAACAATCACCAAAACCACTTCAATTTCTGAACTCCTCAGATTGAGTGGCCTCAGTGGAAATGGCTTTGATGGATTATCAT
 TTGGCCCTCTGATTGGGGCCAATCTGAGGACACCCCTCCAAGTGAACCTCGTGTGCCAGAAAAACCGCAACATACTCCTCAA
 AAAAAACCAAGAATCAGATTTTGTAGAGGGTTTTGAGCTGGCTTGAAGCAAAAAACTCAGGTAGAGGTATTGATTTTGAAG
 60 GTTCCAGTATGGTGGCTGGTCAGACGAATATAAAAAAGTTACATGCAAGCCTTGGTACACCATATACACCATCAGCAACGT
 AA

65

ES 2 330 334 T3

SPy2018

Sec. ID 87

5 ATGGCTAAAAATAACACGAATAGACACTATTCGCTTAGAAAAATAAAAACAGGAACGGCTTCAGTAGCGGTAGCTTTGACTGTTT
 TAGGGGCGAGGTTTTGCGAATCAAACAGAGGTTAAGGCTAACGGTGATGGTAATCCTAGGGAAAGTTATAGAAGATCTTCAGCA
 ACAATCCCGCAATACAAAATATACGTTTACGTTACGAAAAACAAGGACTTAAAAGCGAGATTAGAGAATGCAATGGAAGTTGCAG
 GAAGAGATTTAAGAGAGCTGAAGAACTTGAAAAAGCAAAAACAAGCCTTAGAAGACCAGCGTAAAGATTTAGAACTAAATTA
 AGAACTACAACAAGACTATGACTTAGCAAAGGAATCAACAAGTTGGGATAGACAAAGACTTGAAAAAGAGTTAGAAGAGAAAA
 10 GGAAGCTCTTGAATTAGCGATAGACCAGGCAAGTCGGGACTACCATAGAGCTACCGCTTTAGAAAAAGAGTTAGAAGAGAAAA
 GAAAGCTCTTGAATTAGCGATAGACCAAGCGAGTCAGGACTATAATAGAGCTAACGCTTTAGAAAAAGAGTTAGAAACGATTACT
 AGAGAACAAGAGATTAATCGTAATCTTTTAGGCAATGCAAAACTTGAACCTTATCAACTTTTATCTGAAAAAGAGCAGCTAACGA
 TCGAAAAAGCAAACTTGAGGAAGAAAAACAAATCTCAGACGCAAGTCGTCAAAGCCTTCGTGCTGACTTGGACGCATCACGTG
 AAGCTAAGAAACAGGTTGAAAAAGATTTAGCAAACTTGAAGCTGCTGAACTTATGATAAGGTTAAAGAAAGACAAAACAAATCTCAGACGC
 AAGCCGTCAGGCTTCGCCGTGACTTGGACGCATCACGTGAAGCTAAGAAACAGGTTGAAAAAGATTTAGCAAACTTGAAGCTGC
 TGAACCTTGAAGGTTAAAGAAAGAAAAACAAATCTCAGACGCAAGCCGTCAGGCTTCGCCGTGACTTGGACGCATCACGTGA
 15 AGCTAAGAAACAAGTTGAAAAAGCTTTAGAAGAAGCAAAACAGCAAAATTAGCTGCTCTTAAAACTTAAACAAAGAGCTTGAAGAA
 AGCAAGAAATTAACAGAAAAAGAAAAAGCTGAAGCTACAAGCAAACTTGAAGCAGAAGCAAAAGCACTCAAAGAAACAATTAGCG
 AAACAAGCTGAAGAACTTCAAAAACCTAAGAGCTGAAAAAGCACTCAGACTCACAACCCCTGATACAAAACAGGAACAAGCT
 GTTCCAGGTAAGGTCAGACCCACAAGCAGGTACAAAACCTAACCAAAACAAAGCACCATGAAGGAACTAAGAGACAGTTA
 CCATCAACAGGTGAAACAGCTAACCCATTTCTCACAGCGGCAGCCCTTACTGTTATGGCAACAGCTGGAGTAGCAGCAGTTGTA
 20 AAACGCAAAAGAAAACTAA

SPy2025

Sec. ID 88

25 ATGAAGAAAAGGAAATTTAGTAGCAGTAACACTATTAAGTACCATACTCTTAAACAGTGCAGTGCCATTAGTTGTTGCTGATACCT
 CCTTGCGTAATAGCACATCATCCACTGATCAGCCTACTACAGCAGATACTGATACGGATGACGAGAGTGAACACCAAAAAAAG
 ACAAAAAAGCAAGGAAACAGCGTCGCAGCACGACACCCAAAAAGACCATAAGCCATCACACACTCACCCAACCCCTTCA
 30 AATGATACTAAGCAGACCGATCAGGCCATCATCTGAAGCTACTGACAAACCAAAATAAGACAAAAACGACACCAAGCAACCCAGAC
 AGCAGTGATCAATCCACCCATCTCCAAAAGACCAGTCGTCTCAAAAAGAGTCACAAAACAAGACGGCCGACCTACCCCATCA
 CCTGATCAGCAAAAAGATCAGACACCTGATAAAACACCAGAAAAATCAGCTGATAAAACCCCTGAAAAAGGACCAGAAAAAGCA
 ACTGATAAAACACCAGAGCCAAATCGTGACGCTCCAAAACCCATCCAACCTCTTTAGCAGCTGCTCCTGTCTTTATACCTTGA
 GAGAAAGTGACAAAGACCTGAGCAAGCTAAAACCAAGCAGTCGCTCATCAGCGGCTTACGTGAGACACTGGACAGGTGACTCT
 GCCTACACTCACAACTGTTGTCACGCGTTATGGGATTACTGCTGAACAGCTAGATGGTTTTTTGAACAGTCTAGGTATTTCACT
 35 ATGATAAAGAAGCCTTAAACGGAAAGCGTTTATTAGAATGGGAAAACTAACAGGACTAGACGTTGAGCTATCGTAGCTATTG
 CAATGGCAGAAAAGCTCACTAGTACTCAGGGAGTTGCTAAAGAAAAAGGAGCCAATATGTTTGGTTATGCCGCTTTGACTTCA
 ACCAAAACAATGCCAAAAATACAGCGATGAGGTTGCTATTCGTACATGGTAGAAGACACCATCATTGCCAACAAAAACCAA
 CCTTTGAAAGACAAGACCTCAAAGCAAAAAAATGGTCACTAGGCCAGTTGGATACCTTGATTGATGGTGGGTTTACTTTACAG
 ATACAAGTGGCAGTGGCAAAAGACGAGCAGATATCATGACCAAACTAGACCAATGGATAGATGATCATGGAAGCACACCTGAG
 40 ATCCAGAACATCTCAAGATAACTTCCGGGACACAATTTAGCGAAGTGCCTGAGTTATAAAAGAAGTCAGCCACAAAACGTTT
 TGACCTACAAGTCAGAGACCTACAGCTTTGGCCAAATGCACTTGGTACGCTATAATCGTGTCAAAGAGCTAGGTTATCAAGTGC
 ACAGGTACATGGTAAACGGTGGCGACTGCGAGCGCAAGCCAGGTTTTGTGACCACCCATAAACCTAAAGTGGGCTATGCTGC
 TCAATTCACCAAGCCCAAGCAGGAGCAGATGCAACCTATGGTCAAGTTGCTGTTGTAGAGCAAAATCAAGAAGATGGTTCTATC
 TTAATTTAGAGTCAAATGTTATGGGACTAGGCACCATTTCTATCGGACGTTACAGCTGAGCAGGCTAGTTTGTGACCTATG
 45 TCGTAGGGGACAACTCCCAAGACCATAA

SPy2039

Sec. ID 89

50 ATGAATAAAAAGAAATTTAGGTGTCAGATTATTAAGTCTTTTAGCATTAGGTGGATTTGTTCTTGCTAACCCAGTATTTGCCGATCA
 AAACCTTTGCTCGTAACGAAAAAGAAAGCAAAAGATAGCGCTATCACATTTATCCAAAAATCAGCAGCTATCAAAGCAGGTGCACGA
 AGCGCAGAAGATTAAGCTTGACAAAGTTAACTTAGGTGGAGAACTTTCTGGCTCTAATATGATGTTACAATATTTCTACTGG
 55 AGGATTTGTTATCGTTTCAGGAGATAAACGTTCTCCAGAAATTTCTAGGATACTTACCAGCGGATCATTGACGTAACGGTAAA
 GAAAACATTGCTTCTTATGGAAGTTATGTCGAACAATCAAGAAAAACAAAAATAGACACTACTTATGCTGGTACCGCTG
 AGATTAACAACCAAGTTGTTAAATCTCTCTTGAATCAAAGGCAATTCATTACAATCAAGGTAACCCCTTACAACCTATTGACACCT

60 GTTATTAAAAAGTAAACAGGTGAACAATCTTTTGTAGGTCAACATGCAGCTACAGGATGTGTTGCTACTGCAACTGCTCAA
 TTATGAAATATCATAATTACCCTAACAAAGGGTTGAAAGACTACACTTACACACTAAGCTCAAATAACCCATATTTCAACCATCCT
 AAGAATTTGTTGACGCTATCTACTAGACATAACAATGGAACAACATCTTACCTACTTATAGCGGAAGAGAATCTAACGTTT
 AAAAAATGGCGATTTAGAAATGATGGCTGATGTTGGTATTTAGTAGACATGGATTATGGTCCATCTAGTGGTTCTGCAGGTAG
 CTCTCGTGTCAAAGAGCCTTGAAGAAAACTTTGGCTACAACTTCTGTTCAACAAATCAACCGTGGCGACTTTAGCAAACAA
 GATTGGGAAGCACAATTTGACAAAGAAATATCTCAAACCAACCAAGTATACTACCAAGGTGTCGGTAAAGTAGGCGGACATGCC
 65 TTTGTTATCGATGGTGTGACGGACGTAACCTTACCATGTTAACTGGGTTGGGTTGGAGTCTGACGGCTTCTCCGCTCT
 GACGCACTAAACCTTCAGCTCTTGGTACTGGTGGCGGCGCAGCGGCTTCAACGGTTACCAAAGTCTGTTGTAGGCATCAA
 ACCTTAG

ES 2 330 334 T3

SPy2043

Sec. ID 90

5 ATGAATCTACTTGGATCAAGACGGGTTTTTTCTAAAAAATGTCGGCTAGTAAAATTTTCAATGGTAGCTCTTGTATCAGCCACAAT
GGCTGTAAACAACAGTACACTTTGAAAATACTGCACTGGCACGACAAAACACAGGTCTCAAATGATGTTGTTCTAAATGATGGCC
AAGCAAGTACCTAAACGAAGCATTAGCTTGGACATTCATGACAGTCCCAACTATTACAAAACCTTAGGTAAGTACATCACT
CCAGCACTCTTCTAAAGCAGGAGATATTCTCTATAGCAAATTAGATGAGTTAGGAAGGACGCGTACTGCTAGAGGTACATTG
ACTTATGCCAATGTTGAAGGTAGCTACGGTGTAGACAATCTTTCGGTAAAAATCAAACCCCGCAGGCTGGACTGGAAACCCT
10 AATCATGTCAAATATAAAATGATGGTTAAATGGTCTATCTTATGTCGGAGATTTCTGGAATAGAAGTCATCTCATTGCAGATAG
TCTCGGTGGAGATGCACTCAGAGTCAATGCCGTTACAGGGACACGTACCCAAAATGTAGGAGGTCGTACCAAAAAGGCGGCA
TGCCTATACCGAACAAAGAGCTCAAGAAATGGTTAGAAGCAAATCGTGATGGCTATCTTTATTATGAAGCTGCTCCAATCTATAA
CGCAGACGATTTGATTCGAAGAGCTGTCGTGGTATCAATGCAATCTTCTGATAATACCATCAACGAGAAAAGTATTAGTTTACAAC
ACAGCTAATGGCTACACCATTAACCTACCATAACGGTACACCTACTCAGAAATAA

15

SPy2059

Sec. ID 91

20 ATGAGATTTCTAGAACTTTTACAAAAGAAATTTTTCTAAAGCATATCAGGAAAAACAATTCTTAATGCATCAAAAAACGCGTTTA
ACGCCACAACACAATCAAAGCAGTATTCGCCAAATGCCAATCATTTGGACTCATCAGCTACCAAAAACCTCAGAACAAGACCCT
GCAACAGCTCTGCAACGAGTAGAGCCTACGAAGGAAGCCCTAAAAGTCGGCCCGCTTGGTGCAAAAGCTGGAAGCTGTTTT
25 GCGGTCTCCTCAACGTCCTAATTCGGCGTTTTGGCGCCGCTATCACATCGGAAAACCTGCTAATGATTCTGATTGGAACCTTTGT
CTTACTCTTAGGATCATACTTGTCTTACTTATCAAAAACAGCTAAAGTATCTGATTTACAAGATGCCTTGAAGGCTACAACGGTTA
TTTATGATCACAAAGGAGAGTATGCAGGCAGTTTATCTGGTCAAAAAGGGAGTTATGTTGAGCTCAACGCTATTTTCAAGATGATCT
TGAGAATGCTGTTATTGCCACTGAGGATAGGACTTTTTACAGTAATAGCGGTATTAATCTTAAACGCTTCTTATTGGCGGTAGTT
ACGGCCGGCCGCTTTGGAGGTGGCTCAACGATTACACAGCAACTGGCTAAAAATGCTTATCTCTCACAAAGATCAGACAATTA
CGAAAGGCCCGAGAGTTTTTTTTGGCGTTAGAGTTGACCAAAAATACAGTAAAAAAGATATTCTTACTATGTACCTTAAACAAC
30 CTACTTTGAAAATGGAGTTTGGGGAGTTGAAGATGCCAGTCAAAAATATTTTGAACCACAGCTGCTAACTTAACACTGGATGAA
GCTGCCACATTAGCAGGTATGCTCAAAGGACCTGAAATATATAACCCCTTACCATTCTCTAAAAAATGCTACTACCGTAGAGATA
CTGTTTTAGGAGCGATGGTTGATGCCAAAAAGATTACCAAAAAGCTCAGCAAGCTAGAGCAGTAGGGCTAAAAAATCGCT
TAGCTGATACTTATGTTGGTAAGACAGATGACTACAAATACCCATCCTACTTTGATGCTGTTATTAGTGAAGCAATAGCAACTTAT
GGTCTTTTCAAAAAAGACATTGTTAATAATGGATACAAAGTTTACACTGAGCTAGATCAAAAATTACCAACTGGCATGCAGACGA
CTTTTAAACAACGATGAACTATTTCTGTTTCAAGCTTATGACGGTAGCTCTGCTCAAGCAGCTAGTGTGCTTTAGATCCTAAAA
35 GGAGGTGTTAGAGGTCTGATTGGTCTGTGAATAGTAGTAAAAATCCGACTTTCAGAAGTTTTAACTATGCGACTCAAGCAAAA
CGTAGTCCCGCATCAACAATCAAACCACTCGTGGTTACGCGCCAGCCGTTGCTTCAGGATGGTCAATTGAAAAAGAACTACCA
AATACCGTTCAAGATTTTCGATGGCTATCAGCCACATAATTATGGAATATGAATCAGAAGATGTTCTATGTATCAAGCATTAGC
AAACTCTATAATATCCAGCAGTTTCTACATTGAACGATATCGGAATCGATAAAGCCTTTACCTATGGTAAAAACATTTGGGTTAG
ATATGAGCTCTGCCAAAAAGAGTTGGGGTAGCTTTAGGTGGCAGCGTGACAACCAATCCATTGGAGATGGCTCAGGCATAT
GCTGCCCTTGGCAATATGGAGTAAATCCATCCTGCGCACTTGATTAACCGGATTGAAAATGCCAGGGGTGAAGTGCTTAAACC
40 TTTACTGATAAGGCTAAACGTTGTCAGCCAGTCTGTTGCAGATAAGATGACAGCCATGATGCTAGGTACCTTTTCAAATGGAA
CAGCAGTCAATGCTAACGTATATGGCTATACACTAGCTGGTAAAAACAGGGACGACAGAAACCAACTTCAATCCCGACTTAGCAG
GCGATCAGTGGGTTATTGGTTACGCCAGATGTTGTTATTAGTCAATGGGTAGGATTTAATCAGACCGATGAAAATCATTATCT
AACGGATTCAAGTGCAGGCACGGCCCTCAGCTATTTTACACTCAGGCATCTTACATTTTGCCTTATACCAAGGGCAGCCAAAT
CATGTAGATAATGCCTACGCTCAAATGGTATTTTCACTGTTTATGGAGTCAATGAAAACGGTAATCAATCAGGAGTTGATACTC
AATCTATTATTGATGGTTTAAAGAAAATCAGCACAAGAAGCTTCGCAATCACTATCAAAAGCAGTCGATCAGTCAGGGTTACGTGA
45 TAAAGCCCAATCTATTTGAAAAGAGATTGTTGACTATTTTAGATAG

50

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy2110

Sec. ID 92

5 ATGGTAAGTTTAGAAGAAGACAAGGTGACTGTTCAACCTGATATTAAGTGATTAACGAGATGGTCGCCTTGTTAATTTTGATA
 GTACAAAAATCTATAGTGCTTTTATTAAGCAAGCATGAAAGTAACTCGGATGTCGCCACTTGTTGAGGCTAAATAGAGGCTAT
 TTCTGATCGCATTATAGCAGAAATATTGAGCGTTTCCAACATAATCAAAATTTATGAAATCCAAATATTGTAGAGCATAAGCT
 TCTTGACAGCTAATGAATATGCTATTGCAAAAGAAATACATTAATTATCGTACTCAGCGTGACTTTGCACGTTCCAAAGCAACAGATA
 TCAATTTTCTATTGATAAATTAATTAAGATCAAAACAGTTGTTAATGAAATGCTAACAAAGATAGCGATGTTTTAATACTC
 AACGAGATTTAACTGCTGGAATCGTAGGAAATCGATTGGTTAAAAATGTTACCTTCGCATGTTGCTAATGCTCATAAAAAGG
 10 AGATATCCATTACCATGATTTGGATTACAGTCCTTATACACCGATGACGAACTGCTGTTAATTGACTTTAAGGGCATGTTAGCC
 AATGGCTTTAAATGGTAAATGCTGAAGTGGAAAGTCCCAAGTCTATTCAAACGCAACAGCTCAGATCTCACAGATTATTGCGA
 ATGTAGCATCAAGTCAGTACGGCGGATGCACAGCTGATCGCATTGACGAGTTTTAGCCCATATGCGGAGCTTAACTTTAAAA
 AACATATGGCTGATGCTAAGAAATGGATCGTTGAGACTAAGAGAGAAAGCTATGCTTTTAAAAAGACTCAAAAAGATATTTATGA
 TGCGATGCGACTTTGGAGTATGAAATTAATACGCTCTTACGCTAATGGTCAAACACCATTACTTCTTTAGGATTTGGTTTGG
 GGACGCTTTGGTTGAACGTGAGATTCAAAAAGCTATTTGACCATTGCGATTAATGGTCTTGGTAGTGAACATCGCACGGCTAT
 15 TTTCCCTAAATTAATTTTACGGTTAAACGTGGCTTGAATTTAGAACCAGATTCACCAAATGATATTAAGACTTTGGCTTTAG
 AATGTGCGACTAAGCGGATGTACCCGGATATGTTATCTTATGATAAAATTTGATTTGACAGGATCTTTCAAATCTCCAATGGG
 ATGCCGCTCTTTCTTCAAGGCTGGAAAGATGAAATGGCAAGATGTGACCTCAGGCCGTATGAATCTTGGGTTGTCACCCCT
 CAATTTACCTCGCATTGCCATGGAATCAAAATGGCGATATGGATAAGTTTTGGGAGCTGTTAATGAGAGGATGCTAATTAGTAAG
 GATGCTTTAATTTATCGTGTGCAACGTGTACAGAAAGCAAAACCAGCAAATGCTCCTATTCTTTATCAATATGGTCTTTTGAAA
 GCGTTTGGAGAAGACAGGGAATGTAATGATCTCTTTAAGAATCGTGTGCAACAGTCTCTTTGGCTATATTGGCTTTTATGAA
 20 GTGGCGTCTGTTTTTATGGTGGTCAATGGGAAGTAATCCAGATGCTAAAGCTTTTACCTTGTCAATTTCAAGGCAATGAAAC
 AGGCCTGTGAGGATTGGTCAGATGAATATGGTTATCATTTCTCTGTTATTGACTCCATCAGAAAGTTTGACAGATCGCTTTTG
 TCGTTTAGATACGGAAAAATTTGGCATTGTGACAGATATTACGGATAAAGAATACTATACAAATCTTTTCACTATGATGTGCGTA
 AGAGTCCGACACCTTTTAAAAATTAAGATTTTAAAAAGATTATCCAGAAGCAGGTGCTTCAGGTGGTTTTATCCACTACTGTGA
 GTATCCTGTTTTGCAACAAAATCCAAAGCCCTTGAAGCGGTTTGGACTATGCTTATGATCGTGTGGGATTTGGGAACCAA
 25 TACGCCATTGATAAATGCTATAAATGCAATTTGAAGCGGATTTACCCAAACAGAACGTGGTTTTACTTGCCCAAACGTGGC
 AATAATGACCCTAAACAGTTGATGTGGTCAAACGTACATGTGGTACTTGGGGAATCCTCAGGCCCGCCCAATGGTTAACGGT
 CGCCATAAGGAAATCTCTGCGCGTGTAAAAACATATGAATGGTTCTACTATAAAATACCCAGGCCTGTAA

SPy2127

Sec. ID 93

35 ATGAGGAGGAATTACAGTAGAGTCATTGACGAACTGCGTACTGACTACGGGCTGAATTTAGTTGCTATTGGTCAACGTTTGGGT
 ACCGACCCCGAACAGTTGGTAAATGGTGGCAGGTTAAACATAACCCGAACCAAGAAAGCAGAAAGAACTGAATAGGCTATA
 TAGAGAGGTGAAAGAACTATGATGACACAAGTAAATATTTTTGAAGAAGCTAATGACAACACAAAGCAGGTTATGCAAGTTATT
 ACAACGACAAATTTTATGACAACTTTAGACATTTACGGGTGATATTGAGGAGCCTTTATTTTTGGCTAGGGCAGTCTGCTGAAA
 TGATTGATTACAAAACTAGCCAAAGGCTACTATGACGTACAAGCTATGCTAAGAAAAGTAGATGAGGATGAAAAGCTTAAAG
 GAATGGCTTTAGAAAGTACTACGAAAAATTTTCGTAGTGGTCAAAAAGTTTGGTTTTAACTGAGCATGGACTTTATGAAGTCT
 40 TATGCGTTCAACAAACCAAAAGCCAAAGAGTTTGAAGAAGCAGTCAAAACATTTCTAAAAGAAATCCGCTTGAATGGCTATTAC
 ATGCAAGGCGAATTTGGTGAAGAAGTACTGCTCAACCAAGCACCACAAAACTACCAGGTATAAGTGACCTAACTTATATACTAAATA
 AGCTAGCTGATTTAGTTGATATGGATAATCTAGCTGATATTTCAAATGGGATTGACCGAGTTGACCAACTAGTGAAGCTGATCAG
 CTTGTAG

SPy2191

Sec. ID 94

50 ATGTTTAAGAAAAGAAAATTTAAAAACACGTTATTTTAAATTTGGATTAGTAGCGTTAGCTCTAACAATATTAGCCATCATTTTTGCC
 TTCTCAAGTAAAAATGCTGATACTAAGTCTTATGCTAAGAAGTCAAGAAAGTAAATGGTAAACAATCGACAAGGCTCCAAAAATA
 ATCATGCTATTACTAAGAAAGAAAGCAAAAGAAAAGCAAAAGAGCATTGCTTCGGAGCCTATCCACAGTAGAAAACCTGTAGC
 TCCGACAGTAACAGAGGAAGTACCGGTTGTTGAGCAAGAGTACTCAAACTGTTGAGCAGGTATCTTCAGTAGCCTATAATCC
 AAACAATGTGGTACTTTCCAATGGAATACTGCTGGTATTGTAGGAAGTCAAGCGCGGCACAGATGGCAGCAGCAACAGGTG
 TTCCACAATCAACTTGGGAACATATAATTGCGCGTGAATCTAATGGAAATCCTAACGCAGCTAATGCTTCTGGGGCATCAGGGT
 55 TGTTCCAGACAATGCCAGGTTGGGTTCTACAGCAACGTTGAAGATCAAGTCAATGCAGCCTTGAAGCCTATAGTGCACAAAG
 GTTTATCAGCTTGGGGTACTAA

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy2211

Sec. ID 95

5 ATGAAAAATAATAAATGGATAATTGCTGGACTTGCTAGTTTTTTGTTCCCTCTTAGTATTATATTTATCATCCTTCTATCGATG
 GGCATTTATTATAATAGTGATAAAACAATCTAGCTAGTGATGCTTTTCATCAGTATGTTATTTTTGCGCAGAAGCTTTCGTAACATC
 ATGCACGGTTCGATAGTTTTTTTTATACCTTTACAAGCGGACTAGGGATAAATTTTTATGCTTTAATGTGTTATTATCTTGGCAGT
 TTCTTTTCTCCATTACTTTTTCTTTTTAATTTAACCTCTATGCCAGATGCTATCTATTTGTTTACCTTGATAAAATTTGGGTTAATAG
 GATTAGCTGCATGCTATTCTTTTCATAGATTATATCCAAAAATCAGTCTTTCTTGATGATTTCCATCTCAGTTTTTTTATAGCTTAA
 TGAGCTTCTTGACAAGTCAAATGGAACATAAATCTTGGTTAGATGTTTTCTTCTTCCACTTGTATACCTTGGATTAAATAAAC
 10 TTATCACAGAAAATAAAACCAGAACCTTATTATCTTTGGATATCATTATTTCATTCAAATAACTACTTTGGCTACATGATTGCTCT
 TTTTTGTATTCTTTACGCCCTAGTTTGTCTTTTACGTCTCAATGATTTTAAACAAAATGTTTATCGCTTTTGTAGGTTTACAGCTGT
 GTCAATATGTGCTGCTTAAACAAGTCTAGTAATACTTCTACCTATCTAGATTTGTCAACTTATGGAGAGAATCTATCCCGGA
 TAAAACAGTTAGTTACGAACAATGCTTGGTTTTGGATATACCTGCTAAGCTCTCAATAGGAGTGTACGATACTACCAAGTTTAAAT
 GCTCTGCCATGATTTACGTAGGATTATTTCCCTAATGCTTAGTGTTATTTTACTTTAGAAAGTATCCCTTTAAAAATAAAA
 TTAGCCAATGCCTGCTTGTAACTTTTATTATAAAGTTTTACCTACAGCCACTTGATCTTTTTTGGCAGGGGATGCACTCACC
 15 AAATATGTTTTGCATCGCTACGCTTGGTCTTTTTCCATAGTTATCCTATTACTCGCATGTGAGACTCTCTCTCGACTAAAAGAAG
 TGACTCAAATAAAAGCAGGTTTTGCTTTTATTTCCCTCATTATACTGACATCTCTTCCITTATAGCTTTTCTCAACAATATAATTTCT
 ACCTTTAACTCTTTTTTACTTAGTGTTTTTTATTATTAGGTTATACTATTTCACTATTTTCGTTTAGAAATCTCAAATCCCATCTA
 CTTTTATTTCTGCTTTTCATACTTATCTTTAGCCTTCTTGAATCAGGGTTAAACACCTACTACCAGCTTCAAGGAATTAATAAGGAG
 TGGGATTTCCCATCACGACAGATATAATAGTCAATTAAGGATTTAAACAACCTTGTCAACTCTGTGTCAAAAATAGTCAACC
 TTTTTTAGAATGGAAAGGCTACTTCCCAAACAGGGAACGATAGCATGAAATTTAATTTACGGCATTTACAATTTTTCTCTG
 20 TAAGAAATAGACTATCTAGTTCTTTATTGGATCGATTGGGATTTCAAGTCTAAAGGCACAAATTTAAACCTTAGATACCAAACAAT
 ACTATTATTAGGACAGTCTACTTGGTATAAAATATAATCTTAGCGAAGGACCTCCAAATAAATTTGGATTTACAAAACAAAAACT
 AGCGGGAATACTACTCTTTATCAAATCACTATAGTAGCCCTTTAGCTATATTAACACGTAATGTTTACAAAGATGTCAACCTAAA
 TGCAATACCCTTGATAACCAAACCAAACTTAACTAACCACTAAGTGGGAAATCTTTAACCTATTTAACTTACAGCCAGCTCAAC
 TTATTTCTGGTCTAATCAATTTAACGGACAATATCTGCACAAGCTTCTGATTATCAAACCTCCGTTACCTTAATTTCAAATTA
 ACATCCCTAAACATAGTCAACTCTATGTTAGCATACCCAATATTATTTTTCAAATCCTGATGCTAAAGAGATGCGTATTACAGACA
 25 GATAATCATAATTTATATATACTACAGATAACGCTTACTTTTTTTGATTTAGGATATTTGCGCGATGCCAAAGTTGCTACATTT
 TCGTTTTTTTTCCAAAAATAAACAAATTAGTTTTAAGGAACCTCATTTTTATAGTTTGTCTATTGAATCTTACCTTGAAGCAATG
 AATAGCATTAAACAAAAAATGTTTACTACTACGCTAAAAGTAATACGGTAATCACTGATTATAATCAAACGAAAGGTTCTCTT
 ATTTTTACACTTCTTACGATAAAGGTTGGTCAGCACAAAAGATGGGAAAAATCTTCCAGTCAAAAAAGCACAAGGAGGATTTCT
 TATCAGTTACTATTCTAAAGGAAAGGACGTGTTATCCTTACCTTTATCTAATGTTTTAAATAGGGTTATCTCTATCTTGTG
 TAGGAATTATCGCTTATATGCTTTGTATAAGTACATAGATATAAAGTCTAAATTACTTTAG

ARF0450

Sec. ID 96

35 tttccagattctgcccacacggaggactattcctcgclatgttcagccctctgcaaaatgaacactacaactctcaacaccatcaccgagttggacggtttgctcclagcagaatccac
 gaccact

ARF0569

Sec. ID 97

45 tctgtttatttgggaaaaagaacccccgaaggtagc

ARF0694

Sec. ID 98

55 aaggtaggaaagaagaagttacaaagagaagctttggaattggctagatggattaagaacatctcagacgalaaccgacgaaaagacagaagatgaggcgtactatgacgga
 gatggaacagaagaacaaccgtg

ARF0700

Sec. ID 99

65 cttaccagaagaagcgattaaaaaatcacagaggctatcaaagttgatgacatcccgtctattaacaaagccttgatgacctcaaaaatagag

ES 2 330 334 T3

ARF1007

Sec. ID 100

5 tttgttctacaaaaatattccttatggcaa

ARF1145

10

Sec. ID 101

ccaataagtagcagaaaggctatccaggtaatcgclattatgggtggaacagaaigtgatattgctgaaacgcttgctattgaaacgtgctaaagaaactttcgggcccgcattgccaatgtt
caagccattccgggaagcaagccaatgcagcagctatatggcct

15

ARF1208

20

Sec. ID 102

ttcggaaacatctttgtgacttagttgctgttccctttgtatcctgttatcaaaaacttaaagaaaaggttacaatcggacaagcaaaaagaggttttg

25

ARF1262

Sec. ID 103

30

tgggttactgggtgtaaagtgggttttttgc

ARF1294

35

Sec. ID 104

claatgctgaaagccaagaaaaccaattcaaaactcglacattgtcccagccaacaaagaagttcaatcttcagaagctgticaatcaaacgaactgctaaaaccgttatcaclatgggt
tcttctcagactacactgtcg

40

ARF1316

45

Sec. ID 105

ccccgaaatggttggggacgtttgaacgttatgaaagactggcagaacaaggcatgaccatgtaattgttactcacgaaatgggatttgcgcgcaagtagc

50

ARF1352

Sec. ID 106

55

ttgatgaactgcccattgcacttctgcaaccaagcacaaggaacaacctgtattaaagatgctcaagaattacgagtc aaagaacagatcgtattcaa
g

60

ARF1481

Sec. ID 107

65

aaaacaacgaagtgtaactaccicaaacgtccaagctggcgaatccagactacaagaaccagattagaagaattgctclaggaagcatggacggatagaagatggatcagga
gatttttaatttttaacaacaacaaatcaaaaaagatttggtaaacggcgagtaagagactttgctaagttgctagtactgcgccgagggaatcgaaaaaatggagittaagccaattt
taattgga

ES 2 330 334 T3

ARF1557

Sec. ID 108

5 ggcagaagactaccaccaagattacctaagaaaaatccaaatggctactgcatat

ARF1629

10

Sec. ID 109

15 tttaggtcgccaggaagcagatattttagtagggacgcaaatgatgccaaaggactggatttccaaatgtgacttagttggggtaactaaatgcagatactcctaaaittgcggattttcgag
cgtcagaaaaaacglttcaatgttaacacaggttgcgtgctggcaggccgtgcca

ARF1654

20

Sec. ID 110

atgctgccaatcggtgaaatgctclaltatgatccagatcaacacacctttatcaaitttatccaaatcattggtccaggctgggttattttogggctclacctaattggatttccctattttatggga
atggcagaatcacagcag

25

ARF2027

30

Sec. ID 111

tctgattattttagacatcatgctcccttccctaagtggttagaagtgctaaaaacaattcgaaagacatcagatgtccctattattatgctaacggcattaga

35

ARF2093

Sec. ID 112

40 ttactgctgctgaagcagacatcaagctgaactgctgctgaaggcaaacagaaaagatctgggacaaaatcctccaggtaaaatggaccgctcatgcttgacaacactaaagtg
accaagcttaccacttctgacacaagittacatcatggacgacagcaaacgttgaagcttaccctgactcag

ARF2207

45

Sec. ID 113

50 cacctattcgtaaagacggttgagtagcctaagatatgggagagggttccgtagt-
tacaagaaggtagtcaaaaagcaagaactgtggcagccaagactttatcagaag

CRF0038

55

Sec. ID 114

ctgtacgctcccaatctctgcaaatcctttcttgatagattccatgtgaccag

60

65

ES 2 330 334 T3

CRF0122

Sec. ID 115

5 aacagacgtagactccttgacaatggtgaaatctatcagggkacggagccacttggcaccagcctgltttgacaacttattaacagggcagccatattaatcaacaataatcgccct
tgglatgglttgaalgaatcagctgcaglttcaaccttctgctcaccacaaa

10

CRF0406

Sec. ID 116

15 caagcaccacttgacgatcaccataacaagccaacatattggtcagggtatctt

20 CRF0416

Sec. ID 117

25 taltttcaagaaaacccttgaaggctgcaaatctggtgtgtcaccatttgagaaatggtaagacaggglttcttgggcatlttttcaagataaattgccatdgcattttaaggt
gccaagtggtgtagaccattgtcagaaatcglttgggtgacacatggctcctgaaccaagagtgacaagtccgtgaaagtgttaccgaca

30 CRF0507

Sec. ID 118

35 agcaaaaaaaaaggaaacaccgataccggttgaataacggtaaaggcagcaaaagcgttccataatcataglaaaaaataacctgccaagcacataagcgagaacgccaag
aagcggctacagcaggiaacaatccccgaatgagagaagcaatcacatcaccacaccagcagctgcaaaaatagctcc

40 CRF0549

Sec. ID 119

ctttttatacatcgatcggtttgatattggattttctcgtaatcaattttcttgtttgtccaaattacgatgatttttgaatggt

45 CRF0569

Sec. ID 120

50 tcgttatttgggaaaaaagaaaccccgaggtagc

55 CRF0628

Sec. ID 121

60 atcaaacattgacccaagcaaaacaacggatgccagatctaaggttctagtagcfaaccccttagggctaaaggaalagctgatccaatccaatgaggatgaacaccttagctgtaag
agataccgttcaatctttcaacaagg

65

ES 2 330 334 T3

CRF0727

Sec. ID 122

5 cggcctccaccaaatccaccctgctgtaagactglaaaaactgtttcaacggcggaagcctgtctggctggatalcaactggaattccacggccatcatctactadgtaatggaatt
atctgctcaataaagacttaata

10 CRF0742

Sec. ID 123

15 gaaaaagagttcaatcagtaactatcaagacgcaaaatacaagtcccataaagaacgcttactatcaatcttcaagagacaaggtatttgagg

CRF0784

20 Sec. ID 124

acaagggtagccccatatttccacaagcctggcaatatttctgagcctgttaccatcatagcctcattcaaggttttcttctctctgcatcaactgccgta

25 CRF0854

Sec. ID 125

30 tcacctttacaaaacagtttaacgcctctgcaactcaactttctogataaaacgctcctglaaaaccaccaagaacctgctgctgtagcaatgtctaaacgttcaagatgcgact
cacattaaagcctttaccocagcaaaactatcactctgccaigcgaifcactgaaccaagatttattggcaattctgacaataaagcaatagaagggtttaaggcacggta

35 CRF0875

Sec. ID 126

40 gatcacaatattattggcattatcaactaaaattgtcacaagttcaacaatgacttttctcctcgctt

CRF0907

45 Sec. ID 127

ccaatctgctggaccattttctgccaataaccgcatcaaaaccataaagcaaagctggat

50 CRF0979

Sec. ID 128

55 caatgtctcataattatcaataatcaatttccgataataaaaaactcctctg-
tatctgaaaagagcgtctcatgatataatattcatgcagaacaactctctgtgg

60 CRF1068

Sec. ID 129

65 gaaaaactcttcagaacggcgggcaacggtaacaactcaagtggtttccaanaagcaaatcagggctggcttatcgtttttgaaglcccgcaacaggaalagtgagccaagt
ttttctacacatcttggccacattgactgccaacgctccatcaacaataaakaagtaggagcttgcagtcctccttttaccocgactgfaacctgaaaaagcaactctctcactggc
ataatcatctggccaccactgttttaacttaattacgataatcttactaggttggcatcaacaaaaaaccaagccgaactggactgtccctgaaatgtagaattcaaaag
cttcaatgcgacaggtgcaatcciaag

ES 2 330 334 T3

CRF1152

Sec. ID 130

5 gataactgtcgcggatgcctctcgacgaatctcgataacaaaacgcactccttcacggctagattcgtcacgaactgctgtaataccttc

CRF1203

Sec. ID 131

10 ataggttccataaaccaactagtgagcttcgcttagtaacaatggatgaggtataaacattatataaaccttaataactcctactttgaggaatgc

CRF1225

Sec. ID 132

20 tacciaagtgtcagctgcctgaggggttccccaactgatcgtaacgcgaccaaacct-
ggttttataaagcaaaaaccaagcaagaacgaaaaagcaatggcgaagtaaccaa

CRF1236

Sec. ID 133

30 atacttgctaaaatagaaattagccaaaaaacactcataactataataataatgcgctca

CRF1362

Sec. ID 134

40 ttccagatgcaatgalaaggcattgcccgtgatagtcggttttcggtaaagagagaacctgcccittgagcaatcgctcgggaagtcggtgacaaaaagttgagaccaacccaata
atgacatcggatgat

CRF1524

Sec. ID 135

45 aaaticaalgttacgctttgcccactctgtcaaaacgagctgtcalcacittgttctcttatactttgcccattactctccttaaatcgccggagctaalatcagctctcaaaaggcataaaagaagtc
cgg

CRF1525

Sec. ID 136

55 gagacctcgtttgtagcagctcgttcatacgtctcggatctcccaaaataatcactcgttaagtcclaaaggctcggcaccaaatcgtcaaatcattgccagatctagaccgc
agcaatcaaaatcaagcgaactgattcaaaacctgataaagcttt

CRF1527

Sec. ID 137

65 aagagactggatgattgcaccctgatactctcgtgtatcaattgaacacgctcaaacggttcacattgacaccatcaattctttgatgataactctggacg

ES 2 330 334 T3

CRF1588

Sec. ID 138

5 gaatggcctaagtcagcaacactctcaacatttllacatgataagcgaagctatcggalaccgcattgalaaggtaaatgactttcacaaaagccagttcttitaagggtgcatctta
tcttggc

10 CRF1649

Sec. ID 139

15 catgaccatttgcacatcaacaatcgttgaagcaacttgaaatcttggctggatag-
taaacataatcaccagaatgataaatattataaagagctctgctgcgcacatcgggga

20 CRF1749

Sec. ID 140

25 gtcattgtaaaagcaccggcacaattgatttcaagacggctcaaaaacctctccgctatttaagcatcaattatcattaglaatgccagcattgtaactaaaacatcaatcgaacctaac
ttogalagcttcattgaccalacgfttagcttctgatgctctgaaacatcccagagatggtaacaactgtaacgccc

30 CRF1903

Sec. ID 141

35 agggaaattaccagatttagtctgcaatccgctaaaaccactagtaaggtgctcctaataaggacaatggcaccctcaatccctccagctgctccacttctggtattgctgtaaatca
atggtgtttggcaaaaacttttagcaaaagtacttgaatt

40 CRF1964

Sec. ID 142

45 gagcactttcaaccaaatcaccaaattgggcaaaaatggaaaaagagcgacccaaaaccaatggtaaaaagtgtgtggcgcataaacagacctat
caatcacca

50 CRF2055

Sec. ID 143

55 aaatcaaggctttaaggacttctgatcacctcgccaagggttttccctccaactatttagtattaagccatcactgttaacatctgctcaggcgttttgggattcgggatggcaca
ccatggacatcgaagggcaaccttttaaaaaaacgggttgcgaalaccaggaccgtca

60 CRF2091

Sec. ID 144

65 cgaaatgaaatcaacacttctctcctacgctttcttctacaaaata

65 CRF2096

Sec. ID 145

tgctccttagcagcttttaccaaattttcaaaaacagccattgttccaaaatcaggggtgaccgcccga

ES 2 330 334 T3

CRF2104

Sec. ID 146

5 gaggccaigtctgccagcgtgctgtctcttttagctgactctcttgatcagatagattggccaagtcctccgiggcatagctgccatgattttaaagtggctggctgtcttggaaggag
gtgtggg

CRF2116

Sec. ID 147

15 aattcaagctcgaccacctgggtgtttcaggattccaacatcacaccaacttttcacgcaattggtaataaagatagcgatagittttgtttataagaagctgataaattacgcatg
gcc

CRF2153

Sec. ID 148

20 aagagacctgccactacagccaccaacatcatgtcattttccaagccaagtgcgatag-
25 gaactttttgccacatccagataaaagcggacatcagaactgttccatagatggt

NRF0001

Sec. ID 149

30 attacctgttgccaagcaaacgcagcaactgttcaggaagcccagctttcaacaactctgtgaagcatctcttgtaagagaatgicattgtcaatgtcttgaacag
35 aaacatcaactcacgaagccaaggctctatgctgagacccagaacaacaagactacgatatcattcatcattggggggaccagactatcaagatccacggacctac
cttgacatca

NRF0003

Sec. ID 150

40 tctgggaagacaggattcgaacctgacacacctggtcccaaaccaagtactctaccaagc

SPy0012

Sec. ID 151

50 MRKLLAAMLMTFFLTPLPVISTEKKLIFSKNAVYQLKQDVVQSTQFYNQIPSNPNLYQETCAYKSDLTLPAGRLGVNQPLLIKSLVLNK
ESLPVFELADGTYVEANRQLYDDIVLNQVDIDSYFWTQKKLRLYSAPYVLTGTIPSSFLFAQKVHATQMAQTNHGTYYLJDDKGWA
SQEDLVQFDNRMLKVQEMLLQKYNPNYSIFVKQLNTQTSAGINADKKMYAASISKLAPLYVQKQLQKKLAENKTLTYTKDVENHFY
65 GDYDPLGSGKISKIADNKDYRVEDLLKAVAQQSDNVATNILGYLCHQYDKAFRSEIKALSGIDWDMEQRLLTSRANMMEAIYHQK
GQIISYLSNTEFDQQRITKNITVPAHKIGDAYDYKHDVAIVYGNTPFILSIFTNKSTYEDITAIADDVYGILK

SPy0019

Sec. ID 152

60 MKKRILSAVLVSGVTLGAATTVGAEDLSTKIAKQDSIISNLTTEQKAAQNQVSALQAQVSSLQSEQDKLTARNTLEALSFRFEQEIKAL
TSQIVARNEKLNQARSAYKNNETSGYINALLNSKSISDVVNRLVAINRAVSANAKLLEQQKADKVSLEEKQAANQTAINTIAANMAMA
EENQNTLRTQQANLVAATANLALQLASATEDKANLVAQKEAAEKAAAEALAEQAAKVKAEQAAQQAASVEAAKSAITPAPQATPA
65 AQSSNAIEPAALTAPAAPSAGPQTSYDSSNTYPVGQCTWGAKSLAPWAGNNWGNNGQWAYSAQAAGYRTGSTPMVGAIAVWWD
GGYGHVAVVVEVQSASSIRVMESNYSGRQYIADHRGWFNPTGVTFIYPH

ES 2 330 334 T3

SPy0025

Sec. ID 153

5 MSSYFVAPLSDLVSYMKNRIFVEKKADFGIKSASLVKELTHNLQLTSLKALRIVQVYDVFNLAE DLLARA EKHFSEQVTDCLLTETEIT
 AELDKVAFFAJEALPGQFDQRAASSQEALLLFGSDSQVKVNTAQLYL VNKDITEAELEAVKNYLLNPVDSRFKIDITLPLEEQAFSVSDK
 TIPNLDFFETYQADDFATYKAEQGLAMEVDDLLFIQNYFKSIGCVPTETELKVLDTYWSDHCRHTTFETELKNIDFSASKFQKQLQTTY
 DKYIAMRDELGRSEKPTLMDMATIFGRYERANGLRDDMEVSDEINACSVIEVDVDGVKEPWLLMFKNETHNPTEIEPFGGAATCI
 10 GGAI RDPLSGRSYVYQAMRISGAGDITPIAETRAGKLPQQVISKTA AHGYSSYGNQIGLATTYVREYFHPGFVAKRMELGAVVGAAP
 KENVVREKPEAGDVILLGGKTGRDGVGGATGSSKVQTVESVETAGAEVQKGNAIERKIQR LFRDGNVTRLIKKSNDFGAGGVCVA
 I GELADGLEIDLKVP LKYQGLNGTEIAISEQERM SVVWRPNVDVAFIAACNKENIDAVVATVTEKPNL VMTWNGEIIVDLERRFLDT
 NGVRVVVDAKVVDKDLTVPEARTTSAETLEADTLKVL SOLN HASQKGLQTIFDSSVGRSTVNHPIGGRYQITPTESSVQKLPVQHGV T
 TTASVMAQGYNPYIAEWSPYHGAAYAVIEATARLVATGADWSRARFSYQEYFERMDKQAERFGQPVSALLGSIEAQIQLGLPSIGGK
 15 DSMSGTFEDLTVPPTLVAFGVTTADSRKVLSPFEKAAGENIYYIPGQAI SEDIDFDLIKDNFSQFEAIQAQH KITAASAAYGGVLES LAL
 MTFGNRIGASVEIAELDSSSLTAQLGGFVFTSAEEIADAVKIGQTQADFTVTVNGNDLAGASLLAAFE GKLEEVYPTFEQTDVLEEVPA
 VVSDTVKAKETIEKPVVYIPVFPGTNSEYDSAKAFEQVGASVNLVPFVTLNEVAIAESVDTMVANIAKANIIFFAGGFSAADEPDGSAKF
 IVNILLNEKVRAAIDSFIEKGGLIIGICNGFQALVKSGLLPYGNFEEAGETSPTLFYNDANQHVAKMVETRIANTNSPWLAGVEVGDHAI
 PVSHGEGKLVVSASEFAELRDNGQIWSQYVDFDGGQPSMDSKYNPNGSVNAIEGITSKNGQIIGKMGHSERWEDGLFQNI PGNKDQIL
 FASAVKYFTGK

20

SPy0031

Sec. ID 154

25 MKKFHRLVSGVILLGFNGLVPTMPSTLISQQENLVHAAVLGDNYP SKWKKGNGIDSWNMYIRQCTSF AAFRLSSANGFQLPKGYGN
 ACTWGHIAKNQGYPVNKTPSIGAJAWFDKNAYQSNAAYGHVAVVADIRGDTVIEEYNYNAGQGPERYHKRQIPK SQVSGYIHF KDL
 SSQTSHSYPRQLKHISQASFDPSGTYHFTRRLPVKQTSIDSPDLAYYEAGQSVYD KVVTAGGYTWLSYLSFSGNRRYIPIKEPAQS
 30 VVQNDNTKPSIKVGDVTFPPGVFRVDQLVNNLIVNKELAGGDPTPLNWIDPTLDET DNQGKVLGDQILRVGEYFIVTGSYKVLKIDQP
 SNGIYVQIGSRGTWVNADKANKL

30

SPy0103

Sec. ID 155

35 MINQWNNLRHKKLKGFTLLEMLLVILVISVLMMLFV PNL SKQKDRVTETGNAAVKLVENQAELYEL SQGSKPSLSQLKADGSITEKQE
 KAYQDYD KHKNEKARLSN

40

SPy0112

Sec. ID 156

45 MKIGIIGVGKMASAIKGLKQTPHELIJSGSSLERSKEIAEQ LALPYAMSHQDLJDQVDLVILGIKQ L FETVLKPLHFKQPIISMAAGISLQR
 LATFVGQDLPLLRIMPNMNAQILQSSTALTGNALVSQELQARVRDLTDSFGSTFDISEKDFDTFTALAGSSPAYIYLFIEALAKAGVKNG
 50 IPKAKALEIVTQTVLASASNLKTSQSPHDFIDAICSPGGTTIAGLMELERLGLTATVSSAIDKTIDKAKSL

50

SPy0115

Sec. ID 157

55 MTDLFSKIKEVTELDGIAGYEHSVRDYLRTKITPLVDRVETDGLGGIFGIRDSKA EKAPRILVA AHMDEVGFMVSDIKVDGTLRVV GIGG
 VVNP L VSSQRFTLYTRTGQV IPLISGSVPPHFLRGANGSASLPHIEDIVFDGGFTDKAE AERFGITPGDHIIPQSETILTANQKNII SKAWD
 60 NRYGLVMITEMLEALKGQDLNNTLIAGANVQEEVGLRG AHVSTTKFDP E LFFAVDCSPAGDIYGNP GTIGDGTLLRFYDPGHV MLKD
 MRDFLLTTAEAGVNFQYYCGKGGTDAGAAHLQNGGVSTTIGVCARYIHSHTLYAMDDFVEAQAFLQAIK LDRSTVDLIKCY

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0166

Sec. ID 158

5 MEDISDPEVILEYGVYPAFIKGYTQLKANIEEALLEMSNSGQALDIYQAVQTLNAENMLLNYYEELPFYLNQRSILANMTKALKDAHIRE
AMAHYKLGFAHYQDTMLDMVERTIKTF

10 SPy0167

Sec. ID 159

15 MSNKKTFKKYSRVAGLLTAALIIGNLVANAESNKQNTASTETTTTNEQPKPESELTEKAGQKTDDMLNSNDMIKLAPKEMPLESA
EKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGETIENFVPEGVKADKFVIERKKKNINTPVDISIISVTDRTYPAALQL
ANKGFTEKNPDAVVTKRNPQKIHLDPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDLNVQWHDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQIEAAL
NVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNVAYGRTVFKLETSSK
20 SNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVWTKDFVIRNVKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGV
NNRTEYVETTSTEYTSKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGEVITKRRWDNNWYSKTSFPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLA
WEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK

25 SPy0168

Sec. ID 160

30 MKQQSYQPLRFVYLLVALFAALLLIARPVMADEGTNSADAAYYKQGSAGKKAGKAGKEATWDLTPTVPTNPETPSDIGETTNIKQL
YKEGYKDGYPEGYNEGWSQYPVLTVPKVIWDLISYWLQRLFPNNQSSTAQSMS

35 SPy0171

Sec. ID 161

VKNKFLVALATVTVLGPSLATPHHQTVHASDVTLTETCDKNGTVCFGYENVGDGEVCKLTADGKGTICVGYENRDIKESETSSTKNDC
SNWFWCFLNYLWTTIKSWVS

45 SPy0183

Sec. ID 162

50 METILEVKHLSKIFGKKQKAALEMVKTGKNKSEIFKKTGATVGVYDASFEVKKGEIFVIMGLSGSGKSTLVRMLNRLIEPSAGSILLEGK
DISTMSADQLREVRRHDINMVQSFALFPHKTILENTEFGLLELRGVPEERQRLAEKALDNSGLLDFKDQYPNQLSGGMQQRVGLAR
ALANSPKILLMDEAFSALDPLIRREMQDELLDLQDSMKQTIIFISHDLNEALRIGDRIALMKDGGIMQIGTGEEILTNPANDFVREFVEDV
DRSKVLTANIMIKPLTTTVELDGPQVALNRMHNEEVSMMLMATNRRRLVGSLTADAAIEARKKGLPLSEVIDRDVRTVSKDTIITDILP
LIYDSSAPIAVTDDNNRLLGVHIRGRVIEALANISDEDLN

55 SPy0230

Sec. ID 163

60 MKTARFFWFYFKRYRFSFTVIAVAVILATYLQVKAPVFLGESLTELKGIQAYYVAKMSGQTHFSPDLSAFNAVVMFKLLMTYFFTVLAN
LIYSFLLTRVSHSTNMRKGLFGKLERLTVAFFDRHKDGEILSRFTSDLDNIQNSLNQSLIQVVTNIALYIGLVWMMFRQDSRLALLTIA
STPVALIFLVINIRLARKYTNIQQQEVSALEAFMDETISGQKAIIVQGVQEDTMTAFLKHNERVROATFKRRLFSGQLFPVMNGMSLINT
AIVFVGSTIVLSDKSMPAAAALGLVYVTVQYSQQYYQPMMQIASSWGELQLAFTGAHRIQEMFDETEEVRPQNAPAFSTLKEAVAIN
HVDFGYLPQQKVLSDVSIVAPKGMIAVVGPTGSGKTTIMNLINRFYDVGASITFDGRDIRDYDLDSLRLQKVGIVLQESVLFSGTITDN
IRFGDQTSIQDMVETAARATHIHDIFIMSLPKGYNTYVSDDDNVFSTGQKQLISIARTLLTDPEVLILDEATSNDVTVTESKIQRAMEAIVA
65 GRTSFVIAHRLKTI LNADHIVLKDGVIEQGNHHELLHQKGFYAELYHNQFVFE

ES 2 330 334 T3

SPy0269

Sec. ID 164

5 MDLEQTKPNQVKQKJALTSTIALLSASVGVSHQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATIDAVEKTLSSQQKAELTELATALT
 KTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNLASSEETLLAQGAHQRELTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVE
 QVKTSEQNIAKLNAMISNPDITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAELSRKSSAPSTQDS
 IVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASGYIGSASYNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFPDNLTPVQNELAQFAAHMI
 NSVRRQLGLPPVTVAGSQEFARLLSTSYYKTHGNTRPSFVYQGPVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDV
 10 HTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLSNEHFVMPESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKD
 YAQRVGTVSDTIAAIKGVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLE
 ATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLNAQEALAAALQAKQ
 SSLEATIATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLEASARLAAENTSLVAEA
 LVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSKTSYSGSSTSNLISDVDESTQRALKAGWMLAAVGLTGFRFRKESK

15

SPy0287

Sec. ID 165

20 MTKEKLVAFSQAHAEPAWLQERRLAALAEIPNLEPTIERVKFHRWNLGDGTLTENESLASVPDFAIGDNPKLQVQGTQTVLEQLPM
 ALIDKGVVFSDFYTALEEIPEVIEAHFGQALAFDEDKLAAHYHTAYFNNSAAVLYVPDHEITTPIEAIFLQSDSDVFPNKHVLIAGKESKF
 TYLERFESIGNATQKISANISVEVIAQAGSQIKFSAIDRLGPSVTTYISRRGRLEKIDANIDWALAVMNEGNVIADFSDLIGQGSQADLKV
 25 VAASSGRQVQGDTRVTNYGQRTVGHILQHGVILERGTLTFNIGHILKDAKADAQQESRVLMLSDQARADANPILLIDENEVTAGH
 AASIGQVDPEDMYLMSRGLDQETAERLVIRGFLGAVIAEIPISVRQEIIKVLDEKLLNR

30

SPy0292

Sec. ID 166

35 MIKRLISLVVIALFFAASVSGEEYSVTAKHAIJAVDLESGKLVYEKDAKEVVPVASVSKLLTTYLVYKEVSKGKLNWDSPTVISNYPYELT
 TNYTISNVPDLKRYTVKELLSALVNNANSPAIALAEKIGGTEPKFVDKMKQLRQWGISDAKVVNSTGLTNHFLGANTYPNTEPDD
 ENCFCATDLAIARHLLLEFPEVLKLSKSSTIFAGQTIYSYNYMLKGMPCYREGVDGLFVGYSSKAGASFVATSVENQMRVITVVLNA
 DQSHEDDLAIFKTTNQLLQYLLINFQKVQLIENNKPVKTLVYLDSPKTVKLVQAQNSLFFIKPIHTKTKNTVHITKKSSTMIAPLSKGGVVLG
 RATLQDKHLIGQGYLDTPPSINLILQKNISKSFFLKVWWWRFVRYVNTSL

40

SPy0295

Sec. ID 167

45 MESIDKSKFRFVERDSEASEVIDTPAYSYWKSVFRQFFSKKSTVFMVLVILVTLMMSEFIYPMFANYDFNDVSNINDFSKRYIWPNAEY
 WFGTDKNGQSLFDGWWYVYGARNSILISVIATLINITIGVVLGAIWGVSKAFDKVMIIEYNIISNIPSMIIIVLTYSLGAGFWNLILAFKITGWIG
 VAYSIRVQILRYRDLLEYNLASQTLGTPMYKIAVKNLLPQLVSVIMTMLSQMLPVVVSSEAFLSFFGIGLPTTTPSLGRFIANYSSNLTNA
 YLFWIPLVTLVSLPLYVGVQNLADASDPRSHR

50

SPy0348

Sec. ID 168

LALDFDKDKDQQQSRFKEQILAELEKANQIRKEKEEELFQKELEAKEAARRTAQLYAEYKRQDAFQKESIAHNNKTAKHFQAIKGA

60

VMTSEALKPTLLSEKENSSLKTTNKRVOANELQETASKESQVPLTIEKGHSVRRKLSKRQQTERAAKKISTVLISSIIITLLAVTLGAG
 YVYSALNPVDKNSDAFVQVEIPSGSGNKLIGQILQKKGLIKNSTVFSFYTKFNFTNFQSGYYNLQKSMSLEEIASALQEGGTAEPK
 SLGKILPEGYTIKQIAKAVEHNSKGGTKKAKTPFNEKDFLDLVTDEAFIQDMVKRYPKLLATIPTKEKAIYRLEGYLFPATYNYKETT
 RELVEDMLAAMDATLVYYDKIAASGKTVNEVLTASLVEKEGSTDDRRQIASVFYNRNLNSGMALQSNIAIYAMGKLGKTTLAEDA
 65 TIDTTINSYPNIYNTGLMPPVASSGVSAEATLNPASTDYLYFVANVHTGEVYYAKTFEEHSANVEKYVNSQIQ

ES 2 330 334 T3

SPy0416

Sec. ID 169

5 VEKKQRFLSRKYKSGTFSVLIGSVFLVMTTVAADELSTMSEPTITNHAQQQAHLTNTLSSAESKSQDTSQITLKTNREKEQSQDL
 VSEPTTTELADTDAASMAN TGSDATQKSASLPPVNTDVHDWVKTKGAWDKGYKGQKVVAVIDT GIDPAHQSMRISDVSTAKVKSK
 EDMLARQKAAGINYGSWINDKVVFAHNYVENSNDNIKENQFDFEDWENFEFDAEAEPKAIKHKIYRQSTQAPKETVIKTEETDGS
 HDIDWTQTD DDTKYESHGMHVTGIVAGNSKEAAATGERFLGIAPEAQVMFMRV FANDIMGSAESLFIKAIEDAVALGADV INLSLGT
 10 NGAQLSGSKPLMEAIKAKKAGVSVVAAGNERVY GSDHDDPLATNPDYGLV GSPSTGRTPTSVAAINSKWVIQRLMTVKELN RAD
 LNHGKAIYSESVDKDIKDSLGYDKSHQFAYVKESTDAGYNAQDVKGKIALIERDPNKTYDEMIALAKKHGALGV LIFNNKPGQSNRS
 MRLTANGMGIPSAFISHEFGKAMSQLNGNGTGSLEFDSVVS KAPSQKGNEMNHFSNWGLTSDGYL KPDITAPGGDIYSTYNDNHYG
 15 SQTGTSMAS PQIAGASLLVKQYLEKTQPNLPKEKIADIVKNLLMSNAQIHVNPETKTTTSPRQQGAGLLNIDGAVTSGLYVTGKDNYG
 SISLGNITD TMTFDVTVHNL SNKDKTLRYDTELLTDHVDPQKGRFTLTSHSLKTYQGG ETVVPANGKVTVRVTMDVSOFTKELTKQMP
 NGYYLEGFVRF RDSQDDQLNRVNI PFVGFKGQFENLAVAEESYRLK SQGKTGFYFDES GPKDDIYVGKHFTGLVTLGSETNVSTKTI
 SDNGLHTLGT FKNADGKFILEKNAQGNPVL AISPNGDNNQDFAAFKGVFLRKYQGLKASVYH ASDKEHK NPLWVSPESFKGDKM FN
 20 SDIRFAKSTLLGTAFSGKSLTGAELPDGHYHYVVSYPDVV GAKRQEMT FDMILDRQKPVLSQATFDPETNRFKPEPLKDRGLAGV
 RKDSVFYLERKDNKPYT TINDSYKYVSVEDNKTFVERQADG SFILPLDKAKLGD FYYMVEDFAGNVAIAKLDHLPQTLGKTPIK LKL
 TDGNYQTKETL KDNLEMTQSDTGLVTNQAQLAVVHRNQ PQSQTLMNQDFFISP NEDGNKDFVAFKGLKNNVYNDLTVN VYAKDDH
 QKQTP IWSSQAGASVSAIESTAWYGITARGSKVM PGDYQYVVTYRDEHGKEHQKYTTISVNDK KPMITQGRFD TINGVDHFTPDKTK
 25 ALDSSGIVREEV FYLAKKNGRKFVTEGKDGITVSDNKVYIPKNPD GSYTISKRDGVTLSDYYLVEDRAGNV SFATLRDLKAVGKDK
 AVVNFGLDL PVPEDKQIVNFTYLVRDADGKPIENLEYNNSGNSLILPYGKYTV ELLTYDTNAAKLES DKIVSFTLSADNNFQQVTFKIT
 MLATSQITAHFDHLLPEGSRVSLKTAQDQLIPLEQSLVY PKAYGKT VQEGTYEVV VSLPKGYRIE GNTKVNTLPNEVHEL SLRLVKVGD
 ASDSTGDHKVM SKNNSQALTA SATPTKSTTSATAKALPSTGEKMGLKLRIVGLVLLGLT CVFSRKKSTKD

SPy0430

Sec. ID 170

30 MKWSGFMKTKSKRFLNLATLCLALLGTTLLMAHPVQAEVISKRDYMTFRGLGDLEDD SANYPNLEARYKGYLEGYEKGLKDDIPE
 RPKIQVPEDVQPSDHGDYRDGYEEGFGEQHKRDPLETEAEDDSQGG RQEGRQGHQEGADSSDLNVEESDGLSVIDEWGVYIQA
 FSTIWTYLSGLF

SPy0433

Sec. ID 171

40 MKKTLTLLLALFAIGVTSSVRAEDEQSSTQKPVKFDLDGPPQKIKDYS GNTITLEDLYVGSKVVKIYIPQGWVVYLYRQCDHNSKERGI
 LASPILEKNITKTDPRYQYTTGVPYILNLG EDPLKKGKELTFSFKGEDGFYVGSYIYRDSDTIKKEKEAEALQKKEEKQKQLEESM
 LKQIREE DHKPWHQRLSESIQDQWWNFKGLFQ

SPy0437

Sec. ID 172

50 MKKTLTLLLALFAIGVTSSVRAEDEQNKFILDLQEKVKEVSVSDFSVGESKIKWVLPQAWSVKISREHSPKSSISNSGEQKPLSNSSE
 NKEGQFSKRLPYGTQHTIKLSSQLTKGERVTLFRDED FWGAGYCFYRDSLSIKEDKQYEEI KIEDDLERQLENDALEMFKKQTE
 REANKPWHQRLSENIQDQWWNFKGLFQ

SPy0469

Sec. ID 173

60 MIITKKSFLVTSVALSLVPLATAQAQEWTPRSVTEIKSELVLDNVFTYTVKYGDTLSTIAEAMGIDVHVLGDINHIANIDLIFPDTILTANY
 NQHGOATNLTVQAPASSPASVSHVPSSEPLQASATSQPTVPMAPPATPSDVPTTFFASAKPDSSVTASSELTSSTNDVSTELSSSE
 QKQPEVPQEA VPTPKAAETTEVEPKTDISEAPTSANRPVPNESASEEVSSAAPAQAPAEKEETSAPAAQKAVADTT SVATSNGLSYA
 PNHAYNPMNAGLQPQTA AFKEEVASAFGITSFSGYRPGDPGDHGKGLAIDFMPENSALGDQVAQY AIDHMAERGYSYVWKQRFY
 65 APFASIYGPAYTWNPM PDRGSITENHYDHVHVSFNA

ES 2 330 334 T3

SPy0488

Sec. ID 174

5 LRQIQSIRLIDVLELAFGVGYKEETTSQFSSDQPSQVLYRGEANTVRFAYTNQMSLMKDIRIALDGS DKSLTAQIVPGMGHVYEGFQT
SARGIFTMSGVPESTVPVANPNVQTKYIRYFKVIDDMHNTMYKGTVFLVQPQAWKYTMKSVDQLPVDDLNHIGVAGIERMTTLIKNAG
ALLTTGGSGAFPDNIKVSINPKGRQATITYGDGSDIIPPAVLWKKGSVKEPTEADQSVGTPTPGIPGKFKRDQSLNEHEAMVNV EPLS
HVVKDNIKVIDEKSTGRFEPFRPNEDEKEKPASDVKVRPAEVGSWLEPATALPSVEMSAEDRLKS

10

SPy0515

Sec. ID 175

15 MKVLLYLEAENLYLRKSGIGRAIKHQAKALSLVGQHFTTNPRETVDLHLNNTYGLKSWLLMIKAQKAGKKVIMHGHSTEEDFRNSFIFSN
LLSPWFKKYLCHFYNKADAIITPLYSKLIESYGVKSPIFAVSNGIDLEQYGADPKKEA AFRRYFDIKEGEKVVMGAGLFFLRKKGIDDF
VKVAQAMPDVRFIWFGETNKWVIPAQVRQMVNGNHPKNLIFPGYIKGDVYE GAMTGADAFFP SREETEGIVLEALASRQHLVLRDI
PVYYGWVDQSSAELATDIPGFIEALKKVFSGASNKVEAGYKVAQSRRL ETVGHALVDVYKVMEL

20

SPy0580

Sec. ID 176

25 MENNNHNHIAEALSVSLHQIEQVLALTAQGNTIPFIARYRKEVTGNLDEVVIXSIIDMDKSLTTLNERKATILAKIEEQGKLT DQLRSTSIEA
TEKLADLEELYLPYKEKRRTKATIAREAGLFLARLJLQNAQNLETA AEPFVTEGFASPQEALAGAVDILVEAMSEDAKLRSWTYNEIW
QYSRLVSTLKDEQLDEKKVFQIYYDFSDQVSNMQGYRTLALNRGEKLGILKVSFEHNLEKMQRFFSVRFKETNPYIEEVINQTIKKKIV
30 PAMERRVRSELSDAEEDGAIHLFSENLRHLLLVSPLKGMVLFDPAPFR TGAKLAJVDQTGKLLTTQVIYPVAPASQTKIQA AKETLTQ
LIETYQIDIHAIAGNGTASRESEAFVADVLKDFPNTSYVIVNESGASVYSASELARHEFPDLTVEKRS AISIARRLQDPLAELVKIDPKSIGV
GQYQHDVVSQKLSENLGFVDTWNQVGVVNTASPSLLAHVSGLNKTI SENIVKYREENGALTSRADIKVPRLGAKAFEQAAGFLR

35 IPGAKNILDNTGVHPESYPAVKELFKVLGIQDLDDAAKATLAAVQVPQMAETLAIGQETLKDIIADLLKPGDRDRDDFEAPILRQDILD LK
DLEIGQKLEGTVRNVDFGAFVDIGVHEDGLIHISEMSKTFVNHPSQVSVSGDLVTWWSKIDLDRHKVNL SLLPPRDTH

40 SPy0621

Sec. ID 177

45 MNEKVFRDPVHNYIHIDNPLIYDLINTKEFQRLRRIKQVPTTAFTFHGAEHSRFSHCLGVYEIARRVTAIFE EKYADIWNKDES LVTMTA
ALLHDIGHGAYSHTFEVLFHTDHEAFTQEIITNPETEINAILVRHAPDFDPKVASVINHTYPNKQV VQLISSQIDCDRMDYLLRDSYFSA A
NYGQFDLMRILRVIRPVEDGIVFEHSGMHAVEDYVSRFQMYMQVYFHPASRAVELILQNL LKRAQHLYPEQQAYFQKTAPGLIPFFE
KKANLADYIALDDGVMNTYFQVWMASEDHILSDLASRFINRILKSVTFDQDSQGELERLQLVESVGFDPDYTTGIHINF DLPYDIYR
PELENPRTQIEMMQDGLAELSLSPIVKALTGTTYGDRRFYFPKEMLEDDL FAPSKETFMSYISNGHFHFSQ

50

SPy0630

Sec. ID 178

55 MDINLLQALLIGLWTAFCFSGMMLGIYTNRCIILSFGVGII LGDLP TALS MGAJSELAYMGFGV GAGGTVPPNPIGP GIGTLMAIT SAGKV
TPEAALALSTPIAVAIQFLQTFAYTAFAGAPETAKKQLQKGNIRGFKFAANGTTWAF AFIGLGLL GALSMDTLLHLVDYIPVLLNGLT
VAGKMLPAIGFAMILSVMAKKELIPFVLIGYVCAAYLQIPTIGIAIIGIIFALNEFY NKPKQVDATTVQGGQDDWI

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0681

Sec. ID 179

5 LTPRSGKTTAGHFRYARYLIESEDENHLVTAYNQEQAYRLFDGDGTGLMHIFDGNCEIKHDERGDHLLITTPKGNKRYYKGGGKVN
SVGAJTGMSLGSVVFCEINLLHMDFIQECFRRTWAAKLRHYHLADLNPPAPQHPVIKDVFDVQNTWRTHWTMDDNPILTAERKQNIINS
LKKNPYLYKRDVLGQRVMPQGVYGLFDTEKNVLDALIGEPVEMYFCADGGQSDATSMSCNIVTRVRDNGRISFRLNRVAHYHSGA
DTGQVKAMSTYALELKVFDWCVKYQMRYTEVFVDPACKSLREELHKLGVFTL GAPNNSKDVSSKAKGIEVGIERGQNIISDGAFYL
VNHSEEEYDHYHFLKEIGLYSRDDNGKPIDKDNHAMDEFRYSVNVFVHRYYN

10

SPy0683

15 Sec. ID 180

20 MKKKPIKLNDEQLLEASQLSDMYHQLTDLDFQVIERIKARGSASLADNPYLWQANKLHDVGLLNADNIKLIKYSGIAEAQLRYIIKNE
GFKIYKNTSEQLLEALGRESGVNSTIQDDL SNYARQAIDDVHNLNTTLPFSVIGAYQGIHQDAVAGVVTGLKTPDQAINQTVIKWFKKG
FYGFTDKAGRKWRADSYARTVINTTTWRVFNFAKEAPAREFGIDTFYYSKKATAREMCAPLQHQIVTTGEAREEGGKILALSDYGHG
EPDGCLGINCKHTKTPFVGVNSKPELPEHLKNITPAQAKANANAQAKQRAIERSIRKSKELLHVAKQLGDKELIRQYQSDVRSKQDA
LNYLINNNAFLHRNQAREKRYNNPYTKTQSEVEVRKEKAKLDRDVESAIIGVETSEGIPLKITKHLAERAVLRNIAPIDIVDSIKEPLKI
APIKYDNLDRPSQKYIGKCVSTVINPIDGNIVTVHATSTRIRKYYGGN

25 SPy0702

30 Sec. ID 181

35 MSRDPTLILDESNLVIGKDRVHYTFTTEDDNPVRLASKCLGTAHFNQLMIERGDQATSYPVAPVVEGTGNPTGLFKDLKEISLELTD
TANSQWLSKIKLTNRGMLQEYYDGKIKTEIVNSARGVATRISEDTDKLLALINDTIDGIRREYRDADRKLSASYQAGIEGLKATMANDKI
GLQAEIKASAQGLSQKYDDELRLKLSAKITTTSSGTTEAYESKLAGLRAEFTRSNQGTTRTELESQISGLRAVQQSTASQISQEIIRDREGA
VSRVQQSLESYQRRMQDAEENYSSLTHTVRGLQSDVGSPTGKIQSRLTQLAGQIEQRVTRDGVMSIISGAGDSIKLAIQKAGGINAKM
SGNEIISAINLSYGVTIAGKHIALDGNNTVNGTFTTKIAEAIKIRADQIIAGTIDAAIRVINLNASSIVGLDANFIKAKIGYAITDLLEGKVIK
ARNGAMLIDLNTAKMDFNSDATINFNSKNNALVRKDGHTAFVHFSNATPKGYTGSALYASIGITSSGDGVNSASSGRFAGLRSFRYA
40 TGYNHTAAVDQTEIYGDNLVVDNFNITRGFKFRPDKMQKMLDMNDLYAAVVALGRCWGHLANVGNWNTAHSNFTSAVNRELNYYIT
KI

45 SPy0710

50 Sec. ID 182

55 MTFLDKIKQGCCLDGWAKYKILPSLTAQAILESGWGKHAPHNALFGIKADSSWTGKSFDTKTQEEYQAGVVTDIVDRFRAYDSWDESI
ADHGQFLVDNPRYEAIVGETDYKKACYAIKAAGYATASSYVELLIQIEENDLQSWDREALKNNKEETMTTANEIVQYCVNLANSGMG
VDKDGAGHTQCCDLPCFVAKNWFGVDLWGNAILDLSASAQGWVHRMPTANPKAGATFVQSVPHYHQFGHTGIVIEDSDGYTMR
TVEQNIDGNPDALYVGAPARFNTRDFTGVIGWFYPPYQGDVTQPVSTEPQTSDTIVETAKTGTFTLDVAEINIRRWPSLASEVVGIYK
QGDVVSFDSEGYANGYWIYVGGSGMRNYLGIGQTDKDGNRISLWGKLN

50

55 SPy0711

60 Sec. ID 183

65 MKKINIKIVFIITVLISTISPIIKSDSKKDISNVKSDLLAYTITPYDYKNCRVNFSTHTLNDTQKYRGKDYIISSEMSYEASQKFKRDDH
VDVFGFLYILNSHTGEYIYGGITPAQNNKVNHKLLGNLFSGESQQLNKKILEKDIVTFQEIDFKIRKYLMDNYKIYDATSPYVSGRIEIG
TKDGKHEQIDLFDSPNEGTRSDIFAKYKDNRIINMKNFSHFDIYLEK

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0720

Sec. ID 184

5 MITTFETILDKIKAHQTIHHRHQNPDPDALGSQAGLKEIIAQNFDPDKVLMTGFDEPSLAWISQMDQVTDKDYKEALVIITDTANRPRIDD
ERYTLGKCLIKIDHHPNDDVYGDFYYVDTSSASSASEIADFAFSQNLTLSDKAAKLLYT GIVGDTGRFLYASTTSKLSIASQLRHFEFDF
AAISRQMDSFPLKIAKLSYVFEHLTIDESGAAYVLSQETLKHFDVTLAESSAIVCAPGKIDNVQAWAIFVELTDGNYRVRMRSKEKII
NGIAKRHHGGGGHPLASGANSANLEENQAIFRELIJAVCQEI

10

SPy0727

Sec. ID 185

15 MIEENKHFEKKMQEYDASQIQVLEGLEAVRMRPGMYIGSTAKEGLHHLWWEIVDNSIDEALAGFASHIKVFIEADNSITVDDGRGIPV
DIQAKTGRPAVETVFTVLHAGGKFGGGGYKVSGLHGVS SVVNALSTQLDVRVYKNGQIH YQEFKRGAVVADLEVIGTTDVTGTTV
HFTPDPEIFTETTQFDYSVLAKRIQELAFLNRLKISITDKRSGMEQEEHFLYEGGIGSYVEFLNDKDKVMFETPIYTDGELEGI AVEVAM
QYTTSYQETVMSFANNIHTHEGGTHEQQFRAALTRVINDYAKKNKILKENEDNLTGEDVREGLTAVISVKHPNPQFEGQTKTKLGNSE
20 VVKITNRLFSEAFQRFLLNPQVARKIVEKGILASKARIAAKRAREVTRKKSGLAISNLPGLADCSSNDANQNELFIVEGDSAGGS AKS
GRNREFQAILPIRGKILNVEKATMDKILANEEIRSLFTAMGTGFGADFDVSKARYQKLVIMTDAVDGAHIRTLLTLIYRFMRPVLEAG
YVYIAQPPYIGVKVSEIKEYIQPGIDQEDQLKTALEKYSIGRSKPTVQRYKGLGEMDDHQLWETTMDPENRLMARVTVDDAAEADKV
FDMLMGRVPRRDFIENAVYSTLDI

25

SPy0737

Sec. ID 186

30 MRKVKKVVFSSCMLLTVGLGVAVPTGFSQSNGVMVKA AEV PATDL SRQASDSERVDESSLLQKENLSVDSFKLENLNGWEAENDT
AGNLGKFKDPDSSGYQNILTSSGKNISVAVAPKGS GKMNIKVTKRSNFQGGYYVGGRLRTQTPVLKLN DVYRYSFTTKKLSGNSSEFK
TRVKPVESNNKLGKELVIRVDNKNVSTKHDWLPDISDGH TVDFTGLDKKLSVAFRFSPRQTSN VVYEF SNINIKNISPASVPAIPSKVL
EGT SVLSGTAISSGDTLEKRKSF DGDILRVYKDSKIARTVIKGNKWDVKLSKPLIAGEKLD FEILHPRS QNVSKKISKQVEAKPFPDASY
KEKVI AKLPVYEATSEKITNDAWLDENAKDLQKQKLEEQYISGNKVAISEAGTKQEAIDAA YNKYSSQTD PDSLPSQYKQGNKENEQE
35 KGRQDLIQRDLTKAIQEDKWLTEQEKTIQKEEALKAFETGIESVNQTVSLEQLKQRLIVYKASEKDSEKKEYPESIPNQHIPGKEKEV
KAAIQEELKKLHDTTLEKINQDKWLPDQQAELKQAEVTFKKGQEA IKSQAQTLTQLETDLADYVSENEGKNSIPDKYKSGNKDDL
VNKA EVKLEAHEATKQAEKDPWLSPEQKKAQKEKAKARLDEGLKALKAADSLEILKVTEEFV DKEKNPDSIPNQHKAGTADQARK
QALDSLDEKQKELESIDNDNTLTTDEKAAAKKVNDA YDVAKQTAMEANSYEDLTIKDEF LSNLPHKQGTPLKDDQSDAIAELEKK
QQEIEKAI EGDKTLPRDEKEKQJADSKERLKS DTQKVKDAKNADA IKAFAEEGKVNIPQAHIPGDLNKDKEKLLAELKQKADDTEKAI DV
40 DKTLTEDEKKEQKVTKAELEKAKTDVKNTQ TREELDKKVP ELKKAIEDTHVKGNLEGVKNKAJEDL KKAHTETVAKINGDDTLDKATK
EAQVKEADKALAAGKDAITKADDADKVSTAVTEHTPKIAAHTGDLKKAQVDANTALDKAAEKERGEINKDATLT TEDKAKQLKEVE
TALTAKADNVKAAKTADAIN DARDKGVATIDAVHKAGQDLGARKSGQVAKLEEA AKATKDKISADPTLTSKEE EQSKAVDAELKKAIE
AVNAADTADKVD DALGEGVTDIKNQHKSGDSIDARREAHGKELDRVAQETKGAIEKDPTLTTEEKAKQVKD VDAAKERGM AKLNEAK
DADALDKAYGEGVTDIKNQHKSGDPVDARRGLHNKSID EVAQATKDAITADTTLTEAEKETQRGNVDKEATKAKEELAKAKDADALD
45 KAYGDGVTSIKNQHKS GKGLDVRKDEHKKALEAVAKRVTAEIEADPTLTPEVREQQKAEVQKELELATDKIAEAKDADEADKAYGDG
VTAIENAHVIGKIEARKDLAKDLAEAAAKTKALIIEDKTLTDDQRKEQLLGV DTEYAKGIENIDA AKDAAGVDKAYS DGVDRDILAQYKE
GQNLNDRRNAAKEFLLEADKVT KLINDPTLTHDQKVDQINKVEQAKLDAIKSVDDAQTADAIN DALGKGIENINNYQHGDGVDVR
KATAKGDLEKEAAKVKALIAKDPTLTQADKDKQTA AVDAAKNTAJAAVDKATTTGGINQELGKGITAINKAYRPGEGVKARKEAAKADL
EKEAAKVKALITNDPTLT KADKAKQTEAVAKALKAIAAVDKATTAEGINQELGKGITAINKAYRPGEGVKARKEAAKADL EREAAKVR
50 EAIANDPTLT KADKAKQTEAVAKALKAIAAVDKATTAEGINQELGKGITAINKAYRPGEGVEAHKEAAKANLEKVAKETKALISGD RYL
SETEKAVQKQAVEQALAKALGQVEAAKTVEAVKLAENLGTVAIRSAYVAGLAKD TDQATAALNEAKQAAIEALKQAAAE TLAKITTTDAK
LTEAQKAEQSENVSLAKTAJATVRS AQSIASVKEAKDKGITAIRAAYVPNKAVAKSSSANHLPKSGDANSIVLVGLGVMSLLGLMVLYS
KKKESKD

55

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy0747

Sec. ID 187

5 MINKKCIIPVSLTLAATLTSVEEVTSRQNLTYANEIVTQRPKRESVISDKSNFPVISPYLASVDFGERKTPLPDPKGVKVTTEQSIQVR
KGPEERPYPYVTGKITSVINGWGGYGFIYQDSEGIGLYVYPQKDLGYSKGDIVQLTGTLTRFKGDLQLQOQVTAHKKLELSFPTSVEKAVI
SELETTTPSTLWLSHVTGELSTDQYNNTSFLVRDDSGKSIVWHIDHRTGVKGADVVTKISQGDILNLTAILSIDVGGQLQLRPFSLQLE
10 VVKVTSNSNDASSRNIVKIGEIQGASHTSPLLKAVTVEQVVVYLLDDSTHFYVQDLNGDGLATS DGIRVFAKNAKVQVGDVLTISG
EVEEFFGRGYEERKQTDLTITQIVAKAVTKTGTAVQPSPLVLGKDRIAPANIIDNDGLRVFDPEEDAIDYWESMEGMLVAVDDAKILGP
MKNKEIYVLPGSSTRPLNNSGGVLLPANSYNTDVIPVLFKKGKQIKAGDSYKGRLAGPVSYSYGNVYKVFVDDSKNMPSLMDGHLKPE
15 KTNLQKDLKLSIASYNIEFNSANPSSTKDEKVKRIAESFIHDLNAPDIIIGLIEVQDNNGPTDDGTTDATQSAQRLLIDAIIKKGPTRYV
DIAPENNVDGGQPGNIRTGLFYQPERVLSLSDPKPKGGARDALTWVNGELNLSVGRIDPTNAAWKDVRSKLAAEFIFQGRKVVVAN
HLNSKRGDNALYGCVQPVTFKSEQRRHVLANMLAQFAKEGAKHQANVMLGDFNDFEFTKTIQLIEEGDMVNLVSRHDSIDRYSYFH
QGNQTLDNILVSRHLLDHYEFDMVHVNSPMEAHGRASDHDPDLLQLSFSKENDKAESSKQSVKAKKTSKGKLLPKTGDSL VYVITL
LGTASLLVPIILLTKGKES

SPy0777

Sec. ID 188

20 VISFAPFLSPEAIKHLQENERCRDQSQKRTAQIEAIYTSQGNILVSASAGSGKTFVMVERILDKILRGVSDIRLFISTFTVKAATELRERI
ENKLYSQIAQTDFQMKVYLTEQLQSLCQADIGTMDAFAQKVVSRYGYSIGISSQFRIMQDKAEQDVLKQEVFSKLFNEFMNQKEAPV
25 FRALVKNFSGNCKDTSAFRELYVYCYFSQSSTENPKIWLQENFLSAAKTYQRLEDIPDHDIELLAMQDTANQLRDVTDMEDYGLT
KAGRSRASYTKHLTIEKLSDWVRDFKCLYGKAGLDRLIRDVTVGLIPSGNDVTVSKVKYPVFKTLHQKLGFRHLETILMYQKDCFSLE
QLQDFVLAFASEAYLAVKIQESAFEFSDIAHFAIKILEENTDIRQSYQQHYHEVMVDEYQDNNHMQRERLLTLLSNGHNRFMVGDIKQSIY
RFRQADPQIFNQKFRDYQKKPEQGGKILLKENFRSQSEVLNVSNVAFVSHLMDSEVGDVLYDEQHQLIAGSHAQTVPYLDRRAQLLY
30 NSDKDDGNAPSDSEGISFSEVTIVAKEIHLHNDKGVPFEDITLLVSSRTRNDIISHTFNQYGIPIATDGGQQNYLKSVEVMVMDTLRTI
NNPRNDYALVALLRSPMFAFDEDDLARIALQKDNELDKDCLYDKIQRAVIGRGAHPELIHDTLLGKLNVLKTLKSWRRYAKLGSLYDL
IWKIFNDRFYDFVASQAKAEQAQANLYALALRANQFEKSGYKGLYRFIKMIDKVLETQNDLADVEVATPKQAVNLMTHHKSGLQFPY
VFILNCDKRFSMTDIHKSFILNRQHIGIGIKYLADIKGLLGETTLNSVKVSMETLPYQLNKQELRLATLSEEMRLLYVAMTRAEEKVYFIGK
ASKSKSQEITDPKLGKLLPLALREQLLTFQDWLLAIADIFSTEDLYDFVRFIEDSDLTQESVGRQLTPQLLNPPDDLKDNROSETIARAL
35 DMLEAVSQNLNANYEAAIHLPTVRTPSQLKATYEPLEPIGVDIIEKSSRSLSDFTLPHFSKKAKVEASHIGSALHQLMQVPLPSKPINQQ
TLLDALRGIDSNEEVKTDALDKKIESFFCDTSLGQFFQTYQKHLVREAPFAIKLDPISQEEYVLRGIIDAYFLFDDHIVLVDYKTDKYKQP
IELKKRYQQLELYAEALQTYKLPVTKRYLVLMGGGKPEIVEV

SPy0789

Sec. ID 189

40 MVKTFDFKLRYSQAIGYLWSILKPLMMFTIMYLVFIRFLRGGNVPHFPVALLLANVWISFFSEATSMGMVSIVSRGDLRLKLNFSKHII
VFSAVL GALINFLINLWVLFALINGVTISGYAYLSLFLFIELVLVLGIALLLSNVYVYRDLAQVWEVLLQAGMYATPIIYPIITVLDSHPL
45 AAKLLMLNPVAQMIQDFRYLLIDRANVTWQMSSTNWFYIVIPYLVFVLFIFIGFVFKKNADRFAEII

SPy0839

Sec. ID 190

50 MTFLSDLISLMTKIRLSWVIKAGIFQLLFTIANIVLSEFFYFILDVTGQYHLDKDNVVTFLKNPIALALLGAYLFLAAFIHLEFFALYRIIAD
QEISFYLFRKQFSYLLRGLWKTFSGYQLLLFLLYILLTIPVLHIGLSSVITQKLYLPEFVIGELSKITSTKYLLYGSLLVFLNLRVLYFLPI
55 AINHRTVAQAWRESWQKTKKKHVLWMLFAINGLTIIVLSLAJSMILFVDMFNPKGNIIIVQLGALTFTWELIFFTTIFFKLCSAMILKE
AIEPQKQYDEPRRSNKAYVIVVTVGFAYQSLERLTFFDTSKSTVIAHRGLVSAGVENSLEALEGAKKAGSDYVELDLILTCDNHFV
VSHDNRLKRLAGVNKTRNLTLKEVEHLTSHQGHFSGRFVSFDTFYQKAKKLNMPILLIELKPIGTEPGNYVDLFLEYHRLGISKDNKV
MSLDLEVIEAJKKKNPSITTYGIIPIQFGFFGDEFVDFYVIEDFSYRSYLSQAFWNNKEIYWTINDPKRIEHYLLKPIQGIITDQPALTNQ
60 LIKDLKQDNSYFSRLVRIISLY

65

ES 2 330 334 T3

SPy0843

Sec. ID 191

5 MKKHLKTVALTLLTTSVWVTHNQEVFSLVKEPILKQTQASSISGADYAESSGKSKLKINETS GPPVDDTVTDLFSDKRTPPEKIKDNLAKG
 PREQELKAVTENTESEKQITSGSQLEQSKESLSLNKTVPSTSNWEICDFITKGNTLVGLSKSGVEKLSQTDHLVLPDQAADGTQLIQVA
 SFAFTPDKKTAIAEYTSRAGENGEISQLDQVDGKEIINEGEVFNLYLLKVKTIPTGYKHIGQDAFVONKNIAEVLNLPESLETISDYAFAHLA
 LKQIDL PDNLKAIGELAFFDNQITGKLSLPRQLMRLAERAFKSNHIKTIEFRGNLSKVIGEASFQDNDLSQLMLPDGLEKIESEFTGNP
 10 GDDHYNRRVWLWTKSGKNPSGLATENTYVNPDKSLWQESPEIDYTKWLEEDFTYQKNSVTGFSNKGKLVKRNKNLEIPKQHNQV
 ITEIGDNAFRNVDFQNKTLRKYDLEEVKLPSTIRKIGAFQSNLKSFEASDDLEEIKEGAFMNNRIETLELKDCLVTIGDAAFHINHIYA
 IVPESVQEIGRSAFRQNGANNLIFMGSVKVTLGEMAFLSNRLEHLDLSEQKQLTEIPVQAFSDNALKEVLLPASLKTIREEAFKKNHLK
 QLEVASALSHIAFNALDDNDGDEQFDNKVVVKTHHNSYALADGEHFIVDPDKLSSSTIVDLEKILKLEGLDYSTRQTTQTQFRDMTTA
 GKALLSKSNLRQGEKQKFLQEAQFFLGRVDLKAJAKAEKALVTKKATKNGQLLERSINKAVLAYNNSAIKKANVKRLEKELDLLTGLV
 15 EGKGPLAQATMVQGVYLLKTPPLPEYYIGLVVYFDKSGKLIYALDMSDTIGEGQKDAYGNPILNVDEDNEGYHALAVATLADYEGLDI
 KTILNSKLSQLTSIRQVPTAAYHRAGIFQAIQNAAAEAEQLLPKPGTHSEKSSSESANSKDRGLQSNPKTNRGRHSAILPRTGSKGSF
 VYGILGYTSVALLSLITAIKKKKY

20 SPy0872

Sec. ID 192

25 MKKYFILKSSVLSILTSFTLLVTDVQADQVDVQFLGVNDFHGALDNTGTAYTPSGKIPNAGTAAQLGAYMDDAEIDFKQANQDGT SIRV
 QAGDMVGASPANSALLQDEPTVKVFNKMKFEYGLTGNHEFDEGLDEFNRIMTQQAPDPESTINDITKQYEHEASHQTIANVIDKKT
 KDIPYGWKPYAIKDIANDKIVKIGFIGVVTTEIPNLVLKQNYEHYQFLDVAETIAKYAKELQEQHVHAIWLAHVPAATSKDGVVDHEMAT
 VMEKVNQIYPEHSIDIIIFAGHNHQYNTGTICKTRIVQALSQGKAYADVRGTLDTDNDFIKTPSANVAVAPGIKTENSIDIKAIINHANDIV
 KTVTERKIGTATNSSTISKTENIDKESPVGNLATTAAQLTIAKTFPTVDFAMTNNGGIRSDLVVKNDRTITWGAAQAVQPFGNILQVIQM
 30 TGQHIYDVLNQYDENQTYFLQMSGLTYTYTDNDPKNSDTPFKIVKVVYKDNNGEINLTTTYTVVNDFLYGGDGFSAFKKAKLIGAIN
 TDTEAFITYITNLEASGKTVNATIKGVKNYVTSNLESSTKVN SAGKHSIISKVFRNRDGNVTSSEVISDLLTSTENTNNSLGKKEETTNNK
 TISSSTLPITGDNYKMSPIMLALISLGGNLAFAIKKRKS

35 SPy0895

Sec. ID 193

40 MTNNQTL DILLDYYAYNHAFRIKALPNIPKTALYLLEMLKERRELNLAF LAEHAENRTIEDQYHCSSLWLNQSL EDEQIANYILDLEVKV
 KNGAIIIDFVRSVSPILYRFLRLITSEIPNFKAYIFDTKNDQYDTWHFQAMLES DHEVFKA YLSQKQSRNVTTKSLADMLT L TSLPQEIKD
 LVFLLRHF EKAVRNPLAHLIKPFDEEELHRTTHFSSQAFLENIITLATFSGVYRREPFYFDDMNAI I K K E L S L W R Q S I V

45 SPy0972

Sec. ID 194

50 MKTTSLIKVDLPSTIGIGYGAFWRSRNFYRVVKGSRGSKSKTTALNFIVRLLKYPWANLLVIRRYSENTNKQSTYTD FKWACNQLKVT
 HLFKFNESLPEITVKATGQKILFRGLDDELKITSITVDVGALCWAWFEEAYQIETEDKFSTVVESIRGSLDAPDFFKQITVTFNPWSERH
 WLKR VFFDEETKRADTFSGTTTTFRVNEWLDDVDKRRYEDLYKTPRRARIVCDGEWGVAEGLVFDNFEVDFDVEKTIQRVKETSA
 GMDFGFTQDPTTLICVAVDLANKELWLYNEHYQKAMLTDHIVKMIRDKNLHRSYIAGDSAEKRLIAEIKSGVSGIVPSIKGKGSIMQGI
 QFMQGFKIYIHPSCHEHTIEEFNTYTFKQDKEGNWLNPEIDKNNHVIDAIRYALEKYHIRSNESNQFEVLRAGFGY

55 SPy0981

Sec. ID 195

60 MAEETQTVETVEEQVPEAKQPQDEKKYTDADVD AIDDKFAKWKSEQEA EKSEAKMAKMN EKEKADYEQKLLDELQELKNDKT
 RNELTAVARQMFAESEINVNDVGLVWTLDAEQTKANVTLANAFKVIADDRKALVRQTPSTGGGLSKQTNYGANLASKAAQQS
 TKLF

65

ES 2 330 334 T3

SPy1008

Sec. ID 196

5 MRYNCRYSHIDKKIYSMIICLSFLLYSNVQANSYNTTNRHNLSELYKHDSNLEADSIKNSPDIVTSHMLKYSVKDKNLSVFFEKDWIS
QEFKDKVEDIYALSAQEVCECPGKRYEAFGGITLTNSEKKEIKVPVNVWDKSKQQPPMFITVKNPKVTAQEVDIKVRKLLIKKYDIYNN
REQKYSKGTVTLDLNSGKDIVFDLYYFGNGDFNSMLKIYSNNERIDSTQFHVDVVIS

10 SPy1032

Sec. ID 197

15 VNTYFCTHHKQLLLYSNLFSLFAMMGQGTAIYADTLTNSNPNNTYFQTQTLTTTDESEKKVVQPQQKDYYTELLDQWNSIIAGNDAYD
KTNPDMVTFHNKAEKDAQNIKSYQGPDPHENRXYLWEHAKDYSASANITKYRNIKIAKQITNPESCYYQDSKAIAVKDGMAMFMYEH
AYNLDRENHQTGKENKENWWWYEIGTPRAINNTLSLMPYFTQEEILKYTAPIEKFVDPTRFRVRAANFSPFEANSGLIDMGRVK
LISGILRKDDLEISDTIKAJEKVFTLVDEGNQFYQDGLSDHVVNTAQSPLYKKGIAYTGAYGNVLIDGLSQLPIIHKTKSPIKADKMATIYH
WINHSFFPIIVRGEMMDMTRGRSISRFAQSHVAGIEALRAILRIADMSEEPHRLALKTRIKTLVTQGNAFYNVYDNLKTYHDIKLMKEL
20 LSDTSVPVQKLDYSYVAFNSMDKLALYNNKHDFAFGLSMFSNRTQNYEAMNNENLHGWFSDGMFYLNNDLGHYSENYWATVNP
YRLPGTTETEOKPLEGTPENIKTNYQQVGMTGLSDDAFVASKKLNNTSALAAMFTNWNKSLTLNKGWFFILGNKIIIVGSGNIKNQSSH
KAYTTIEQRKENQKYPYCSYVNNQPVLDLNNQLVDFNTKISIFLESDDPAQNIQYFFKPTLSISKALQTGKWQNIKADDKSPEAIKEV
SNTFITIMQNHTQDGRYAYMMLPNMTRQEFETYISKLDIDLLENNDKLAAYVDHDSQQMHVIHYGKKATMFSNHNLSHQGFYSFPH
PVRQNNQQ

25 SPy1054

Sec. ID 198

30 LLTFGGASAVKAEENEKVRQEQKLIQQLSEKLVINDLQTLNGDKESIQLVDYLTRRGKLEEEWMEYLNLSGIQRKLFVGPKGPAGEK
GEQGP TGKQGERGETGPAGPRGDKGETGDKGAQGPVGPAGKDGQNGKDGKGLPGKDGKDGQNGKDGKGLPGKDGKDGQDGDGKGLP
GKDGKDGQNGKDGKGLPGKDGQGPAPKTPEVPQNPDPAPHTPKTPRIPGQSKDVTPAPQNPNSRGLNKPQTQGGNQLAKTPAAH
DTHRQLPATGETTNPFFTA AVAIMTTAGVVAVAKRQENN

40 SPy1063

Sec. ID 199

45 MYIFSSSKKDSAKELVILTPNSQTLTGTPAFEEKYGVKVRLIQGGTGQLIDQLGRKDKPLNADIFFGGNYTQFESHKDLFESYVSPQV
STVISDYQLPSHRATPYTINGSVLIVNNELARGLHITSYEDLLQPALKGKIAFADPNSSSSAFSQLTNILLAKGGYTNADAWAYMKRLLV
NMNSIRATSSSEVYQVAEGKMIVGLTYEDPCINLQKSGANVSIYVPKEGTVFVPSVAIIKHAPNMTEAKLFINFMLS RDVQNAFGQS

TSNRPIRQDAQTSHDMKALETIATLKEDYAYVTKHKKKIVATYNQLRQRLEKAK

50 SPy1162

Sec. ID 200

55 MPTSIKAIKESLEAVTSLLDPLFQELATDTRSGVQKALKSRQKVIQAEAEERLEAMLSYEKALYKKGKAIAGIDEVGRGPLAGPVVA
ACVILPKYCKIKGLNDSKIPKAKHETIYQAVKEKALAIIGIINDQLIDEVNIYEATKLAMLEAIKQLEGQLTQPDYLLIDAMTLDAISQQSI
LKG DANSLSIAAASIVAKVTRDQMMANYDRIFPGYDFAKNAGYGTKEHLQGLKAYGITPIHRKSFEVVKSMCCDSTNP

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy1206

Sec. ID 201

5 MTVKEETMSILEVKQLSHGFGDRAIFENVSFRLLKGEHIGLVGANGEGKSTFMSIVTGHLPQDEGKVEWSKYVTAGYLDQHTVLESG
 QTVRDLVLTAFDELFKTENRINEIYASMAADDKADIAVLMEEVGELQDRLESRDFYTLDAKIDEVARALGVMDFGMESDVTSLSGGQRT
 KVLAKLLEKPDILLDEPTNHLDAEHIEWLKRYLQHYENAFVLISHDISFLNDVINIYHVENQSLVRYTGDYYQFQAVYEMKQSQLE
 10 AAYERQOKEIANLQDFVNRNKARVATRNMAAMSRQKKLDKMDIIELOAEKPKPNFEFKQARTPSRFIFQTKNLVIGYDYPLTKEPLNITF
 ERNQKIAIVGANGIGKSTLLKSLLVIEPLEGHIVTGFLEVGYYFEQEVTVGNRQTPLEVWDAFPALNQAQAEVRAALARGGLTSKHIES
 QIQVLSGGGEQAKVRFCLLMNRENNVLLDEPTNHLDDAKNELKRALKAYKGSILMVCHEPDFYNGWVTDTWDFSKLT

SPy1228

15 Sec. ID 202

MNKKFIGLGLASVAVLSAACGNRGASKGGASGKTDLVAMVTDGTVDDKSFNQSAWEGQSWGKEMGLQKGTGFDYFQSTSE
 SEYATNLDTAVSGGYQLIYGIGFALKDAIAKAAGDNEGKVFVIDDIEGKDNVAVSVTFADHEAAYLAGIAAAKTTKTKTVGFVGGMEGT
 20 VITRFEKGFQAGVKSVDVTIQVKVDYAGSFGDAAKGKTAIAAQYAAGADVYQAAGGTGAGVFNEAKAINEKRSEADKVVVIGVDRD
 QKDEGKYTSKDGKEANFVLAASSIKEVGVAVQLINKQVADKKFPGGKTTVYGLKDDGGVEIATTVNSKEAVKAIKEAKAKIKSGDIKVPK

SPy1245

25 Sec. ID 203

MKMKKKFFLLSLLALSTFFLSACSSWIDKGESITAVGSTALQPLVEVADEFSSNLGKTVNVQGGSGTGLSQVQSGAVQIGNSDV
 FAEEKDGIDASKLVDHQVAVAGLAVIANPKVKVSNLSSQQLKIFSGEYTNWKQVGGEDLAISVINRAASSGSRATFDSVIMKGVNAK
 30 QSQEQDSNGMVKSIVSQTPGAI SYLSFAYVDSVSKSLQLNGFKANAKNVATNDWPIWSYEHMYTKDKPTGLTKEFLDYMFSDDEVQQ
 NIVTHMGIYISINDMEVVKSHDGKVTKR

SPy1315

35 Sec. ID 204

MTHKIKVLLLAIMSIFLTCNIAAETIAIVSDTAYAPFEFKDSDQIYKIDVDIINEVAKRQSWDFSMSFPGFDAAVNAVQSQASALMAG
 40 TTITNARKKVFHFSEPYDTKVIATRKANAIKKYSDLGKTVGVKNGTAAQAFNNYKKKYDYTVKTFDTGDLMYNSLSAGSIAAVMD
 DEAVIQYAIQSQNDIAINMKGEPIGSFGFAVKKGSGYDYLVDNFNTALKAMKADGTYQAIMTKWLGTDKATTSQATGNPSAKATPTK
 DSYKIVSDSSFPFQNGKGYVGDIEIJKAJAKQQGFKIEIANPFGDAALNAVQSSQADGVIAGATTIDARKAIFDFSDPYYSNIIILA
 VKAGKNIKNYEDLDRKTVGAKNGTSSYVWLNENAPKYGYNVKAFDDGSSMYDSLNSGSDAIMDDEAVLKYAISQGRRFETPLEGIS
 TGEVGFVKKGTNPELIEMFNGLAALKKSGQYDDIIDKYLDKKAATPSEKGADESTISGLLSNNYKQLLAGLGTTLISLISFAIAIIIGI
 45 IFGMMAVSPTKSLRLISTVFVDVVRGIPLMIVAFAFVWVGNLIESMTGHQSPINDFLAATIALSLNNGGAYIAEIVRGGIEAVPAGQMEAS
 RSLGLSYGTTMRKVLPQAVKMLPNFINQFVLSKDTTIVSAIGLVELFQTGKIIARNYQSFMYAILAIYLIIMILLTRAKRLEKRLN

SPy1357

50 Sec. ID 205

MGKEIKVKCFLRRSAFGLVAVSASVLVGSTVSAVDSPIEQPRIIPNGGTLTNLLGNAPEKLALRNEERAJDELKQAIEDKEATTAIEAAS
 55 SDALEALADQTDALQSEEAUVKADNAASDALEALADQTDALQSEEAUVQSDNAASDAWEKAATPIALDVKKTKDTPVVKKEERQ
 NVNTLPTTGEEENPFFTAALAIMVSTGVLVSSKCKEN

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy1361

Sec. ID 206

5 MKTKKVILVGLLLSSQLTIACQSRNGTYPIKTKQSRKGMTSNKIKPIKSKKTNKTHKGVAGVDFPTDDGFILTKDSKILSKTDQGIV
 VDHDGHSHFIFYADLKGSPFEYLIPKASLAKPAVAQRAASQGTQSKVADPHHHYEFNPADIVAEDALGYTVRHHDFHYILKSSLSGQ
 TQAQAKQVATRLPQTSSLVSTATANGIPGLHFPTSDGFQFNGQGVVTKDSILVDHDGHLHPISFADLRQGGWAHVADQYDPAKKA
 EKPAETHQTPELSEKEYQEKLAYLAEKLGIDPSTIKRVETQDQKLGLEYPHHDAHVLMLSDIEIGKDIPDPHAJEHARELEKHKVG
 10 MDTLRALGFDEEVILDIRTHDAPTPFPSNEKDPNMMKEWLATVIKLDLGSRKDPLQRKGLSLLPNLETLGIGFTPIKDISPVLQFKKLK
 QLLMKTGTVDYRFLDNMPQLEGIDISQNNLKDISFLSKYKNTLVAAADNGIEDIRPLGQLPNLKFLVLSNNKISDLSPLASLHQLQELH
 IDNNQITDLSPVSHKESLTVVDLNRNADVDLATLQAPKLETLMVNDTKVSHLDFLKNNPNLSSLINRAQLQSLEGIEASSVIVRVEAEG
 NQIKSLVLKDKQGSFLTFLDVTGNQLTSLEGVNNTALDILSVSKNQLTNVNLSPKPKVTNIDISHNNISLADLKLNEQHIEPAIAKNFPA
 VYEGSMVGNGTAEKAAMATKAKESAQEASESHDYNHNHTYEDEEGHAHEHRDKDDHDHEHEDENEAKDEQNHAD

15

SPy1371

Sec. ID 207

20 LAKQYKNLVNGEWKLSENETIYAPATGEELGSPVAMTQAEVDAVYASAKKALSDWRALSYVERAAYLHKAADILVRDAEKIGAILSKE
 VAKGHKAAVSEVIRTAEIINYAAEEGLRMEGEVLEGGSEFAASKKIAVRRREPVLVAISPFNYPVNLGSKIAPALIAGNVVALKPPPT
 QGSISGLLLAEAFEAAGIPAGVFNITGRGSGVIGDYVEHEAVSFNFTGSTPIGEGIGKLAGMRPIMLELGKDSAVLEADALAAKNI
 VAGAFGYSGQRCTAVKRVLVMDKVADQLAAEIKTLVEKLSVGMPEDDADITPLIDTSAADFVEGLIKDATDKGATALTAFNREGNLISSP
 25 VLFDHVTTDMRLAWEEPFGPVLPIRVTTVEEAIKISNESEYGLQASIFTTNFPKAFGIAEQLEVGTVHLNNTQRGTDNFFLGAKKSG
 AGVQGVKYSIEAMTTVKSVVFDIQ

30

SPy1375

Sec. ID 208

35 MSLKDLGDISYFRLNNEINRPVNGKIPLHKDKALKAFSAENVLPNTMSFTSITEKIEYLISNDYIESAFIQKYRPEFITELDSSIENSEFRF
 KSFMAAYKFYQQYALKTNDGEHYLENLEDRVLFNALYFADGQEDLAKDLAVEMINQRYQPATPSFLNAGRSRRGELVSCFLIQVTDD
 MNSIGRSINSALQLSRIGGGVGITLSNLREAGAPIKGYAGAASGVVPMKLFEDSFSYSNQLGQRQAGVWYLVNVPDIIAFLSTKKE
 NADEKVRVKTLSLGITVPDKFYELARKNEDMYLFSYVVEKEYGIPFNLDITNMYDELVANPKITKTIKARDLETEISKLQQESGYPYI
 INIDTANKANPIDGKIIMSNLCEILQVQTPSLINDAQEFVEMGTDISCNLGSTNILNMMTSPDFGRSIKTMTRALTFVTDSSSIEAVPTIK

40 HGNSQAHTFGLGAMGLHSYLAQHHEIYGSPESEFTDIYFMLLNWYVTLVESNNIARERQTTFFVGFENSKYANGSYFDKYVTGHFVPKS
 DLVKDLFKDHFIPQASDWEALRDAVQKDGLYHQNR LAVAPNGSISYINDCSASIHPIQRIEERQEKKIGKIYYPANGLSTDTIPYYTSA
 YDMDMRKVIDVYAAATEHVDQGLSLTLFLRSELMELYEWKTKQSKQTRDLSILRNYAFNKIGKISYIYRTFTDDGEEVGANQCESCVI

45

SPy1389

Sec. ID 209

50 MKELSSAQIRQMWLDFWKSKGHCVEPSANLVPVNDPTLLWINSQVATLKKYFDGSPVIPENPRITNAQKSIRTNDIENVGKTRHHTMF
 EMLGNFSIGDYFRDEAIEWGFELTSPDWDFPKDKLYMTYYPDDKDSYNRWIACGVEPSHLVPIEDNFWIEGAGPSGPDTEIFFDR
 GEDFDPENIGLRLLAEDIENDRYIEIWNIVLSQFNADPAVPRSEYKELPNKNIDTGAFLERLAAVMQGAKTNFETDLFMPPIREVEKLSG
 KTYDPDGDNMSFKVIADHIRALSFAIGDQALPGNEGRGYVLRRLRRAVMHGRRLGINETFLYKLVPTVGGQIMESYYPEVLEKRFDFIEK
 IVKREETFARTIDAGSGHLSLLAQLKAEKDTLEKGDIFLYDYTGFPVELTEELAEDAGYKIDHEGFKSAMKEQDDRARAIVVKG
 55 GSMGMQNETLAGIVEESRFEYDYSLESSLVIADNERTEAVSEGOALLVFAQTFFYAEMGGQVADTGRIKNDKGDVVAEVDVQK
 APNGOPLHTVNLASLSVGTNYTLEINKERRLAVEKNHTATHLLHAALHNVIAGEHATQAGSLNEEEFLRFDFTHFEAVSNEELRHIEQE
 VNEQIWNALTITTTETDVTAKEMGAMALFGEKYGKVVVVQIGNYSVELCGGTHLNNSEIGLFKIVKEEGIGSGTRRIIAVTRQAF
 EAYRNQEDALKEIAATVKAPQLKDAAAKVAQALSRLDLQKENAELKEAAAAAGDVFKDVQEAQGVRFIASQVQVADAGALRTFA
 DNWKQKDYSDVLLVVAAGEKVVNLVASKTKDVHAGNMIKELAPIVAGRGGGKPDMMAMAGGSDASKIAELLAVAEIV

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy1390

Sec. ID 210

5 MKNSNKLASVVTLASVMALAAQSTNDNTKVISMKGDTISVSDFYNETKNTEVSQKAMLNLVSRVFEAQYGDVSKKEVEKAYHKT
AEQYGASFSAALAQSSLTPETFKRQIRSSKLVYAVKEAAKELTTOEYKAYESYPTMAVEMITLDNEETAQSVLEELKAEADFTA
IAKEKTTTPEKKVTKYKFDGATNVPTDVKAASSLNEGGISDVISVLDPTSYQKKFYIVKVTKKAEEKSDWQEYKRLKAHIAEKSKDM
NFQNKVIANALDKANVKIKDKAFANILAQYANLQKTKAASESSTSESSKAAEENPSESEQTQTSSAEETETEAEQTQEPAAQ

10

SPy1422

Sec. ID 211

15 VLYPTPIAKLIDSYSKLPGIGIKATRLAFYTIIGMSNEDVNDFAKNLLAAKRELYCSICGNLTDDDPCHICTDTSRDQTTILVVEDAKDV
SAMEKIQEYHGYHVLHGLISPMNGVGPDDINLKSITRLMDGKVVSEVIVATNATADGEATSMYISRVLKPAGIKVTRLARGLAVGSDIE
YADEVTLRAIENRTEL

20

SPy1436

Sec. ID 212

25 MDMSKSNRRTWQGLWILAILTTFTTSTVTAARKIRNFPDTEILLGKATETPGILPFTGSYQLVLGDLNLRPTFAHIQLKQDDEPN
IKRKGLKFNPPGWHNYKLDANGKTTWLMDRGHLVGYQFSGLNDEPKNLVTMTKYLNTGFSDKNPLGMLYYENRLDSWLALHPNF
WLDYKVTVPVYHKNELVPRQVVLQYVVIDENGDLQIKLGSEKESVDNFGVTSVTLDNVSPLAELDYQTGMMLDSTQNEEDSNLETEE
FEEAA

30

SPy1494

Sec. ID 213

35 MTSKKACLSIIVLASLTCGNDTVSANHLSATGDKFDDCSTLVEKDVAPKDELEMLAWSSSQTTDDADRDYEDFLDDDSFISQNETDK
MFENLTDRLNDELDEENEDEEDTIEPEQNVIMPSDDELFDLDAVETRLTVSSAPHLEAELPKPHLRSLSDTALRSGEIRGHLD
NKLDALSVTATKLALMAQKFDLTHVYSIGESFSEVLAHYEDRKAESAFSCKKRFHLPIATPDWIEELRRLVSSIGSSKEDVSPYS
RKLGMVAVAKRKIALPQTGERFSYYPVLLGLMILGLTPIMIPKINN

40

SPy1523

Sec. ID 214

45 MAKDKKQSDDKLVLEWQKRNIEFLKQKQAEKKEKLLSDKKAQQQAQNAASEAVELKTEKTDSEIESETTSKPKKTKKV
RQPKESATQIAFQKSLPVLGALLMAVSIFMITPYSKKEFSVRGNHQTNLDELKASKVKASDYWLTLTSPGQYERPIRLTIPWVK
SVHLSYQFPNHFLFNVEFIEIAYAQVENGFQPILENGKRVKVRASELPKSFILNLKDEKAIQQLVKQLTTLPKKLVKNIKSVSLANSKT
50 TADLLIEMHDGNVVRVPSQLTLKLPYQKLNLENDISVDMEVGIYTTTQEIENQPEVPLTPEQNAADKEGDKPGEHQEQTDNDS
ETPANQSSPQQTTPPETVLEQAHG

55

SPy1536

Sec. ID 215

60 MKRLLKIKVWLVLGALLISLALLFFPLPYIEMPGGAYDIRTVLQVNGKEDKRKGAYQFVAVGISRASLAQLLYAWLTPFTEISTAEDT
TGGYSADFLRINQFYMETSQNAAIYQALSLAGKPVTLDYKGVVLDVNNESTFKGTLHLADTVTVGNGKQFTSSAELIDYVSHLKL
GEVVDIGGAGLKVAAAEAGADIFFVNPVVDKEIKKVNPAISNYEEAKRAAKRLKTKMKIVPVTTVQEAALVYLRK

65

ES 2 330 334 T3

SPy1564

Sec. ID 216

5 MLEHKIDFMVTLLEVKEANANGDPLNGNMPRTDAKGYGVMSDVSIKRKIRNRLQDMGKSIFVQANERIEDDFRSLEKRFSQHFTA
DKEIEEKANALWFDVRAFQGVFTYLLKKSIGVVRGPVSISMAKSLEPIVISSLQITRSTNGMEAKNNSGRSSDTMGTKHFDYGVVYLLKG
SINAYFAEKTGFSQEDAEAIKEVLVSLFENDASSARPEGSMRVCEVFWFTHSSKLGNVSSARVFDLLEYHQSIIEEKSTYDAYQIHLNQ
EKLAKYEAKGLTLEILEGL

10

SPy1604

Sec. ID 217

15 MATKKVHIISHSHWDREWYMAYEQHHMRLINLIDDLEVFQTDPDFHSHFDGQTIILDDYLKVRPEREPEIRQAIASGKLRIGPFYILQ
DDFLTSSSESNVRNMLIGKEDCCDRWGASVPLGYFPDFTGNMGQTPQLMLKAGLQAAAFGRGIRPTGFNNQVDTSEKYSSQFSEISW
QGPDNSRILGLLFANWYSNGNEIPTTEAEARLFWDKKLADAERFASTKHLMMNGCDHQPVDVTKAJALANQLYPDYEFVHSCFE
DYLADLADDLPENLSTVQGEITSQETDGWYTLANTASARIYLKQANTRVSRQLENITEPLAAMAYEVTSTYPHDQLRYAWKTLMQNH
PHDSICGCSVDSVHREMMTRFEKAYEVGHYLAKEAAKQIADAIDTRDFPMDSQPFVLFNTSGHSTKTSVAELSLTWKKYHFGQRFPE
20 VYQEAQEYLARLSQSFIIDTSGQVRPEAEILGTSIAFDYDLPKRFSREPYFAIKVRLRLPITLPAMSWKTLALKLGNETTPSETVSLYD
DSNQCLENGFLKVMIQTDGRLTITDKQSGLIYQDLLRFEDCGDIGNEYISRQPNHDQPFYADQGTIKLNIISNTAQVAELEIQQTFAIPIS
ADKLLQAEMEAVIDITERQARRSQEKAELTLTTLIRMEKNNPRLQFTTRFDNQMTNHRLRVLFPTHKTDHHLADSIFETVKRPNHPDA

25 TFWKNPSNPQHQCFCVSLFDGENGVTIGNYGLNEYEILPDTNTIAITLLRSVGENMGDWGYFPTPEAQCLGKHSLSYSFESITKQTQFA
SYWRAQEGQVPVITQTQNHQEGTLAAEYSYLTGTNDQVALTAFKRRADNALITRSYNLSNDKTCDFSLSLPNYNAKVNTLLEKDSKQ
STPSQLGKAEILTAWKKQ

30

SPy1607

Sec. ID 218

35 MKITKIEKKRRLYLIELDNDESLYVTEDTIVRFMLSKDKVLDNDQLEDMKHFAQLSYGKNLALYFLSFQQRSNKQVADYLRKHIEIEHIIA
DIITQLQEEQWIDDTKLADTYIRQNQLNGDKGPQVLKQKLLQKGIASHDIDPILSQTDQFSQLAQKVSQKLFQDKYQEKLPKALKDKITQA
LLTKGFSYDLAKHSLNHLNFDQDNQEIEDLLDKELDKQYRKLRSRYDGYTLKQKLYQALYRKGYNSSDDINCKLRNYL

40

SPy1615

Sec. ID 219

45 MICLLCQQISQTPISITEIIFLRRISSPICQQCQKSFQKIGKSVCCATCCANSIIACRDCLKWENKGYNVNHRSLYCYNAAMKAYFSQYKF
QG DYLLRKVFAVELADVTKYKGYIPVVPVSPGCFRERQFNQVSAILEAANVSYSLSFEKLDNTHQSSRTKKERLLVEKSYRLLKVS
NIPDKILVDDIYTTGSTIIALRKQLAKVANSDIKSLSIAR

50

SPy1666

Sec. ID 220

55 MKSFSLTFSLNLLKYGTIKVMTKEFHHTVLLHETVDMLDIKPDGIYVDATLGGSGHSAYLLSKLGEEGHLYCFDQDQKIDNAQVTL
KSYIDKQVTFIKDNFRHLKARLTALGVDEIDGILYDLGVSSPQLDERERGFYSYKQDAPLDMRMDRQSLLTAYEVWNTYFPNDLVKIFF
KYGEDKFSKQIARKIEQARAIPITTTTELAELIKAAPPAKELKKKGHPAKQIFQAIRIEVNDELGAADESIQDAMELLALDGRISVITFHSL
EDRLTKQLFKEASTVDVPKGLPLIPEDMKPKFELVSRKIPILPSHSELTANKRAHSAKLRVAKKIRK

60

65

ES 2 330 334 T3

SPy1727

Sec. ID 221

5 VTTTEQELTLPLRGKSGKAYKGTYPNGECVFIKLNTPPALAKEQIAPQLLWAKRMGNGDMMSAQEWLNGRRTLTKEDMNSKQIIH
ILLRLHKSCKLVNQLLQNLNYKIENPYDLLVDFEQNAPLQIQNSYLAQIVKELKRSLPEFKSEVATIVHGDIKHSNWWITSSGMIFLVDWD
SVRLTDRMYDVAYLLSHYIPRSRWSEWLSYGYKNNDKVMQKIWIYGQFSLTLQILKCFDKRDMHVNQEIYALRKFREIFRKK

10 SPy1785

Sec. ID 222

15 MILTAPMSNLKGFPGKSAEKFOKLDIYTVEDLLYYPFYEDFKSKSVFDLVDGEKAVITGLVWTPANVQYYGFKRNRLSFKLRQGEAV
LNVSFFNQPYLADKIELGQEVAVFGKWDATKSAITGMKVLQAVEDDMQPVYRVAQGISQSTLIKAIKSAFEIDAHLELKENLPATLLEKY
RLMGRSQACLAMHFPKDITEYKQALRRIKFEELFYQMNQLQVLAENKSETNGLPILYSKRAMETKISSLPFILTNAQKRSLLDILSDMS
20 SGAHMNRLLQGDVSGSGKTVIAGLSMYAAYTAGFQSALMVPTEILAEQHYISLQELFPDLSIALTSGMKAAYKRTVLAANGSVDMIV
GTHALIQDSVQYHKLGLVITDEQHRFGVKQRRIFREKGENPDVLMMTATPIPRTLAIFGEMDVSIIDELPAGRKPIMTRWVKHEQLG
TVLEWVKGELQKDAQVYVISPJIEESEALDLKNAVALHAELSTYFEGIAKVALVHGRMKNDKDAJMQDFKDKKSHILVSTTVIEVGVNV
PNATIMIIMDADRFGLSQLHQLRGRVGRGYKQSYAVLVANPKTDSGKCRMTIMTETDGFVLAESDLKMRGSGEIFGTRQSGIPEFQV
ADIVEDYPILIEARKVSAIVSDPNWIYEKQWQLVAQNIRKKEVYD

25 SPy1798

Sec. ID 223

30 MKKISKCAFVAISALVLIQATQTVKSQEPLVQSQVLVTTVALTQDNRLLEEIGPYASQSAGKEYYKHIEKIIVDNDVYEKSLEGERTFDIN
YQGKINADLIKDGKHELTIVNKKDGDILITFIKKGDVTFISAQKLGTTDHDQDSLKDDVLSDKTVPQNGGTQKVVKSGKNTANLSLITKL
SQEDGAILFPEIDRYSDNKQIKALTQQITKVTVNGTVYKDLISDSVKDTNGWVSNMTGLHLGTAKFKDAGENTIVISSKGFEDVTITVTKK
DGQIHVFSAKQKHVTAEDRQSTKLDVTTLEKAIKEADAIJAKESNKDAVKDLAEKLVIKDSYKEIKDSKLLADTHRLKDTIESYQAGE
VSINNLTEGTYTLNFKANKENSEESSMLQGAFDKRAKLVKADGTMEISMLNTALGQFLIDFSIESKGTYPAAVRKQVQKQDINGSYIR
35 SEFTMPIDDLDKLHKGAVLVSAMGGQESDLNHYDKYTKLDMTFSKTVTKGWSGYQVETDDKEKGVGTERLEKVLVKGKDLGDGK
LSKTELEQIRGELRLDHYELTDISLLKHAKNITELHLDGNQITEIPKELFSQMKQLRFLNLRSNHLYLTKDFTKSNAQRELYLSSNFH
SLEGGFLQSLHHLQLDLSKNRIGRLCDNPFEGLSRLTSLGFAENSLEEIPEKALEPLTSLNFIDLSQNNLALLPKTIKLRALSIVASR
NHITRIDNISFKNLPKLSVLDLSTNEISNLPNGIFQNNQLTKLDFFNLLTQVEESVFPDVETLNLVDKFNQIKSVSPKVRALIGQHKLTP
40 QKHIAKLEASLDGEKIKYHQAFSLDLYYWEQKTNASJDKELVSVEEYQQLLQEKGSQDVSLLNDMQVDWSIVQLQKKASNGQYVTV
DEKLLSNDPKDDLTFEFLKDPGTYRIRKALITKFFATQKEHIYLTNSDILVAKGPHSHQKDLVGNLRLALNQQQLRQDGIYYLNASMLKT
DLASESMSNKAINHRVTLVKKGVSYLEVEFRGIKVGKMLGYLGELSYFVDGYQRDLGKPVGRTKKAEVVSIFYFTDVTGLPLADRYG
KNYPKVLRMKLIQAKKDGLVPLQVFPIMDAISKGSLQTVFMRLDWASLTTEKAKVKETNPNQENSHLTSTDQLKGPQNRQEK
TPTSPPSAATGIANLTDLLAKKATGQSTQETSKTDDTDKAEKLLQVLDHQTSTIEGKTAKDKTKKSDKKHRSNQSSNGEESSRYH
LIAGLSSFMIVALGFIIGRKTFLK

45 SPy1801

Sec. ID 224

50 MNKNKLLRVAMLLSLLAPTAESMTVLAQDVMLETHKATTNETSDSSSKEENKNAAPTTSKDKTDQGPLDASAETNSNSLVNADDKKR
SDSSQSAIGSSDNKAEAEENQVDDKSTDHKSSTDHSPKPTDQPKPSPSKVDTPAPASSLSKQLPEARTEPIQSLSPYVSDLDLSEIDIPSVN
TYAAYVEHWSGKNAYTHHLLSRRYGKADQIDSYLKSTGIAYDSTRINGEKLLQWEKKSGLDVRAIVAIAMSESSLGTQGIATLLGANM
55 FGAAFDLPTQASKFNDDSAIVKMTQDTIINKNSNFALQDLKAAKFSRQGLNFASDGGVYFTDTTGSGKRRQAQIMEDLDKWIDDH
GGTPAIPAELKVQSSASFASVPAGYKLSKSYDVLGYQASSYAWGQCTWYVYNRAKELGYQFDPFMGNGGDWKYKVGYALSKTPKV
GYAISFAPGQAGADGTYGHVSIVEDVRKDGSSILISESNICLGIKISYRFTTAQQAEQLTYVIGKSKN

ES 2 330 334 T3

SPy1813

Sec. ID 225

5 MDKHLVLRKTLGCVCAATLMGAALATHHDSLNTVKAEEKTVQVQKGLPSIDSLHYLSENSKKEFKEELSKAGQESQKVKEILAKAQQQA
 DKQAQELAKMKIPEKIPMKPLHGSLYGGYFRTWHDKTSOPEKDKVNSMGELPKEVDLAFIFHDWTKDYSLFWKELATKHVPKLNKQ
 GTRVIRTIPWRFLAGGDNNGIAEDTSKYPNTPENKALAKAIVDEYVYKYNLDGLDVEDVEHDSIPKVDKEDTAGVERSIQVFEEIGKLI
 GPKGVDKSRLFIMDSTYMADKNPLIERGAPYINLLLQVYGSQGEKGGWEPVSNRPEKTMEERWQGYSKYIRPEQYMIQFSFYEN
 AQEGLNLYWDINSRDKEDKANGINTDITGTRAERYARWQPKTGGVKGKGFISYAIORGDGVAHQPKYAKQKEFKDATDNIFHSDYSVSK
 10 ALKTVMLKDKSYDLIDEKDFDKALREAVMAQVGTTRKGDLEFRNGTLRLDNPAIQSLEGLNFKKLAQLDLIGLSRITKLDKRVLPANM
 KPGKDTLETVLETYKKDNKEEPATIPPVSLKVSGLTGLKELDLSGFDRETLAGLDAATLTSLEKVDISGNKLDLAPGTENRQIFDTMLST

ISNHVGSNEQTVKFDKQKPTGHYPDTYGKTSRLRPVANEKVDLQSQLLFGTVTNQGTLINSEADYKAYQNHKIAGRFSFVDSNYHYNN
 FKVSYENYTVKVTDSLTGTTDKTLATDKEETYKVDFFSPADKTKAVHTAKVIVGDEKTMVMNLAEGATVIGGSADPVNARKVFDGQL
 15 GSETDNISLQWDSKQSIIFKLKEDGLIKHWRFFNDSARNPETTNKPIQEAQLQIFNIKDYNDLLENPNKFDDEKYWITVDTYSAQGE
 RATAFSNTLNNITSKYWRVFDTKGDYSSPVPELQILGYPLNADTIMKTVTTAKELSQKDKFSQKMLDELKIKEMALETSLNSKI
 FDTVAINANAGVLKDCIEKRQLLKK

SPy1821

Sec. ID 226

25 MIEASKLKAGMTFEAEGLIRVLEASHHKPGKGNITMRMKLRDVRTGSTFDTTYRPEKFEQAIETVPAQYLYKMDDTAYFMNTDTY
 DQYEIPVANVEQELLYILENSDVKIQFYGSEVIGVTVPTVELVAETQPSIKGATVTGSGKPATLETGLVNVNVPDFIEAGQKLIINTAEG
 TYVSRA

Spy1916

Sec. ID 227

35 MTKTLPKDFIFGGATAAYQAEGATHDGGKGPVAVWDKYLEDNYWYTAEPASDFYNRYPVDLKLEEFVGNIRISIAWSRIFPTGKGEV
 NPKGVEYYHNLFAECHKRHVPEFVTLHFDTPREALHSDGDFLNRENIEHFVNYAEFCFKEFSEVNYWTTFNEIGPIGDGQYLVGKFPF
 GIQYDLAKVFQSHHMMVSHARAVKLFKDSGYSGEIGVWHALPTKYPPDANNDVRAAELEDIHNKFIIDATYLGKYSDKTMEGVN
 HILEVNGGELDLREEDFAALDAKDLNDFLGINYMSDWMQAFDGETEIIHNGKGEKSSKYQIKGVGRRKAPVDVPKTDWDWIIFP
 40 QGLYDQIMRVKADYPNYKKIYITENGLGYKDEFVDNTVYDGGRIDYVKKHLEVISDAISDGANVKGYFMWSLMDVFSWSNGYEKRYG
 LFYVDFETQERYPKSAYWYKVAETQVIE

SPy1972

Sec. ID 228

45 MKKKVNVQGSKRYQYLLKKGWIGFVIAATGTVVLGCTPSILTHQVAAKTIVGLARDEAQQGDGNAKSGDGLQSSSKEAKPVLSSSAN
 PASIAEHHLRMHFKTLPAGEGLSLGLWVWGDVDQPSKDWPNNGAITMTAKKDDYGYLLDVPLAAKHRQQVSYLINNKAGENLSKD
 QHISLLTPKMNEVWIDENYHAYRPLKKGYLRYNYHNQSGHYDNLAWWTFKDVKTPTDWPNGLDLSHKGHYGAYVDVPLKEGAN
 50 EIGFLIDKSKTGDAIKVQPKDYLFKELDNHTQVFKDTPKVVYNNPYIIDQVSLKGAEQTTTPNEIKAIFTTLDGLDEDVKNQIKITDKA
 GKTVAJDELTLDRDKSVMTLKGDFAQGAVYTVTFGEVSVQVARQSWQLKDKLYAYDGELGATLAKDGSVDLALWSPSADTVKVVVY
 DKQDQTRVVGQADLTKSDKGVVRAHLTSDSVKGISDYTGYYLYEITRQGEKVMVLDPYAKSLAAWNDATATDDIKTAKAAAFIDPSK
 LGPTGLDFAKINNFKKREDAIIEAHVRDFTSDKALEGKLTHPFGTFSAFVEQLDYLKDLGVTHVQLLPVLSYFYANELDKSRSTAYTS
 55 SDNNYNWGYDPQHYFALSGMYSANPNPALRIELKNLVNEIHKRGMGVIFDVVYNHTARTYLFEDLEPNYHFMMNADGTARESFG
 GGRLGTTTHAMSRRLVDSITYLTFREFKVDGFRFDMMGDHDAAAIEQAFKAAKAINPNTIMGEGWRTYQGDEGKKEIADQDWMKAT
 NTVGVFSDDIRNTLKSFPNEGTAFAFITGGAKNLEGLFKTIKAQPGNFEADAPGDVVQYIAAHDNLTLDHVIKASINKDPKVAEEEEIHKR
 IRLGNTMILTAQGTAFIHSQGEYGRTKQLLNPDYKTKASDDKVPNKATLIDAVAQYPYFIHDSYDSSDAVNHFDWAKATDSIAHPISNQ
 TKAYTQGLIALRRSTDAFTKATKAEVDRDVTLITQAGQDGIQGEDLMJGYQTVASNGDRYAVFVNADNKTRKVVLPQAYRYLLGAQVL
 60 VDAEQAGVTAIAKPKGVQFTKEGLTIEGLTALVLKVSSTANPSQQKSQTDNHQTKTPDGSKDLKSLMTRPKRAKTNQKLPKTGEA
 SSKGLLAAGIALLLAISLLMKRQKD

65

ES 2 330 334 T3

SPy1979

Sec. ID 229

5 MKNYLSIGVIALLFALTFTGTVKSVQAIAGYGWLPDRPPINNSQLVVS MAGIVEGTDKKVFINFFEIDLTSQPAHGGKTEQGLSPKSKPFA
TDNGAMPKLEKADLLKAIQKQLIANVHSNDGYFEVIDFASDATITDRNGKVVYFADKDGSVTLPTQPVQEFLLKGHVVRVPYKEKPVQ
NQAKSVDVEYTVQFTPLNPDDFRPGLKDTKLLKTLAIGDITTSQELLAQAQSILNKTHPGYTIYERDSSIVTHDNDIFRILPMDQEFTY
HVKNREQAYEINPKTGIKEKTNNTDLVSEKYYVLKQGEKPYDPFDRSHLKLFTIKYVDVNTNELLKSEQLLTASERNLDFRDLYDPRDK
AKLLYNNLDAFDIMDYTLTGKVEDNHDKNNRVVTVYMGKRPKGAKGSYHLAYDKDLYTEEERKAYSYL RDTGTPIPDNPKOK

10

SPy1983

Sec. ID 230

15 MLTSKHHNLNLVWRYGLTSAAAVLLAFGGGASSVKAEVSSTTMTSSQRESKIKEIEESLKYPEVSNEKFWERKWWYGTIFYKEEDFQ
KELKDFTEKRLKEILDIGKSGIKGDRGETGPAGPAGPQGTGERGAQGPQKDRGEQGIQKAGEKGERGEKGDGETGERGEKG
EAGIQGPQGEAGKDGAPKGDGAPGEKGEKGDGETGAQGPVGPQGEKGETGAQGPAGPQGEAGKPGEQGPAGPQGEAGQPGE
20 KAPEKSPEGEAGQPGEKAPEKSKEVTPAAEKPADKEANQTPERRRNGNMAKTPVANNHRRLPATGEQANPFFTA AA VAVMTTAGVL
AVTKRKENN

25 SPy1991

Sec. ID 231

30 MILLIDNYDSFTYNLAQYLSEFDETVLYNQDPNLYDMAKANALVSPGPGWPKEANQMPKLIQDFYQTKPILGVCLGHQAI AETLGG
TLRLAKRVMHGRQSTIETQGPASLFRSLPQEITVMRYHSIWDQLPKGFSVTARDCDDQEIMAFEHHTLPLFGLQFHPESIGTPDGMT
MIANFIAAIRP

35 SPy2000

Sec. ID 232

40 VSKYLKYFSIITLFLTGLILVACQQQKPKTKERQQRKQRPKDELVSMGAKLPHEFDPKDRYGVHNEGNITHSTLLKRSPELDIK GELAK
TYHLS E DGLTWSFDLHDDFKFSNGEPVTADDVKFTYDMLKADGKAWDLTFIKNVEVVGKNQVNIHLTEAHSTFTAQLTEIPVPPKHY
NDKYKSNPIGSGPYMVKEYKAGEQAI FVRNPYWHGKPYFKKWTWLLDENTALAALES GDVDMYATPELADKKVKGTRLLDIPSN
DVRGLSLPYVKKGVITDSPDGYVGNVDTSDPAIRKALTIGLNRQKVLDTVLNGYGKPAYSIIDKTPFWNPKTAIKDNKVAKAKQLLTK
AGWKEQADGSRKKGDLDAFDLYYPTNDQLRANLAVEVAEQAKALGITIKLKASNWDEMATKSHDSALLYAGGRHHAQQFYESHHP
SLAGKGTNITFYNNPTVTKYLDKAMTSSDLKANEYWKLAQWDGKTGASTLGDLPNVWL VSLNHTYIGDKRINVGKQGVHSHGH
45 WSLLTNIAEW TWDESTK

50 SPy2006

Sec. ID 233

55 VKKTYGYIGSVAALLATHIGSYQLGKHHMGSATKDNQIAYIDDSK GKAKAPKTNKTM DQISAEEGISAEQIVVKITDQGYVTS HGDHYH
FYNGKVPYDAI SEELLMTDPNYRFKQSDVINEILDGYVIKVNNGNYVYLKPGSKRKNIRTKQIAEQVAKGTKEAKEKGLA QVAHLSK
EEVAAVNEAKRQGRYTTDDGYIFSPTDIIDLDGAYLVPHGNHYHYIPKDLSPSELAAQA YWSQKQGRGARPSDYRPTPAPAPGR
RKAPIPDVTPNPGQGHQPDNGGYHPAPRPNDASQNKHQ RDEFKGTFKELLDQLHRLDLKYRHVEEDGLIFEPTQVIKSNAGYVV

60 PHGDHYHIIPRSQLSPLEMELADRYLAGQTEDDSDSGSDHSPSDKEVTHFTLGHRIKAYGKGLDGKPYDTS DAYVFSKESIHSVDKS
GVTAKHGDHFHYIGFGELEQYELDEVANWVKAKGQADELAAALDQE QGKEKPLFDTKKVSRIKVTGDGKVG YMMPKDGKDYFYARD
QLDLTQIAFAEQELMLKDKKHRYRVDVDTGIEPRLAVDVSSLP MHAGNATYDTGSSFVIPHIDHIHVVPYSWLT RDQIATIKYVMQHPEV
RPDIWSKPGHEESGSVIPNVTPDKRAGMPN WQIIHSAEEVQKALAEGRFATPDGYIFDPRDVLAKETFVWKDGSFSIPRADGSSLR
INKS DLSQA EWQQAQELLAKKNAGDATDTPKPEKQQA DKS NENQQPSEASKEEKE SDDFIDSLPDYGLDRATLEDHINQLAQKA
NIDPKYLIFQPEGVQFY NKN GELV TYDIKTLQQINP

65

ES 2 330 334 T3

SPy2009

Sec. ID 234

5 MRRAENKHSRYSIRKLSVGVTSIAIASLFLGKVAYAVDGIPIISLTQKTTATTSENMWHHIDKDGLIPLGISLEAAKEEFKKEVEESRLSE
AQKETYKQKIKTAPDKKLLFTYHSEYMTAVKDLPASTESTTQPVEAPVQETQASASDSMVTGDSTSVTTDSPEETPSSSESPVAPALS
EAPAQPAESEEPSVAASSEETPSPSTPAAPETPEEPAAAPSPSESEEPSVAAPSEETPSPETPEEPAAPSQPAESEESSVAATTSPS
PSTPAESETQTPPAVTKDSDKPSAAEKPAASSLVSEQTVQQPTSKRSSDKKEEQEQSYSPNRSLSRQVRAHESGKYL PSTGEKAQ
PLFIATMTLMSLFGSLLVTKRQKETKK

10

SPy2010

Sec. ID 235

15 LRKQKLPFDKLAIALMSTSILLNAQSDIKANTVTEPTATEQAVETPQPTAVSEEPSSKETKTPQTPDDAEETIADDANDLAPQAPA
KTADTPATSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKAGTVVAVIDAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVA
YYHDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIIIDAVNLGAKVINMSFGNA
20 ALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVGTPAAADSTLTVASYSPOKQLTETATVKTADQQDK
EMPVLSNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDIKFKIANAKKAGAVGLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISR
KDGLLLKENPQKTTIFNATPKVLPASGKLSRFSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSMSAPLVAGIMGLLQKQY
ETQYPMTPSERLDLAKKVLMSATALYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNNTSSKVHLNNVSDKFEVTVTVHVK
SDKPOELYQATVQTDKVDGKLFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTIPIDVSQFSKDLLAPMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSI
25 PYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSDAKQDQDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIHKAVKEGVENIEDIESSEITETIFA
GTFKQDDDSHYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDYVQFGTFLRNAKNLVAEVLKKEGNVWWTSEVTEQWKNYNNDLASTLGST
RFEKTRWDGKDKDKVWANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIDVNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAITY
MDEDLPTTEYISPNEGTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDFYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNKPEQDQSDQAPDKKPKETKPEQD
30 GSGQAPDKKPKETKPEQDQSDQAPDKKPKETKPEQDQSDQAPDKKPKETKPEQDQSDQAPDKKPKETKPEQDQSDQAPDKKPKETKPEQD
KDQLPTTNDKDTNRLHLLKLVMTTFFLGLVAHIFKTKRTE

30

SPy2016

Sec. ID 236

35 MNIRNKIENSKTLLFTSLVAVALLGATQPVSATYTSRNFWDWSGDDWSGDDWPEDDWSGDGLSKYDRSGVGLSQYGWSKYGWSS
DKEEWPEDDWSGDDKDETEDKTRPPYGEALGTGYEKRDDWGGPGTVATDPYTPPYGGALGTGYEKRDDWGGPGTVATDP
40 YTPPYGGALGTGYEKRDDWRGPGHIPKPENEQSPNPLHIPPQIEWPQWNGFDGLSFGPSDWGQSEDTPPSEPRVPEKPHHTP
QKNPQESDFDRGFSAGLAKNSGRGIDFEGFYGGWSDEYKGYMQAFGTPYTPSAT

40

SPy2018

Sec. ID 237

45 MAKNNTRNHYSRLKLTGTASVAVALTVLGAGFANQTEVKANGDGNPREVIEDLAANNPAIQNIRLRYENKDKARLENAMEVAGRD
FKRAEELEKAKQALEDRKQDLETKLQDQYDLAKESTSWDRQRLEKELEEKKEALELAIDQASRDYHRATALEKELEEKKALELA
50 IDQASQDYNRANVLEKELETITREQEINRNLLGNAKLELDQLSSEKEQLTIEKAKLEEEKQISDASRQSLRRDLASREAKKQVEKDLA
NLTAELDKVKEDKQISDASRQGLRRDLASREAKKQVEKDLANLTAELDKVKEEKQISDASRQGLRRDLASREAKKQVEKALEEAN
SKLAALEKLNKELEESKKLTEKEKAELQAKLEAEAKALKEQLAKQAEELAKLRAGKASDSQTPDTKPGNKAVPGKGQAPQAGTKPNQ
NKAPMKETKRQLPSTGETANPFFTAALVMATAGVAAVVKKRKEEN

55

SPy2025

Sec. ID 238

60 MKKRKLLAVTLLSTILLNSAVPLVADTSLRNSTSSDQPTTADTDDESETPKKDKKSKETASQHDQKDHKPSHTHTPPSNDTK
QTDQASSEATDKPNKDKNDTKQPDSSDQSTPSPKQSSQKESQNKDGRPTSPDQKQDQTPDKTPEKSADKTPKGPKEKATDKTP
EPNRDAPKPIQPPLAAAPVFIPWRESKDLKSLKPSRSSAAAYVRHWGDSAYTHNLLSRRYGITAEQLDGLNSLGHYDKERLNGK
RLEWEKLTGLDVRAIVAJAMAESSLGTQVVAKEGANMFGYAFDFNPNAKKYSDEVAIRHMVEDTIIANKNQTFERQDLKAKKW
65 SLGQLDLDLIDGGVYFTDTSGSGQRRADIMTKLDQWIDHGSTPEIPEHLKITSGTQFSEVPVGYKRSQPQNVLYKSETYSFGQCTW
YAYNRVKELGYQVDRYMNGGDDWRKPKGFVTTTHKPKVGYVVSFAPGQAGADATYGHVAVVEQIKEDGSLISESNVMGLGTISYRT
FTAQASLLTYVVGDKLP RP

ES 2 330 334 T3

SPy2039

Sec. ID 239

5 MNKKKLGVRLLSLLALGGFVLANPVFADQNFARNEKEAKDSAITFIQKSAAIKAGARSAEDIKLDKVNLLGGELSGSNMYVYNISTGGFV
IVSGDKRSPEILGYSTSGSFDANGKENIASFMESYVEQIKENKLDTTYAGTAEIKQPVVKSLLDSKGIHYNQGNPNLLTPVIEKVKPG
EQSFVGGHAATGCVATATAQIMKYHNYPNKGLKDYTYTLSSNPNYFNHPKNLFAAISTRQYNWNNILPTYSGRESNVQKMAISELMA
10 DVGISVDMYGPSSGSAGSSRVQRALKENFGYNQSVHQINRGDFSKQDWEAQIDKELSQNQPVYVYQGVGKVGGHAFVIDGADGRN
FYHVNWGWGGVSDGFFRLDALNPSALGTGGGAGGFNGYQSAVVGIKP

SPy2043

Sec. ID 240

15 MNLLGSRRVFSKCKRLVKFSMVALVSATMAVTTVLENTALARQTQVSNDDVLDNGASKYLNEALAWTFNDSPNYKTLGTSQITPA
LFPKAGDILYSKLDLGRTRTARGLTYANVEGSYGVRSQSGKQNPAGWTGNPNHVKYKIEWLNGLSYVGDVFNRSHLIADSLGG
DALRVNAVGTGTRTQNVGGRDQKGGMRYTEQRAQEWLEANRDGYLYEAAPIYNADELIPRAVVSMQSSDNTINEKVLVYNTANGY
20 TINYHNGTPTQK

SPy2059

Sec. ID 241

25 MRFLELLQKKFFPKAYQEKLQFLMHQKTRLTPQHNRKQYSPNANHLDSATKNSQDPATALQRSRAYEGSPKSRPAWLQKLEAVLP
30 SPQRPIRRFWRRYHIGKLLMILIGTLVLLLSYLYFYSKTAKVSDLDQALKATTVIYDHHKGEYAGSLSGQKGSYVELNAISDDLENAVIAT
EDRTFYNSNGINLKRFLAVTAGRFGGGSTITQQLAKNAYLSQDQTIKRKAREFFLALELTKKYSKKDILTMYLNNSYFGNGVWVGE
DASQKYFGTTAANLTLDEAATLAGMLKGPYINPYHSLKNATHRRDVLGAMVDAKKITQTKAQQARAVGLKNRLADTYVGTDDYK
35 YPSYFDAVISEAIATYGLSEKDIVNNGYKYYTELQNYQTGMQTTFNDELFPVSAYDGSSAQAAASVALDPKTGGVRLIGRVNSSEN
PTFRSFNYATQAKRSPASTIKPLVYAPAVASGWSIEKELPNTVQDFDGYQPHNYGNYESEDVPMYQALANSYNIPAVSTLNDIGIDK
AFTYGTFTGLDMSSAKKELGVALGGSVTTNPLEMAQAYAAFANNGVIHPAHLINRIENARGEVLKFTFDKAKRVVSQSVADKMTAMM
40 LGTFSNGTAVNANVYGYTLGKTGTTETNFNPDLAGDQWVIGYTPDVISQWVGFNQTDENHYLTDSSAGTASAFSTQASYILPYTK
GSQFHVDNAYAQNGISAVYGVNETGNQSGVDTQSIIDGLRKSQAQESQSLSKAVDQSGLRDKAQSIWKEIVDYFR

SPy2110

Sec. ID 242

45 MVSLEEDKVTQPDIKVIKRDGRLVNFDSTKIYSALLKASMKVTRMSPLVEAKLEAISDRHIAEIERFPTNIKIYEIQNIVEHKLAAANEYAI
AKEYINYRTQRDFARSQATDINFSDKLINKDQTVVNNENANKDSDFNTQRDLTAGIVGKSIGLKMLPSHVANAHQKGDIIYHDLDYSP
YTPMTCCLIDFKGMLANGFKIGNAEVESPKSIQTATAQISQIIANVASSQYGGCTADRIDEFLAPYAEINFKKHMADAKKWIVETKRE
50 SYAFEKTQKDIYDAMQSLEYEINTLFTSNGQTPFTSLGFLGTSWFEREIQKAILTIRINGLGEHRTAIFPKLIFTVKRGLNLEPDSPNY
DIKTLALECATKRMYPDMLSVDKIIDLTSFSPMGCRSFLQGWKDENGQDVTSGRMNLGVVTLNLPRIAMESNGDMDFWELFNE
RMLISKDALIYRVERVTEAKPANAPILYQYGAFGKRLEKTGNVNDLFGNRRATVSLGYIGLYEVASVYGGQWEGNPDAKAFTLSIVKA
MKQACEDWSDEYGYHFSVYSTPSESLDRFCRLDTEKFGIVTDITDKEYTNSFHYDVRKSPFPFEKLDPEKDYPEAGASGGFIHYC
55 EYPVLQQNPKALEAWDYAYDRVGYLGTNTPIDKCYNCQFEGDFTPTERGFTCPNCGNNDPKTVDVVKRTCGYLGPNQARPMVNG
RHKEISARVKHMNGSTIKYPGL

SPy2127

Sec. ID 243

60 MRRNYSRVDELRTDYGLNLVAJGQRLGTDPRVTGKWWQGGKHNPQESRKKLNRLYREVKETMMTQVNIFFEEANDNTKQVMQVITT
TNFHGQPLDIYGDIEPLFLARAVAEMIDYTKTSQGYVDQAMLRKVDEDEKLGMALEGTTKNFRSGQKWWFLTEHGLYEVLMRSN
KPKAKEFRKAVKNILKEIRLNGYYMQGELVQELAQPSTQKLPGISDLTYLNLKADLVDMNDLADISNGIDRVQQLVKLISL

ES 2 330 334 T3

SPy2191

Sec. ID 244

5 MFKKENLKQRYFNFGFLVALALTILAIIFAFSSKNADTKSYAKKSESKMVTIDKAPKNNHAITKEESKEKAKSIASEPIPTVENSVAPTVTE
EVPVWQQEVTQTQQVSSVAYNPNNVLSNGNTAGIVGSQAAAQMAAATGVPQSTWEHIIARESNGNPNAANASGASGLFQTMPG
WGSTATVEDQVNAALKAYSAQGLSAWGY

10 SPy2211

Sec. ID 245

15 MKNNNKWIIAGLASFLFPLSIIIFIILLSMGIYNSDKTILASDAFHQYVIFAQNFNRNIMHGSDSFFYTFTSGLGINFYALMCYYLGSFFSPLL
FFFNLTSMPDAIYLFLLIKFGLIGLAACYSFHRLYPKISAFMLISISVVFYSLMSFLT SQMELNSWLDVIFILLPLVILGLNKLITENKTRTYLS
ISLLFIQNYFYGMIALFCILYALVCLLRNDNFNKMFI AFVRF TAVSICAALTSALVILPTYLDLSTYGENLSPIKQLVTNNAWFLDIPAKLSI
GYYDTTKFNALPMIYVGLFPLMLSVIYFTLESIPKIKLANACLLTFIHSFYLPQLDLFWQGMHSPNMFHRYAWSFSMILLACETLSRL
20 KEVTQIKAGFAFIFLIILTSLPYSFSQQYNFLPLTLFLLSVFLLGYTISLFSFRNSQIPSTFISAFILIFSLESGLNTYYQLQGINKEWGFPS
RQIYNSQLKDINNLVNSVSKNSQPFFRMERLLPQTGNDSMKFNYYGISQFSSVRNRLSSLLDRLGFQSKGTNLNLRQNNTIIMDSL
LGIKYNLSEGGPPNKFGFTKLKTSGNTTLYQNHYSPLAILTRNVYKDVNLNVNTLDNQTLLNQLSGKSLTYFNLQPAQLISGANQFNG
QISAQASDYQNSVTLNYQINIPKHSQLYVSIPNIIIFSNDPAKEMRIQTDNHNFIYTTDNAYSFFDLGYFADAKVATFSFVFPKNKQISFKE
PHFYLSIESYLEAMNSIKQKNVHTYAKSNTVITDYNSTKGSLLIFLTPYDKGWSAQKDGKNLPVKAQGGFLSVTIPKGGKGRVILTFIP
25 NGFKLGLSLSCVGIAYMLLYKYIDIKSKLL

ARF0450

30 Sec. ID 246

fsrflptrrdysslwsascrnehynsqhhhgvgtvsskqnrprl

35 ARF0569

Sec. ID 247

40 sfiwekrnpegs

45 ARF0694

Sec. ID 248

kgeektevtkekllelarwikdisddtdekteadeayydgdgteettv

50 ARF0700

Sec. ID 249

lyqkkrlkksqrisklmtsrllnkalmtskie

60 ARF1007

Sec. ID 250

65 fvllqkyslwg

ES 2 330 334 T3

ARF1145

Sec. ID 251

5 pismqkaiqvaiimveqnvvilskrlllnvirnfsvphlpmfkipkevpmqqliwp

ARF1208

10

Sec. ID 252

frnifcdfscssfvscyqklkrkgynrtskkrfl

15

ARF1262

20

Sec. ID 253

wvtgckwwffc

25

ARF1294

Sec. ID 254

30 ImikakktnskivtIsqptkkfnlqklfnqtnllkplslwvlqttIs

35

ARF1316

Sec. ID 255

prngwgrferyerlgrtrhdhvncysrngicspss

40

ARF1352

45

Sec. ID 256

lmncpslhflqpkhkeqpvlkmlknyeskkqivfk

50

ARF1481

Sec. ID 257

55 kttkcnylkrpkivesrlqrtrfricsrkhgryrvvirrtlfltnskkilvkmkrllslvtapkeskkmelsqflig

60

ARF1557

Sec. ID 258

grrlpprlpqekskwllpy

65

ES 2 330 334 T3

ARF1629

Sec. ID 259

5 fwspgsryfvrdandcqrtgfskcdswgtkcryflkfagfssvrknvsivntgcwsgRPCP

ARF1654

Sec. ID 260

10 cvpsvkcsimiqintplsilfpntlvqagvifrvypigfplfllewqksqq

ARF2027

Sec. ID 261

20 sdyfrhhapflkwlr saknnskdircpyyangir

ARF2093

Sec. ID 262

25 lllkqtsklnllikanqkrsgtkssqvkw tascIttkItkItflhkftswttakllkItItq

ARF2207

Sec. ID 263

35 hlfvkdwstlkiwercsvcykkwkkqelwqprlyqk

CRF0038

Sec. ID 264

45 lyapqslsnpfl dsipcdq

CRF0122

Sec. ID 265

50 nrrdfldnwnlirvteplgtslvfdnfinraahininniglgiglnesctfqpfcvttk

CRF0406

Sec. ID 266

60 qaplddhhnkptywsgyl

65

ES 2 330 334 T3

CRF0416

Sec. ID 267

5 yflkktplkaakswllspfgemaktgfpwaffskinlpsafllkvpsvcrplseivlvdltvseprvtspvkclpt

CRF0507

10

Sec. ID 268

sknkrntdtgcnngkgsksvshnhsknnhakhisenakeaaisrynlpnernshhitntsscknss

15

CRF0549

Sec. ID 269

20

lfihrsrlildflvinfslfvqiyyddflng

CRF0569

25

Sec. ID 270

sfiwekrnpegs

30

CRF0628

35

Sec. ID 271

ikhltqakqrmvskvlvanplgskgiadsiqlrmkplavkryrsslstr

40

CRF0727

Sec. ID 272

45

ppppnlppacktvktvstagrplawistgiprpsstvmelsasiktli

CRF0742

50

Sec. ID 273

enefnqyyqdakykshkerlfintfkrqgylr

55

CRF0784

Sec. ID 274

60

trvapyfpqalaifsepvtliasfkafpsssaastav

65

ES 2 330 334 T3

CRF0854

Sec. ID 275

5 spftksvltpsalklssikrpvkppknpvavlamskrckmriltmplppanlsslamrftdprfiwsiltiksiegfkvtv

CRF0875

Sec. ID 276

10 dhniywhyqlklsqvqtmfpl

CRF0907

Sec. ID 277

20 pnlldhflpnnphqnhkakld

CRF0979

Sec. ID 278

25 30 qcliiinninfrhknkntpscilkraSlhdiifhaetllw

CRF1068

Sec. ID 279

35 40 eklftrarqrynfkwwskkqimglvliivflksmrnseskiffyhifghldlsnasinnnqvrsllqslfhptvpskkhfsht
giiwshhcfnlkfuitrfainknnhsmwtcplnvriikgfnahrlnp k

CRF1152

Sec. ID 280

45 50 dnrcrgclstnldnkthsftarfvtnccntf

CRF1203

Sec. ID 281

55 igsinqlvsfalvtmdevktlftlitptfeec

CRF1225

Sec. ID 282

60 65 yqvcqlpegvpqlivnadqtwfykaktkqrtkkqwrnsq

CRF1236

Sec. ID 283

5 ilakieisqkltitiiimrs

CRF1362

10

Sec. ID 284

fpdvndkviardsrffgkertcllsnrfwegdkkvetnpndigd

15

CRF1524

Sec. ID 285

20

kfnvtllplcqnelvitlffifchlllnrganissqkvikevr

CRF1525

Sec. ID 286

25

etsallaarfirsadspkiiiclsprsgtkssnsiprsrppaikikrllskpdka

30

CRF1527

Sec. ID 287

35

krlddctliffwcinIntlkrftfdlinffddnfw

40

CRF1588

Sec. ID 288

45

ewlsqqhshqflhdkrsyldtafdkgkctfhkpvlllrwssylg

CRF1649

Sec. ID 289

50

hdhshqqslkqlgnlgldskhnhqndkyykesaahrg

55

CRF1749

Sec. ID 290

60

vmlkapvklifktrsksssvilsinlslvmpalltktsiepklsiasltirlasdasetpemtvtvp

65

ES 2 330 334 T3

CRF1903

Sec. ID 291

5 relsrfsssaillkplvkvpnrntmappnppaaplgivcksmvwwqktflakllai

CRF1964

10

Sec. ID 292

ehfqpnhqigqkwkkerpkptwksdvhkqtyqsp

15

CRF2055

Sec. ID 293

20

ksrslrtssitsstvfssptilvlspslvnicsgafcwdsghlahhghlkgqpfkktvvrpigs

CRF2091

25

Sec. ID 294

rneintssptlsstki

30

CRF2096

35

Sec. ID 295

cslaaftkfsksaivpksgltav

40

CRF2104

Sec. ID 296

45

eamsqcrccsfladsslirydlakssvviaamifkmawlsqgrcg

CRF2116

50

Sec. ID 297

nfkarpvgvsgfpnitptfsrnwlikaivfvllieadnrma

55

CRF2153

Sec. ID 298

60

ketchyshqhvhvifqakfdmflphpdksghqncsidg

65

ES 2 330 334 T3

NRF0001

Sec. ID 299

5 itlltkqtqqfrkpslsnllkhlvkrmslsmflkqkhqltkpkasmlrpqnnkttisfhggdqtikihgptlts

NRF0003

10

Sec. ID 300

sgrqdsnlrhlgpkpstlps

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65