



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 320 527**

51 Int. Cl.:
C12Q 1/68 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01129274 .5**
96 Fecha de presentación : **02.07.1999**
97 Número de publicación de la solicitud: **1197567**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.04.2002**

54 Título: **Caracterización de la función génica usando inhibición por ARN bicatenario.**

30 Prioridad: **03.07.1998 GB 9814536**
09.12.1998 GB 9827152

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.05.2009

73 Titular/es: **Devgen N.V.**
Technologiepark 30
9052 Gent-Zwijnaarde, BE

72 Inventor/es: **Plaetinck, Geert;**
Platteeuw, Christ;
Mortier, Katherine y
Bogaert, Thierry

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 320 527 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

Caracterización de la función génica usando inhibición por ARN bicatenario.

5 La presente invención se refiere a la caracterización o identificación de la función de genes usando la inhibición por ARN bicatenario (ARNbc) y métodos de identificación del ADN responsable de la inducción de un fenotipo específico en una célula y un método de asignación de la función a secuencias de genes conocidas.

10 Se ha descrito recientemente en Nature Vol 391, págs. 806-811, Febrero 1998, que la introducción de ARN bicatenario en una célula da como resultado una interferencia potente y específica con la expresión de genes endógenos en la célula y siendo la interferencia sustancialmente más eficaz que proporcionar individualmente cualquier cadena de ARN como se propone en la tecnología antisentido. Se descubrió que esta reducción específica de la actividad del gen también sucedía en el helminto nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) cuando se introducía el ARN en el genoma o en la cavidad corporal del helminto.

15 Los presentes inventores han utilizado esta técnica y la han aplicado adicionalmente para encontrar nuevos e ingeniosos métodos de asignación de funciones a genes o fragmentos de ADN que se han secuenciado en diversos proyectos, tales como, por ejemplo, el proyecto genoma humano, y a los que todavía hay que dar una función particular, y para usar en la identificación del ADN responsable de conferir un fenotipo particular.

20 El documento WO 90/14090 describe un método para producir ARN bicatenario *in vitro* por transcripción de cadenas molde clonadas en vectores pGEM. Se preparan dos cadenas sencillas de ARN separadas en reacciones de transcripción *in vitro* separadas y posteriormente se hibridaron para producir un ARN bicatenario.

25 De acuerdo con la invención, se proporciona un método de introducción de ARNbc o ADN capaz de producir ARNbc en un organismo no humano, comprendiendo el método suministrar a dicho organismo un microorganismo adecuado que comprende un vector de expresión que comprende un promotor o promotores orientados en relación con una secuencia de ADN de manera que son capaces de iniciar la transcripción de dicha secuencia de ADN en ARN bicatenario tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dicho promotor o promotores o suministrar a dicho organismo directamente dicho vector de expresión.

30 Un método de identificación del ADN responsable de conferir un fenotipo en una célula puede comprender a) construir una genoteca de ADNc o genómico del ADN de dicha célula en una orientación en relación con el promotor (o promotores) capaz de promover la transcripción de dicho ADNc o ADN en ARN bicatenario (bc) tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dicho promotor (o promotores), b) introducir dicha genoteca en una o más de dichas células que comprenden dicho factor de transcripción y c) identificar y aislar un fenotipo deseado de dicha célula que comprende dicha genoteca e identificar el fragmento de ADN o ADNc de dicha genoteca responsable de conferir dicho fenotipo.

40 La genoteca puede organizarse en combinaciones jerárquicas como se describe con más detalle en los ejemplos proporcionados, antes de la etapa b) tal como para incluir, por ejemplo, familias de genes.

45 Un método de asignación de función a una secuencia de ADN conocida puede comprender a) identificar un homólogo (u homólogos) de dicho ADN en una célula, b) aislar el ADN homólogo (u homólogos) pertinente o un fragmento del mismo de dicha célula, c) clonar dicho homólogo o fragmento en un vector apropiado en una orientación con relación a un promotor (o promotores) capaz de promover la transcripción de ARNbc tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dichos promotores, d) introducir dicho vector en dicha célula de la etapa a) que comprende dicho factor de transcripción, y e) identificar el fenotipo de dicha célula en comparación con el tipo silvestre.

50 En la invención, la secuencia de nucleótidos o de ADN puede proporcionarse tanto en una orientación con sentido como antisentido con relación a un solo promotor que tiene las propiedades definidas anteriormente, o como alternativa puede proporcionarse entre dos promotores idénticos. En ambos métodos descritos anteriormente el ARNbc se proporciona a partir de la transcripción iniciada a partir del promotor tras la unión de su factor de transcripción apropiado.

55 La célula de acuerdo con dicho método puede proceder de o estar contenida en un organismo. Cuando la célula está contenida en un organismo, el organismo puede adaptarse para expresar el factor de transcripción apropiado. El organismo puede ser cualquiera de una planta, animal, hongo o levadura pero preferiblemente puede ser el helminto nematodo *C. elegans*, que puede ser cualquiera de un tipo silvestre, un mutante nuc-1 o pha-ts de *C. elegans* o una combinación de dichas mutaciones. En una realización alternativa, la genoteca de ADN o ADNc o el ADN homólogo o fragmento del mismo puede transfectarse o transformarse ventajosamente en un microorganismo, tal como una célula bacteriana o de levadura, que puede suministrarse al organismo, que es preferiblemente el helminto nematodo *C. elegans*. En esta realización de la invención, el microorganismo puede adaptarse para expresar el factor de transcripción apropiado. Preferiblemente, el microorganismo es *E. coli*.

65 En cada aspecto de los métodos descritos, la genoteca de ADN, homólogo de ADN o fragmento de ADN puede construirse en un vector de ADN adecuado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica dicho factor de transcripción. Como alternativa, dicho factor de transcripción está codificado por un vector adicional. En una alter-

nativa adicional más, la célula u organismo puede expresarse o adaptarse para expresar dicho factor de transcripción. Preferiblemente, cualquiera de los vectores usados en el método de acuerdo con la invención comprende un marcador de selección que puede ser, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que codifica sup-35 o un fragmento del mismo. La secuencia de nucleótidos puede orientarse en relación con un promotor de manera que la unión de un factor de transcripción al promotor inicia la transcripción del ADN en ARN bicatenario. La Figura 10 ilustra los vectores y la orientación de la secuencia de ADN que permite la producción de ARN bicatenario en *C. elegans*. De esta manera, en una realización el ADN se localiza entre dos promotores en un vector capaz de expresar ARNbc después de la unión de un factor de transcripción apropiado a dichos promotores. Como alternativa, el vector comprende dos copias de la secuencia de ADN organizada en una orientación sentido y antisentido con relación al promotor y cuyo marcador es de selección cuando está contenido en un *C. elegans* mutante pha-1. Preferiblemente, los promotores son cualquiera de los promotores T7, T3 o SP6 y el factor de transcripción comprende la polimerasa apropiada.

Preferiblemente el marcador de selección comprende una secuencia de nucleótidos capaz de inhibir o impedir la expresión de un gen en dicha célula y siendo dicho gen responsable de conferir un fenotipo conocido. Esta secuencia de nucleótidos puede ser parte de o idéntica a dicho gen que confiere dicho fenotipo, y estando dicha propia secuencia de nucleótidos orientada en relación con un promotor (o promotores) adecuado capaz de iniciar la transcripción de ARN bicatenario tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dicho promotor (o promotores). Como alternativa, la secuencia de nucleótidos puede ser una parte de o idéntica a dicha secuencia génica que confiere dicho fenotipo, y siendo dicha secuencia de nucleótidos tal que permite la integración de dicho vector adecuado o adicional por recombinación homóloga en el genoma de dicha célula y a continuación dicha integración de dicha secuencia de nucleótidos es capaz de inhibir la expresión de dicha secuencia génica que confiere dicho fenotipo. En esta realización, dicha secuencia de nucleótidos comprende codones de terminación suficientes para impedir la traducción de dicha secuencia de nucleótidos después de su integración en dicho genoma.

En dicho método, ventajosamente, pueden añadirse compuestos a dicha célula u organismo con el propósito de exploración para fenotipos deseados, tales como por ejemplo, resistencia o sensibilidad al compuesto cuando se compara con el tipo silvestre. Los promotores son preferiblemente inducibles. En algunas realizaciones el factor de transcripción puede proceder de fagos, tal como por ejemplo, una polimerasa T7 dirigida por un promotor de fago. Sin embargo, cuando se utiliza *C. elegans* puede usarse un promotor específico de helmintos o específico de tejido, tal como let858, SERCA, UL6, myo-2 o myo-3. Preferiblemente, la cepa de *E. coli* es una cepa ARNasa III, e incluso más preferiblemente, ARNasa negativa.

Un método de generación de un organismo transgénico no humano que comprende un factor de transcripción exógeno y un transgén que comprende un promotor unido operativamente a un fragmento de ADN que se expresa tras la unión de dicho factor de transcripción al mismo, puede comprender a) proporcionar un primer organismo transgénico que comprende una primera construcción que incorpora ADN que codifica un factor de transcripción exógeno y un segundo organismo transgénico que comprende una segunda construcción que incluye al menos un promotor unido operativamente a una secuencia de ADN deseada que se expresa tras la unión del factor de transcripción de dicho primer organismo transgénico al mismo b) cruzar dichos primer y segundo organismos transgénicos y seleccionar los descendientes que expresan dicha secuencia de ADN deseada. En una realización, dichos primer y segundo organismos transgénicos se generan mediante la transformación de dichas primera y segunda construcciones en los microorganismos respectivos para el posterior suministro al organismo respectivo. Preferiblemente, dicha segunda construcción comprende dicha secuencia de ADN deseada en una orientación en relación con dicho promotor de manera que es capaz de iniciar la transcripción de dicho ADN en ARNbc tras la unión de dicho factor de transcripción al mismo. En esta realización, dicha segunda construcción comprende dos promotores que flanquean dicha secuencia de ADN deseada, pudiendo dichos promotores iniciar la transcripción de dicha secuencia de ADN en ARNbc tras la unión de dicho factor de transcripción a dichos promotores. Como alternativa, se proporciona dicha secuencia de ADN en una orientación sentido y antisentido en relación con dicho promotor para producir ARNbc tras la unión del factor de transcripción a los promotores.

En cada una de estas realizaciones, la primera y/o segunda construcciones pueden proporcionarse preferiblemente con un gen indicador unido operativamente a un promotor que es capaz de iniciar la transcripción de dicho indicador tras la unión de dicho factor de transcripción al mismo. Preferiblemente, el gen indicador codifica cualquiera de luciferasa, proteína verde fluorescente, β -galactosidasa o β -lactamasa.

Un método de validación de clones identificados en experimentos de vectores de doble híbrido en levadura, siendo dichos experimentos bien conocidos por los especialistas en la técnica y siendo dichos experimentos propuestos por primera vez por Chien *et al.* (1991) para detectar interacciones proteína-proteína, puede comprender proporcionar una construcción que incluye el ADN que codifica una proteína identificada en un experimento de vectores de doble híbrido, siendo su construcción tal que dicho ADN se proporciona en una orientación en relación con uno o más promotores capaz de promover la transcripción de dicho ADN en ARN bicatenario tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dichos promotores, transformando una célula, tal como una célula bacteriana o, como alternativa, transformando un organismo que comprende dicho factor de transcripción con dichas construcciones e identificando un cambio fenotípico en dicha célula u organismo, que puede ser *C. elegans* o similar, comparado con el tipo silvestre. Preferiblemente, el factor de transcripción es inducible en la célula u organismo. Una vez más la secuencia de ADN puede localizarse entre dos promotores o tanto en una orientación sentido como antisentido en relación con un sólo promotor, como se ha descrito anteriormente. Preferiblemente, el promotor es un promotor de polimerasa de fago y dicho factor de transcripción es una ARN polimerasa, y preferiblemente polimerasas T7. También están incluidos en

ES 2 320 527 T3

el alcance de la presente invención los vectores usados para transformar dichas células u organismos y las propias células u organismos.

Un método de mitigación de infestación por plaga de plantas, puede comprender a) identificar una secuencia de ADN de dicha plaga que es fundamental tanto para su supervivencia, desarrollo, proliferación o reproducción, b) clonar dicha secuencia de la etapa a) o un fragmento de la misma en un vector adecuado en relación con uno o más promotores capaces de transcribir dicha secuencia en ARN o ARNbc tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dichos promotores y c) introducir dicho vector en la planta.

Por lo tanto, ventajosamente, el método proporciona un mecanismo particularmente selectivo para mitigar una infestación por plaga, y en algunos casos la infestación parasitaria de plantas, de manera que cuando la plaga se introduce en la planta digerirá el ARNbc expresado en la planta inhibiendo de esta manera la expresión del ADN dentro de la plaga, que es fundamental para su desarrollo, supervivencia, proliferación o reproducción. En una realización preferida, la plaga puede ser cualquiera de *Tylenchulus ssp.*, *Radopholus ssp.*, *Rhadinaphelenchus ssp.*, *Heterodera ssp.*, *Rotylenchulus ssp.*, *Pratylenchus ssp.*, *Belonolaimus ssp.*, *Canjanus ssp.*, *Meloidogyne ssp.*, *Globodera ssp.*, *Nacobbus ssp.*, *Ditylenchus ssp.*, *Aphelenchoides ssp.*, *Hirschmenniella ssp.*, *Anguina ssp.*, *Hoplolaimus ssp.*, *Heliotylenchus ssp.*, *Criconemella ssp.*, *Xiphinema ssp.*, *Longidorus ssp.*, *Trichodorus ssp.*, *Paratrichodorus ssp.*, *Aphelenchus ssp.* La secuencia de ADN o fragmento de la misma de acuerdo con este aspecto de la invención puede clonarse entre dos promotores específicos de tejido, tales como dos promotores específicos de raíz.

El vector usado en cada uno de los métodos descritos en este documento para la construcción de dicha genoteca, comprende dos promotores idénticos orientados de manera que son capaces de iniciar la transcripción de una secuencia de ADN localizada entre dichos promotores en ARNbc tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dichos promotores. La secuencia de ADN puede, por ejemplo, incluir un sitio de clonación múltiple. Preferiblemente, el vector de expresión comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un marcador de selección. En una realización, la secuencia de nucleótidos que codifica dicho marcador de selección se localiza entre dos promotores idénticos orientados de manera que son capaces de iniciar la transcripción del ADN localizado entre dichos promotores en ARN bicatenario tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dichos promotores. Preferiblemente, el marcador de selección comprende una secuencia de nucleótidos que codifica sup-35, para la introducción en *C. elegans* que tiene una mutación pha-1.

Preferiblemente, el factor de transcripción comprende una polimerasa de fago que se une a su correspondiente promotor o un promotor específico de *C. elegans* e incluso más preferiblemente una polimerasa T7. Preferiblemente, el vector incluye un sitio de clonación múltiple entre dichos promotores idénticos.

Un vector de expresión para expresar un factor de transcripción apropiado puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica dicho factor de transcripción unido operativamente a secuencias de control de la expresión adecuadas. Preferiblemente, las secuencias del control de la expresión incluyen promotores que son promotores inducibles, constitutivos, generales o específicos de tejido, o combinaciones de los mismos. Preferiblemente, el factor de transcripción comprende una polimerasa de fago, y preferiblemente ARN polimerasa T7, T3 o SP6.

En este documento se describe un sistema de selección para identificar la transformación de una célula u organismo con un vector, comprendiendo dicho sistema un vector que se describe en este documento en el que dicho marcador de selección comprende una secuencia de nucleótidos capaz de inhibir o impedir la expresión de un gen en dicha célula u organismo, siendo dicho gen responsable de conferir un fenotipo conocido. Preferiblemente, dicha secuencia de nucleótidos corresponde a una parte de o es idéntica a dicho gen que confiere dicho fenotipo conocido, y estando dicha propia secuencia de nucleótidos localizada entre dos promotores idénticos capaces de iniciar la transcripción de ARN bicatenario tras la unión de un factor de transcripción apropiado a los mismos. De manera alternativa, la secuencia de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos que es una parte de o idéntica a dicha secuencia génica que confiere un fenotipo conocido en dicha célula u organismo, y que es tal que tras la integración de dicho vector por recombinación homóloga en el cromosoma de dicha célula u organismo dicha secuencia inhibe la expresión de dicha secuencia génica que confiere dicho fenotipo conocido. Preferiblemente, de acuerdo con esta realización, la secuencia de nucleótidos comprende codones de terminación suficientes para impedir la traducción de la secuencia de nucleótidos tras la integración en dicho cromosoma.

Preferiblemente, la secuencia génica conocida comprende un gen sup-35 o un fragmento del mismo que puede seleccionarse por identificación de descendientes que crecen a una temperatura superior a 25°C tras la introducción en un helminto *C. elegans* mutante pha-1 et123ts.

Un método de asignación de función a una secuencia de ADN de un organismo multicelular puede comprender a) proporcionar i) una construcción que comprende dicho fragmento de ADN clonado entre dos promotores capaces de promover la transcripción en dicho organismo multicelular, en un organismo multicelular capaz de iniciar la transcripción a partir de dicho promotor; b) identificar el fenotipo de dicho organismo multicelular en comparación con el tipo silvestre.

La presente invención puede entenderse más claramente mediante los siguientes ejemplos que son puramente ejemplares con referencia a las figuras adjuntas, en las que:

ES 2 320 527 T3

La Figura 1 es una secuencia de nucleótidos del plásmido PGN1 de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 es una secuencia de nucleótidos del plásmido PGN100 de acuerdo con la presente invención.

5 La Figura 3 es una representación esquemática de los vectores usados y del régimen de transformación usado en los métodos descritos en este documento.

La Figura 4 es una ilustración de un vector de expresión usado de acuerdo con la invención.

10 La Figura 5 es una ilustración esquemática de los vectores de expresión de ARN polimerasa T7 usados para la transformación de *C. elegans*.

La Figura 6 es una ilustración del plásmido PGN1.

15 La Figura 7 es una representación esquemática de un vector mejorado para la inhibición por ARNbc que codifica el ARNbc de sup-35.

La Figura 8 es una ilustración de un vector para la integración en el genoma de *C. elegans*.

20 La Figura 9 es una ilustración de la posición de una secuencia (o secuencias) de ADN en relación con un promotor adecuado para iniciar la expresión de ARNbc a partir de la secuencia (o secuencias) de ADN.

La Figura 10 es una representación del plásmido pGN108.

25 La Figura 11 es una representación del plásmido pGN105.

La Figura 12 es una representación del plásmido pGN400.

La Figura 13 es una representación del plásmido pGN401.

30 La Figura 14 es una representación del plásmido pGN110.

La Figura 15 es una representación del plásmido pAS2 con promotores T7/T3/SP6 directos e inversos.

35 La Figura 16 es una representación del plásmido pGAD424 con promotores T7/T3/SP6 directos e inversos.

La Figura 17 es una representación del plásmido pAS2-cyHA+, both T7-final.

La Figura 18 es una representación del plásmido pGAD424-without-FULL-ICE-BOTH-T7.

40 La Figura 19 (a) es una representación del plásmido pGN205 y (b) es una representación del plásmido pGN207.

Ejemplo A

Construcción de una genoteca de ADNc ordenada y combinada jerárquicamente y aplicaciones de la misma

45 *Genoteca ordenada y combinada aleatoria*

El vector es un vector de *E. coli* que contiene dos promotores T7, con un sitio de clonación múltiple (MCS) entre medias. Los dos promotores están orientados uno hacia el otro, y hacia el MCS. En presencia de ARN polimerasa T7, expresada en *E. coli*, *C. elegans* o cualquier otro organismo, se producirá ARN, comenzando a partir de los dos promotores T7. Como estos están orientados en sentido opuesto, se producirán ambas cadenas de ARN a partir del ADN insertado (clonado) en el MCS entre los dos promotores, dando como resultado la generación de ARN bicatenario (ARNbc) tras la unión de la ARN polimerasa T7 a los mismos.

55 En el MSC se construye una genoteca de ADNc de *C. elegans* usando técnicas de biología molecular convencionales. La genoteca se transforma dentro de *E. coli*, y las *E. coli* resultantes se cultivan y almacenan en placas multipocillo de 96. En esta fase, el ADN plásmido puede aislarse y almacenarse en placas multipocillo de 96 que se corresponden con los de las colonias de *E. coli*. Se puntúan aproximadamente 100.000 colonias. De este modo, la genoteca alojará aproximadamente 5 veces las variaciones totales de ADNc expresado de *C. elegans*, lo que proporciona la oportunidad de que las secuencias poco expresadas estén presentes en la genoteca. Esto dará como resultado aproximadamente 1041 placas de 96 pocillos. Las placas se combinan jerárquicamente según sea necesario. Por ahora la combinación de clones se dispone en un intervalo de 10 a 100. Si la combinación jerárquica es por 8 o 12 (son números más convenientes ya que las placas de 96 pocillos tienen una rejilla de 8 por 12), esto dará como resultado aproximadamente 87 placas multipocillo y aproximadamente 8352 pocillos. Si la combinación jerárquica es por 96 pocillos, que es una placa completa, dará como resultado aproximadamente 11 placas y aproximadamente 1041 pocillos. El ADN plásmido puede aislarse en cualquier fase de la combinación jerárquica, que sería menos complicado cuantas menos placas se usasen, pero daría como resultado una pérdida de complejidad aunque este no debería ser el caso en la combinación por 12. La combinación del ADN también puede llevarse a cabo con el ADN original.

ES 2 320 527 T3

Los siguientes experimentos describen cómo debe realizarse la combinación jerárquica, tanto para el ADN como para la genoteca de *E. coli*.

5 *Una genoteca ordenada para la tecnología de ARNi que contiene todos los genes del genoma de C. elegans, con aplicaciones de la misma*

Como el proyecto de secuenciación del genoma está llegando a su fin, puede usarse esta información en la aplicación de la tecnología de inhibición por ARN de T7. Todos los genes del genoma de *C. elegans* pueden clonarse usando la tecnología de PCR. Se clonarán, con preferencia, los exones con una longitud mínima de 500 pb. Si los exones son demasiado pequeños, los fragmentos más pequeños se aislarán con PCR, o incluso partes de intrones y exones vecinos se aislarán con la tecnología de PCR de manera que se clone al menos una parte suficiente de la región traducida del gen. Para esto, es necesario realizar al menos 17000 reacciones de PCR. Esta colección de productos de PCR se clonará en un vector T7 como se ha descrito (dos promotores T7 orientados uno hacia el otro con un sitio de clonación múltiple entre medias). Cada producto PCR se clona independientemente, o puede usarse para generar una genoteca aleatoria, análoga a la genoteca de ADNc descrita. Si cada producto PCR se clona individualmente, la bacteria resultante y el ADN plásmido pueden combinarse de diversas maneras. En primer lugar, esta colección de productos PCR clonados individualmente en el vector de ARNi T7 puede combinarse aleatoriamente, como se ha descrito en la genoteca aleatoria. Esta combinación también puede hacerse de una manera más racional. Por ejemplo, pueden analizarse los genes del genoma de *C. elegans* usando herramientas bioinformáticas (biología *in silico*). Diversos genes del genoma pertenecerán a una familia de genes, o tendrán homólogos en el genoma. Estos miembros de la familia de genes se combinarán, o se combinarán los miembros que sean homólogos. De esta manera el número total de aproximadamente 1700 clones se reduce a una cantidad más manejable. Esta genoteca puede usarse para explorar fenotipos en los métodos de acuerdo con la invención. El fenotipo resultante proporciona una descripción funcional para el gen o familia de genes u homólogos de genes del genoma de *C. elegans*. Como la genoteca consta de una parte de todos los genes en el genoma, este método permite la descripción del genoma completo en términos fenotípico-funcionales. Para esto es necesario introducir el ARN bicatenario (ARNbc) en el helminto. Esta introducción de clones solos o clones combinados, siendo una combinación aleatoria o combinación racional, puede conseguirse de varias formas como se describe.

30 *Ejemplo de un vector para la expresión de ARNi bicatenario*

Puede usarse cualquier vector que contenga un promotor T7, y que contenga un sitio de clonación múltiple (hay muchos disponibles en el mercado). Se diseñan cebadores que contienen el promotor T7 y un cebador con la cadena complementaria inversa, ambos con los extremos apropiados. Estos cebadores pueden hibridarse, y si están bien diseñados, clonarse en el vector de elección. La secuencia mínima para un promotor T7 es TAATACGACTCACTA TAGGGCGA. Aunque puede usarse cualquier vector para la construcción de un vector de expresión T7, a continuación hay un ejemplo de cómo conseguir esto con el vector pGEM-3zf(-).

40 - Se digirió el vector pGEM-3zf(+) (PROMEGA) con HindIII y Sall

- Se mezclaron juntos los cebadores oGN1 y oGN2 a una concentración final de 1 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ llevados a ebullición y enfriados lentamente a temperatura ambiente.

45 - El cebador se ligó en el vector usando procedimientos de ligamiento convencionales. El vector resultante es pGN1 (se muestra en la Figura 1) y contiene dos promotores T7 orientados uno hacia el otro, y contiene un sitio de clonación múltiple entre medias.

Las secuencias de oGN1 y oGN2 son:

50 - oGN1: AGC TGT AAT ACG ACT CAC TAT AGG GCG AGA AGC TT

- oGN2: TCG AAA GCT TCT CGC ATA ATA GTG AGT CGT ATT AC

55 *Ejemplo de la construcción de una genoteca*

Puede aislarse ARN de todo organismo que sea sensible a ARNi. En general, el ARN aislado se copia después en ADNc bicatenario y posteriormente se prepara en vectores adecuados para la clonación. Existen varios procedimientos y pueden adquirirse kits de biología molecular de diversas firmas incluyendo promega, clontech, boehringer Mannheim, BRL, etc. que permiten:

60 - aislamiento de ARN,

- finalmente, puede aislarse ARN poliA (disponibles varias técnicas y kits)

65 - sintetizar la primera cadena con transcriptasa inversa de AMV, cebadores hexaméricos aleatorios y/o cebador oligo (dT)

- sintetizar la segunda cadena con ARNasa H, ADN Polimerasa I,

ES 2 320 527 T3

- nivelar los extremos con ADN Polimerasa T4
- adición de un adaptador con ADN ligasa T4
- 5 - finalmente, tratamiento con polinucleótido quinasa T4
- clonación del ADNc en el vector.

10 Puede considerarse la mezcla de ligamiento resultante como la genoteca de ADNc. El ligamiento contiene todo el ADNc del procedimiento ligado en el vector de interés.

Para ordenar la genoteca, el ligamiento debe transformarse en cepas de *E. coli*.

15 *Aplicación de esta E. coli o genoteca de ADN*

Cepa de producción de ARN T7

20 - BL21 (DE3) es una cepa patrón: F-ompT[Ion]hsds(r-m-; y cepa B de *E. coli* λ (DE3). Finalmente pueden usarse variantes de BL21 (DE3), aunque se usa BL21 (DE3)pLysS.

25 - es necesario construir cualquier otra cepa de *E. coli* que produzca la ARN polimerasa T7, que puede estar disponible. Esto puede generarse fácilmente usando un fago que esté disponible en el mercado, en este caso, se usa el vector λ CE6 (proporcionado por Promega). Con este fago pueden transfectarse casi todas las cepas de *E. coli* y producirá ARN polimerasa T7.

30 - un mutante ARNasa III de *E. coli*:

35 En principio están disponibles diversas cepas, se elige usar en un primer experimento la cepa AB301-105: rna-19, suc-11, bio-3, gdhA2, his95, rnc-105, relA1, spoT1, metB1. (Kinder *et al.* 1973 Mol Gen. Genet 126: 53), pero pueden adaptarse mejor otras cepas. Esta cepa se infecta con λ CE6 y de esta manera se construirá una variante que produzca T7. Pueden crecer helmintos *C. elegans* de tipo silvestre sobre las combinaciones de bacterias. La bacteria está expresando la ARN polimerasa T7. Esto da como resultado grandes cantidades de ARNbc en el intestino del *C. elegans*, que se difundirán en el organismo y darán como resultado la inhibición de la expresión. Esta genoteca puede usarse ahora para la exploración de varios fenotipos. Esta técnica tiene la ventaja de que es mucho más rápida para detectar genes pertinentes en determinadas rutas que la tecnología de *C. elegans* conocida. Además, si se encuentra un fenotipo interesante, el gen responsable puede clonarse fácilmente. Usando la combinación jerárquica se puede encontrar fácilmente en una segunda exploración el clon pertinente de la combinación. El ADN insertado de este clon puede secuenciarse después.

40 Este experimento da como resultado DATOS genéticos y bioquímicos en una etapa.

45 Las cepas de *C. elegans* de tipo silvestre pueden combinarse con compuestos para explorar para determinar el fenotipo, resistencia a fármacos y/o sensibilidad a fármacos. La cepa de *C. elegans* puede ser una cepa mutante, explorando para un fenotipo aumentado, un fenotipo reducido o un nuevo fenotipo. La cepa de *C. elegans* puede ser una cepa mutante, y la exploración de genoteca puede combinarse con compuestos. Por tanto puede explorarse para resistencia a fármacos, sensibilidad a fármacos, un fenotipo aumentado, un fenotipo reducido o un nuevo fenotipo. La cepa de *E. coli* puede ser cualquier cepa que exprese ARN polimerasa T7, como BL21 (DE3), por ejemplo, pero la formación del ARN bicatenario puede potenciarse usando una cepa de *E. coli* especial que sea ARNasaIII negativa. La ARNasaIII reconoce bucles específicos en el ARNbc. Finalmente, puede usarse una cepa de *E. coli* que tenga delecionadas otras ARNasas distintas de ARNasaIII o puede usarse una *E. coli* que tenga delecionada una o más ARNasas. La expresión de la ARN polimerasa T7 en la mayoría de las cepas y construcciones de *E. coli* conocidas que están disponibles para generar cepas de *E. coli* que producen ARN polimerasa T7, comprenden generalmente un promotor inducible. De esta manera la producción de ARN polimerasa T7 está regulada, y por tanto la producción de ARNbc. Ventajosamente, puede usarse esta característica para “estimular” el suministro a los helmintos *C. elegans* en fases específicas del desarrollo. Los helmintos se desarrollan sobre las cepas de *E. coli* no inducidas. Cuando el helminto ha alcanzado la fase de interés, se induce la producción de ARN T7 en la bacteria. Esto permite el estudio de la función de cualquier gen en cualquier punto del ciclo biológico del animal.

60 *Exploración de la genoteca para homólogos de genes humanos supuestamente interesantes y asignación de función a estos genes*

65 Se han aislado cientos de genes en diversos proyectos, siendo proyectos genómicos, matrices de expresión diferencial, estudios de hibridación, etc. La genoteca de ADNc descrita puede proporcionar un modo para validar o asignar la función a estos genes de una manera más rápida y eficaz. En primer lugar es necesario identificar el homólogo u homólogos o los genes del helminto mediante herramientas informáticas (biología *in silico*). Se desarrollan cebadores de PCR y el fragmento de ADNc se aísla usando tecnología de PCR. Puede realizarse PCR sobre las combinaciones jerárquicas. Los pocillos de combinación o individuales positivos que contienen la bacteria que tiene el ADNc apropiado se suministra a *C. elegans* y se puntúa el fenotipo.

ES 2 320 527 T3

Puede realizarse PCR sobre ADNc aislado de *C. elegans*. El ADN resultante puede clonarse en el vector T7 y transformarse en la *E. coli* que produce ARNbc de la que se alimentan después los helmintos *C. elegans*. Dependiendo del modo más rápido y más fiable es necesario hacer una elección.

5 Si el gen pertenece a una familia de genes, puede ser necesario suministrar al helminto una mezcla de bacterias. Conteniendo cada una de ellas una parte del miembro de la familia de genes. Pueden realizarse cepas de *E. coli*, condiciones de cultivo, combinaciones con compuestos, como las descritas anteriormente.

10 Si se usa la genoteca racional, en la que todos los genes de *C. elegans* se clonan de manera organizada y estructurada, puede rastrearse fácilmente el homólogo de *C. elegans* y finalmente los otros homólogos, ortólogos y miembros de la familia de genes en la genoteca usando biología *in silico*. En esta etapa no está implicada una PCR y puede aislarse la bacteria y/o el ADN sobre el que crecerá el helminto.

Ejemplos

15 La idea de la serie de experimentos era ensayar tanto el vector de ARNi como las diversas cepas de *E. coli* que se construyeron.

1) Construcción de un plásmido de ensayo

20 Puede usarse cualquier ADNc que proporcione un fenotipo claro en el helminto cuando se anula o usado en un experimento de ARNi. Se sabe que unc-22 es un buen candidato, pero son posibles otros genes. Se optó por un sistema sensible que puede usarse en una fase posterior. El sistema se ensayó con sup-35 en un fondo pha-1. Mediante PCR se aisló el exón 5 del sup-35 y se clonó en el vector de promotor T7 pGN1. El vector resultante se denominó pGN2. 25 Los helmintos mutantes pha-1 (e2123) no pueden producir descendientes a temperaturas superiores de 25°C. Esto es debido a un problema del desarrollo en la embriogénesis. Cuando sup-35 está anulado, o inhibido en esta cepa, los descendientes pueden crecer a esta temperatura. La combinación de helmintos mutantes pha-1 y ARNi de sup-35 es un buen sistema para validar las diversas opciones.

30 2) Ensayo del ARNi usando una cepa de *E. coli* que produce ARNbc

- Se introdujo pGN2 en la cepa de *E. coli* BL21(DE3) y se indujo la ARN polimerasa T7 con IPTG. Los helmintos *C. elegans* (pha-1 (e2123)) se inocularon sobre esta bacteria, y se desarrollaron a la temperatura limitada de 25°C. Como este mutante es un mutante embrionario a esta temperatura, no se observará descendencia. Si el gen sup-35 se 35 inhibe de manera eficaz mediante el ARNbc presente en *E. coli*, se observará descendencia.

- Se introdujo pGN2 en la cepa de *E. coli* AB301-105 (DE3) y se indujo la ARN polimerasa T7 con IPTG. Los helmintos *C. elegans* (pha-1 (e2123)) se inocularon sobre esta bacteria, y se cultivaron a la temperatura limitada de 25°C. Como este mutante es un mutante embrionario a esta temperatura, no se observará descendencia. Si el gen sup- 40 35 se inhibe de manera eficaz mediante el ARNbc presente en *E. coli*, se observará descendencia.

3) Mejora de la cepa de helminto para una mejor captación de ARNbc

45 Antes de desarrollar en placas *C. elegans* pha-1 sobre la cepa *E. coli* que produce el ARN bicatenario de sup-35. Se modificó por mutagénesis con EMS (etilico del ácido metanosulfónico) el helminto. La descendencia de este helminto mutado se desarrolló después en placas sobre la bacteria. El helminto que se alimenta de esta bacteria produce mayor descendencia que tiene una mutación que da como resultado una mejora de la captación de ARNbc y puede usarse para experimentos adicionales.

50 Integración estable del vector que produce ARNbc en el genoma del helminto que produce ARN polimerasa T7

Puede construirse un vector de *E. coli* que contiene las siguientes características; dos promotores T7 dirigidos uno hacia el otro, con un sitio de restricción o un sitio de clonación múltiple entre medias. Además, el vector puede 55 contener el ADN genómico de sup35 de *C. elegans*, modificado por ingeniería genética de manera que contiene varios codones de terminación a diversos intervalos, para que no pueda expresarse ninguna proteína de longitud completa a partir del fragmento de ADN genómico de sup35 como se ilustra en la Figura 8. Cualquier ADNc o fragmento de ADNc puede clonarse en el sitio de clonación múltiple entre los dos promotores T7. Cuando este vector se introduce en una cepa de *C. elegans* que expresa ARN polimerasa T7, el ADNc o fragmento de ADNc clonado entre los dos promotores T7 se transcribirá, generando ARNbc a partir del fragmento clonado.

60 El vector está diseñado para usarse en helmintos mutantes pha-1 (e2123) que expresan ARN polimerasa T7. La expresión de la ARN polimerasa T7 puede ser constitutiva o regulada, general o específica de tejido. Estos helmintos pha-1 (e2123) no pueden producir descendencia a temperaturas superiores a 25°C, debido a un problema del desarrollo en la embriogénesis. Cuando se inhibe o se anula sup-35 en esta cepa, la descendencia puede crecer a esta temperatura.

65 Cuando el vector se introduce en el helminto, el vector puede integrarse mediante recombinación homóloga (integración de tipo Campbell). Se ha demostrado que la recombinación homóloga se produce en *C. elegans*, aunque a bajas frecuencias (Plasterk y Groenen, EMBO J. 11: 287-290, 1992). La recombinación homóloga en el gen sup-35

ES 2 320 527 T3

dará como resultado una anulación del gen ya que los dos genes sup-35 resultantes alojarán los codones de terminación. Si se produce esta recombinación en los huevos, el helminto resultante y su descendencia tendrán una copia del vector integrado en el genoma. Esto puede seleccionarse ya que únicamente los helmintos cuyo sup-35 se haya anulado tendrán descendencia a temperaturas superiores a 25°C. Además, el helminto resultante producirá de manera estable ARN bicatenario a partir del fragmento de ADN clonado entre los dos promotores T7. Este helminto puede considerarse ahora como una cepa estable de helminto transgénico con una reducción de la función del gen, del que se ha clonado un fragmento entre los dos promotores T7.

Se puede proporcionar ADN al helminto mediante varias técnicas incluyendo inyección, transformación biolística, impregnación en la solución de ADN, alimentación con bacterias. Pueden considerarse métodos nuevos y otros que aumenten las eficacias de transformación.

La cepa diana de *C. elegans* puede tener además otras mutaciones distintas de la mutación pha-1 (e2123) y puede expresar otros genes distintos de ARN polimerasa T7.

Ejemplo B

Vector de ARNi de doble híbrido en levadura

Puede construirse un vector de doble híbrido en levadura que aloje los dos promotores T7. Los vectores pueden diseñarse para replicarse tanto en levaduras como en *E. coli*. En general se preparan genotecas de ADNc para el sistema de doble híbrido en levadura en los vectores Gal4 o LexA. La genoteca se construye en vectores que tienen el dominio de activación de uno de estos genes. Puede construirse un vector que aún pueda funcionar en la exploración de doble híbrido en levadura pero que además contenga dos promotores T7 orientados uno hacia el otro con un sitio de clonación en el mismo entre medias. El orden de la secuencia en el plásmido será por tanto “estructura del plásmido, (GAL4-T7), MCS, T7, estructura”. Puede usarse una genoteca de ADNc de *C. elegans* construida en este vector como una genoteca de doble híbrido en levadura patrón en un experimento para aislar proteínas que interaccionen con una proteína dada. Una vez aislado un clon, puede introducirse el plásmido en una cepa de *E. coli* que exprese la ARN polimerasa T7 y, por lo tanto, producirá ARNbc a partir del fragmento clonado. La bacteria que produce esta ARNbc puede suministrarse al helminto y pueden puntuarse los fenotipos. Como en el ejemplo anterior, este procedimiento de validación para un clon de doble híbrido en levadura recién aislado es notablemente más corto que el procedimiento convencional, que requiere etapas de clonación y/o PCR, experimentos de ARN y/o experimentos de anulación. En la mayoría de los casos los clones aislados se secuencian primero, y en base a la secuencia, se toma una decisión para continuar con experimentos adicionales. En la presente invención cada clon aislado puede introducirse fácilmente en la *E. coli* apropiada y suministrarse al helminto. Después se realiza la validación mediante el análisis del fenotipo.

Para aplicar este procedimiento se realizó un doble híbrido en levadura usando un gen conocido como cebo y la genoteca recién construida como diana. Las proteínas codificadas por los clones en la diana que interaccionan con la proteína cebo, darán como resultado clones de levadura positivos que expresan la molécula indicadora de modo que puede observarse mediante tinción de LacZ con X-gal. El plásmido que codifica la proteína diana se aísla directamente a partir de la cepa de levadura y se introduce en *E. coli*. La *E. coli* es *E. coli* productora de ARN polimerasa T7. En este caso, se produce un ARN bicatenario a partir del ADN clonado en el sitio de clonación múltiple del vector. Cuando este ARNbc se suministra al helminto usando los métodos descritos anteriormente, el gen se ha inhibido en el helminto, dando como resultado un fenotipo particular.

- Este vector de doble híbrido en levadura puede usarse ventajosamente para construir una genoteca ordenada y combinada jerárquicamente como se ha descrito en el ejemplo anterior.

- También puede construirse una cepa de levadura que produce de forma condicionada ARN polimerasa T7. Después de los experimentos de doble híbrido en levadura, podría inducirse la expresión de la polimerasa T7, dando como resultado la producción de ARNbc en la célula de la levadura. Por consiguiente, la levadura podría suministrarse al helminto. Se dispone de pruebas que demuestran que los helmintos de *C. elegans* pueden alimentarse de levaduras.

Construcción de una cepa productora de ARN polimerasa T7 y aplicaciones de la misma

Puede construirse una cepa de *C. elegans* que exprese ARN polimerasa T7. La expresión puede ser general y constitutiva, pero también podría estar regulada bajo un promotor específico de tejido, un promotor inducible, o un promotor temporal o un promotor que incluya una de estas características o una combinación de características. Puede introducirse ADN en esta cepa de *C. elegans*. Esto se hace por inyección, por bombardeo con partículas, por electroporación o como se ha mencionado anteriormente por alimentación. Si el ADN es un plásmido como se ha descrito en los ejemplos anteriores, es decir un plásmido que aloja un fragmento de ADNc clonado o un fragmento de PCR entre dos promotores T7 flanqueantes, entonces el ARNbc de este ADNc o fragmento de PCR se forma en la célula u organismo completo dando como resultado la regulación negativa del gen correspondiente. El ADN introducido puede tener una regulación negativa transitoria eficaz. El ADN introducido puede formar una matriz extracromosómica, pudiendo dicha matriz dar como resultado una anulación o reducción más catalítica de fenotipo funcional. El plásmido también podría integrarse en el genoma del organismo, dando como resultado la misma anulación o reducción catalítica de fenotipo funcional, pero transmitiéndose de forma estable.

ES 2 320 527 T3

- Mediante técnicas convencionales puede introducirse en el helminto con ARN polimerasa T7 un ADN plasmídico que aloja un ADNc o una parte de un ADNc o una EST o un fragmento de PCR de *C. elegans* clonado entre dos promotores T7 como se ha descrito en los ejemplos A) y B). Pueden analizarse los fenotipos. ADN de una genoteca ordenada y combinada como en el ejemplo A) puede introducirse en el helminto con ARN polimerasa T7, mediante técnicas convencionales (inyección, bombardeo). Pueden analizarse los fenotipos. Con la combinación jerárquica, el clon original puede encontrarse fácilmente.

- Puede realizarse el mismo procedimiento con un helminto mutante que expresa la ARN polimerasa T7. Explorando para fenotipos aumentados, reducidos o nuevos.

- Puede usarse el procedimiento para permitir la exploración de compuestos. Explorar con cualquier cepa de tipo silvestre o una cepa mutante para fenotipos aumentados o nuevos.

- El ADN podría introducirse en el helminto mediante nuevos métodos. Siendo uno de ellos el suministro de ADN mediante *E. coli*. En este caso la genoteca combinada jerárquicamente se suministra al animal. Para impedir la digestión del ADN de *E. coli* en el intestino del nematodo, se usará preferentemente un *C. elegans* deficiente en ADNasa, tal como nuc-1 (e1392). Este procedimiento sería uno de los más interesantes ya que sería independiente de las eficacias de transformación de otras técnicas, y generalmente más rápido y menos laborioso.

2) Supuestas mejoras del método

- Se diseña un vector para que contenga el ADNc de sup-35 o una parte de este ADNc, clonado entre dos promotores T7. El resto del vector es como se ha descrito en los ejemplos A) y B). Este vector puede introducirse en un *C. elegans* mutante pha-1ts. En este caso existe un sistema de selección por temperatura y únicamente aquellos helmintos que hayan captado el ADN y expresen el ARN bicatenario de sup-35 sobrevivirán a temperaturas limitadas. La genoteca combinada jerárquicamente puede suministrarse mediante cualquier método descrito anteriormente.

- El vector puede usarse para construir una genoteca que se introduce en una *E. coli* que expresa ARN polimerasa T7. En este caso se tiene una exploración análoga a la de la parte A) con una exploración adicional para helmintos en los que sea activo el ARNc de sup-35.

- El ADN y/o ARNc de sup-35 podría suministrarse en un plásmido diferente. Para el suministro, tanto suministro de ADN (Ejemplo C) como suministro de ARNc, Ejemplos A) y B), esto significa que los dos plásmidos podrían estar presentes en una bacteria, o que al helminto se le suministra una mezcla de bacterias, conteniendo una de ellas la construcción de sup-35.

Ejemplo de la construcción de un *C. elegans* productor de ARN T7

Para producir ARN polimerasa T7 en el helminto, son posibles varias posibilidades. La polimerasa T7 puede expresarse bajo diversos promotores, siendo promotores inducibles, promotores constitutivos, promotores generales y promotores específicos (de célula) de tejido, o combinaciones de los mismos. Los ejemplos de estos promotores son el promotor de choque térmico hsp-16, el promotor intestinal ges 1, el promotor de cet858, pero también el promotor de dpy7 y el elemento promotor GATA1. En este ejemplo la ARN polimerasa T7 se expresa bajo el control del promotor hsp-16 que está disponible en el vector pPD49.78. La ARN polimerasa T7 se aísla como un producto de PCR usando los cebadores GN3 y GN4.

El producto de PCR resultante se digiere con NheI y NcoI, al igual que el vector en el que se quiere clonar, siendo el vector Fire pPD49.78. El vector resultante es pGN100 ilustrado en la Figura 2. Se incluyen oGN3: CAT GGC AGG ATG AAC ACG ATT AAC ATC GC y oGN4: ATG GCC CCA TGG TTA CGG GAA CGC GAA GTC CG de pGN100.

El vector se introduce en el helminto usando técnicas convencionales, tales como, por ejemplo, microinyección.

Después se construyeron las siguientes cepas:

- Tipo silvestre (pGN100)
- nuc-1 (e1392) (pGN100)
- pha-1 (e2123) (pGN100)
- pha-1; nuc-1 (pGN100)

Todas estas cepas son capaces de producir ARN polimerasa T7 cuando se inducen por temperatura o de manera alternativa mediante metales tal como aplicación de cadmio o mercurio pesado. El procedimiento para inducción por temperatura es cambiar al animal a una temperatura de 30-33°C durante al menos una hora, después el animal puede cambiarse de nuevo a temperaturas convencionales (15-25°C).

ES 2 320 527 T3

La cepa de tipo silvestre que produce ARN polimerasa T7 puede usarse para la producción de cualquier ARN en el helminto. Más específicamente, los plásmidos de las genotecas descritas pueden introducirse en estos helmintos y pueden puntuarse los fenotipos.

- 5 El helminto mutante nuc-1 se usará para introducir el ADN a través de la bacteria de la que se alimenta el helminto. Como el helminto nuc-1 no digiere el ADN, el ADN plasmídico puede atravesar la pared intestinal. Si se capta por las células que producen la ARN polimerasa T7, se producirá ARNbc, inhibiendo de esta manera el gen a partir del que se transcribió el ARN.
- 10 Puede usarse la cepa mutante pha-1 que producía ARN polimerasa T7 para mejorar los procedimientos que se han descrito anteriormente. Puede introducirse ADN mediante bombardeo, microinyección o alimentación. Más específicamente, puede usarse esta cepa para los vectores que producen ARNbc a partir de sup-35 y a partir del gen de interés, pudiendo ser este último un producto de PCR, un ADNc o una genoteca como se ha descrito.
- 15 Para el suministro bacteriano del ADN puede usarse el mutante pha-1; nuc-1 que produce ARN polimerasa T7. Preferentemente el ADN será el plásmido que produce ARNbc tanto a partir de sup-35 como del gen de interés. Preferentemente la cepa de helminto producirá la ARN polimerasa T7 en el intestino. Preferentemente, el suministro se producirá por alimentación del helminto sobre la bacteria que aloja el plásmido.

20 *Aplicación de la tecnología ARNi en plantas*

Los nematodos son responsables de una gran parte del daño infligido en plantas y, más particularmente, en plantas usadas en la industria agrícola. Pueden aplicarse a plantas los procedimientos de ARNi de acuerdo con la invención para impedir que estos nematodos parasitarios se sigan alimentando. En una primera etapa, se aísla del nematodo parasitario de plantas un fragmento de ADN que es fundamental para la supervivencia o desarrollo de los animales, o para alimentarse o proliferar. Cualquier gen cuya expresión sea esencial es adecuado para este propósito.

Se clona una parte de este gen, un exón o ADNc. Este fragmento de ADN puede clonarse bajo la influencia de un promotor específico de tejido, preferiblemente un promotor específico de raíz, incluso más preferiblemente entre dos promotores específicos de raíz. Usando tecnología transgénica de plantas, puede introducirse en la planta de interés el ADN del gen clonado bajo el control del promotor específico de raíz. Para cada nematodo parásito, puede ser necesario un trozo diferente de ADN y, así mismo, será necesario un promotor diferente para cada estirpe de planta.

La raíz producirá ARN o ARNbc a partir del trozo de ADN introducido cuando se utiliza un promotor específico de raíz. Como el nematodo se alimenta de la planta, el nematodo consumirá o ingerirá el ARN y/o ARNbc. El ARN y/o ARNbc pueden introducirse en las células del nematodo y realizar su acción inhibitoria sobre el ADN diana. Dependiendo de la naturaleza del trozo de ADN del helminto clonado, el nematodo no será capaz de sobrevivir, alimentarse, proliferar, etc. en ningún caso, impidiendo que el animal se siga alimentando de la planta, y protegiendo de esta manera la planta.

40 *Construcción de un C. elegans productor de ARN polimerasa T7*

Para producir una ARN polimerasa T7 u otras ARN polimerasas en animales, y más particularmente en nematodos y más particularmente en *C. elegans*, pueden considerarse varias posibilidades. La ARN polimerasa T7 puede expresarse bajo diversos promotores. Estos promotores pueden ser promotores inducibles, promotores constitutivos, promotores generales, promotores específicos de tejido, o combinaciones de estos.

Ejemplo 1

50 *Construcción de un vector básico para la expresión de polimerasa T7 en C. elegans*

A partir de λ CE6 (Novagen, Madison, Estados Unidos) se amplificó por PCR la secuencia codificante de la polimerasa T7 usando los cebadores oGN26 (ATGGAATCCTTACGCGAACGCGAAGTCCG) y oGN46 (CTCACCGGTAATGAACACGATTAACATCGC), usando procedimientos convencionales (PCR, A practical approach, 1993, Ed. J. McPherson, *et al*, IRL Press). El fragmento de ADN resultante que codifica la ARN polimerasa T7 se digirió con AgeI y EcoRI y se insertó en el vector Fire pPD97.82 digerido con AgeI y EcoRI. La construcción resultante codifica una fase de lectura abierta de la ARN polimerasa T7 en fusión con la señal de localización nuclear (NLS) del antígeno T grande de SV40 con la secuencia de aminoácidos MTAPKKKRKVPV. Esta secuencia señal de localización nuclear es necesaria para translocar la ARN polimerasa T7 del citoplasma al núcleo, donde es capaz de unirse a sus promotores específicos, denominados promotores de T7. Cadena arriba de la secuencia codificante de la proteína de fusión de polimerasa T7 hay un promotor mínimo (myo-2) precedido por un sitio de clonación múltiple (MCS) en el que pueden insertarse varios promotores de *C. elegans*. Este plásmido (*pGN105* que se muestra en la Figura 11) es un plásmido de ARN polimerasa T7 básico que permite la expresión de la polimerasa T7 en *C. elegans*. Los derivados de este plásmido en los que se clonan promotores en el sitio de clonación múltiple permiten la expresión inducible, constitutiva, general y específica de tejido de la ARN polimerasa T7 en *C. elegans*, ya que la expresión estará regulada por el promotor clonado en el sitio de clonación múltiple.

ES 2 320 527 T3

Aunque no se limita a estos ejemplos, se sabe que los siguientes promotores inducen la expresión en los siguientes tejidos.

5 let-858 (expresión ubicua), myo-2 (expresión en faringe), myo-3 (músculos de la pared corporal), egl-15 (músculos vulvares), unc-119 (pan-neuronal).

Ejemplo 2

Construcción de un vector para la expresión de ARN polimerasa T7 en el tejido muscular de C. elegans

10 La secuencia codificante de la ARN polimerasa T7 se amplificó por PCR a partir de λ CE6 usando los cebadores oGN43 (GCCACCGGTGCGAGCTCATGAACACGATTAACATCGC) y oGN44 (CACTCAGTGGGCCCTTACGC GAACGCGAAGTCCG) digeridos con AgeI/SpeI e insertados en el vector pGK13 digerido con AgeI/SpeI. (Este vector contiene el promotor fuerte SERCA que dirige la expresión en la faringe, el músculo vulvar, músculo de la cola y de la pared corporal). Se insertó una señal de localización nuclear (NLS) del antígeno T grande de SV40 en frente de la secuencia codificante de la polimerasa T7 por inserción de dos oligonucleótidos solapantes oGN45 (CCG GATGACTGCTCCAAAGAAGAAGCGTAAGCT) y oGN46 (CTCACCGGTAATGAACACGATTAACATCGC) en los sitios de restricción SacI/AgeI. La construcción resultante se denominó *pGN108*, como se muestra en la Figura 10. La introducción de este plásmido en *C. elegans* da como resultado la expresión de la ARN polimerasa T7 en la 20 faringe, músculo vulvar, músculos de la cola y de la pared corporal.

Para ensayar la expresión y la funcionalidad de la ARN polimerasa T7 en *C. elegans* bajo la regulación del promotor SERCA, se inyectó pGN108, que codifica la ARN polimerasa T7 bajo el control del promotor SERCA, en *C. elegans*. Se coinyectó un vector de ensayo. Este vector de ensayo codifica GFP bajo el control de un promotor T7 (*pGN401* en la Figura 13). Se construyó el plásmido pGN401 insertando dos oligonucleótidos solapantes oGN41 (CCCGG GATTAATACGACTCACTATA) y oGN42 (CCGGTATAGTGAGTCGTATTAATCCCGGGAGCT) en el vector Fire pPD97.82 abierto con SacI/AgeI, generando un promotor T7. Además se coinyectó un marcador de selección para seleccionar los transformantes (rol6, pRF4). El último vector de selección pRF4 es bien conocido para el especialista en la técnica. La F1 transgénica podía aislarse fácilmente ya que muestran el fenotipo rol 6. Estos *C. elegans* transgénicos expresaban todos GFP en la faringe, el músculo vulvar, el músculo de la cola y de la pared corporal. Estos datos muestran claramente que la ARN polimerasa T7 se expresa funcionalmente bajo la regulación del promotor SERCA, y que la ARN polimerasa T7 expresada se une al promotor T7 presente en pGN401 e inicia la transcripción del gen GFP, que después se expresa funcionalmente, dando como resultado fluorescencia en los tejidos musculares donde SERCA está induciendo la expresión de la ARN polimerasa T7.

Ejemplo 3

Construcción de un vector para la expresión ubicua de polimerasa T7 en C. elegans

40 El gen de fusión de NLS-ARN polimerasa T7 se aisló a partir de pGN108 con XmaI/Bsp1201 y se clonó en el vector Fire pPD103.05 digerido con XmaI/Bsp1201. Esto da como resultado un vector en el que la ARN polimerasa T7 se clona bajo la regulación del promotor let858. Este promotor específico permite la expresión de ARN polimerasa T7 en todos los tejidos. El plásmido resultante se denominó pGN110 (Figura 14).

Ejemplo 4

Construcción de un vector para la expresión mediada por ARN polimerasa T7 de fragmentos de ADN, genes y ADNc bajo el control de un promotor T7

50 Se digirió el vector Fire pPD97.82 con SacI/AgeI y se generó una secuencia de promotor T7 por inserción de dos oligonucleótidos solapantes oGN41 (CCCGGGATTAATACGACTCACTATA) y oGN42 (CCGGTATAGTGAGTCG TATTAATCCCGGGAGCT) en los sitios de endonucleasas de restricción SacI/AgeI. Esta construcción (*pGN400* Figura 12) contiene una fase de lectura abierta de GFP clonada entre los sitios de endonucleasas de restricción SacI y EcoRI bajo la regulación del promotor T7. En este vector puede clonarse cualquier gen, ADNc o fragmento de ADN por delección del gen de GFP como un fragmento AgeI/SacI y clonando el fragmento de ADN de interés dentro del vector. Preferentemente el fragmento de ADN de interés puede obtenerse por amplificación por PCR, insertando los sitios SacI/AgeI en los cebadores. El fragmento de ADN resultante después de la amplificación por PCR el digerido y el gen de GFP en pGN400 se reemplaza por el fragmento de ADN amplificado. Todos los vectores que contengan un promotor T7 pueden usarse para el propósito de la expresión inducida por ARN polimerasa T7 en *C. elegans*, tales como los vectores pGEM y los vectores pBluescript disponibles en el mercado. Esto se demuestra claramente por el vector pGN401 que expresa GFP bajo la regulación del promotor T7 en un *C. elegans* transgénico que expresa ARN polimerasa T7.

65 El uso de pGN400 tiene la ventaja de que el vector incluye un fragmento 3' UTR de unc-54 que potencia la transcripción o la estabilidad del ARN.

Generación de líneas permanentes de C. elegans con ARNi “pseudo knock-out” específico de tejido

En la actualidad, se obtienen *C. elegans* con genes anulados (*knock out*) después de mutagénesis aleatoria a gran escala y selección sib (selección de individuos morfológicamente iguales y genéticamente diferentes) basada en PCR. Este método es engorroso, consume mucho tiempo y es tedioso. Se ha descrito que introduciendo ARN bicatenario en una célula da como resultado una interferencia potente y específica de la expresión de genes endógenos. En *C. elegans* la expresión génica puede regularse negativamente inyectando ARN en la cavidad corporal del helminto, impregnando el helminto en una solución que contiene ARNbc o suministrándole *E. coli* que expresa el ARNbc correspondiente al gen de interés. Las células de *C. elegans* tienen la capacidad de captar ARNbc de su medio extracelular. Se ha descrito que el ARNm es la diana de esta interferencia genética mediada por ARNbc (Montgomery y Fire 1998). También se ha sugerido que el ARN diana se degrada en el núcleo antes de que pueda ocurrir la traducción. Aunque la reducción mediada por ARNi de la expresión génica puede pasarse a las siguientes generaciones, la heredabilidad es escasa y el efecto se pierde rápidamente en descendientes posteriores. Esto es probablemente debido a una disminución continua de la combinación de ARNbc. Se propone en este documento un método para construir líneas de *C. elegans* con un fenotipo ARNi permanente heredable. El método incluye la generación de líneas de *C. elegans* transgénicas introduciendo plásmidos que contienen fragmentos de ADNc del gen diana en orientación sentido y antisentido bajo el control de un promotor de helminto o mediante la transcripción de una repetición invertida del ADNc a partir de una sola construcción. Como alternativa, puede transcribirse ARNbc de un vector que aloja un ADNc flanqueado por dos promotores T7 en una cepa de *C. elegans* que expresa polimerasa T7. El resultado es un helminto transgénico con un fenotipo “pseudo-knock-out” estable heredable. La expresión del ADNc o de la polimerasa T7 puede ser general y constitutiva pero también podría regularse bajo un promotor específico de tejido. Al contrario que el ARNi inducido por ARNbc externo (inyectado, impregnado o suministrado) este método permitiría obtener la inhibición condicional específica de tejido de la expresión de genes.

25 *La inhibición de la expresión de unc-22 por interferencia con ARN da como resultado un fenotipo “inestable”*

Se clonó ADNc de unc 22 (exón 22) en orientación sentido y antisentido en pPD103.05 (A. Fire N° L2865) que contenía el promotor let 858 que es capaz de expresar secuencias de ARN en todos los tejidos. Los plásmidos resultantes se denominaron *pGN205* (Figura 19a) y *pGN207* (Figura 19b). Estas construcciones se introdujeron en *C. elegans* junto con un marcador de selección (rol-6; GFP). Los individuos transgénicos de la F1 (que expresan rol-6 o GFP) mostraron un fenotipo “inestable” indicando que el ARNi podría estar mediado por la transcripción endógena de ARN a partir de ADN transgénico. El fenotipo ARNi cosegregaba con el marcador de selección en descendientes posteriores. Esto dio como resultado la generación de líneas de *C. elegans* con fenotipo ARNi permanente.

35 *Generación de líneas estables con líneas de ARN polimerasa T7 y generación de helmintos dobles transgénicos*

Un sistema de expresión en *C. elegans* basado en una ARN polimerasa exógena demanda dos plásmidos. Uno está codificado por la ARN polimerasa bajo el control de un promotor específico, mientras que el otro plásmido codifica el fragmento de ADN a expresar, bajo la regulación del promotor T7. En el caso de ARNi semiestable, también denominados *knock out* pseudoestables, el ADN de interés se clona entre dos promotores T7 para que pueda producirse ARNbc.

Como se sabe que el sistema de expresión de ARN polimerasa T7 es un sistema de alta expresión esto dará como resultado problemas para generar animales doblemente transgénicos. Si el gen a expresar en el nematodo *C. elegans* es tóxico, esto dará como resultado efectos letales y, por lo tanto, la construcción de un *C. elegans* sin expresión estable altamente regulada del gen de interés. Si el gen de interés es esencial para la supervivencia del organismo, el ARNi con un fragmento de ADN de este gen también dará como resultado efectos letales, de manera que no son posibles *knock out* pseudoestables.

Para solucionar este problema los presentes inventores han diseñado un sistema que consiste en dos animales transgénicos. El primer animal es transgénico para la ARN polimerasa T7. Esta ARN polimerasa T7 puede expresarse en todas las células o en células o tejidos específicos como se ha demostrado en ejemplos anteriores. El segundo animal transgénico es transgénico para el fragmento de ADN de interés. Este puede ser un gen o ADNc unido a un promotor T7, o si se quiere realizar ARNi, un fragmento de ADN de dicho gen clonado entre dos promotores T7.

Ambos animales transgénicos son viables y no muestran fenotipo anormal. Esto es porque la ARN polimerasa T7 expresada en el primer organismo transgénico no es tóxica para el organismo, incluso si se expresa a niveles relativamente altos. En el segundo organismo transgénico, el gen de interés no se expresa o el ARNbc no se produce ya que estos animales transgénicos no contienen la ARN polimerasa T7.

La expresión del gen o ADNc de interés o ARNi con un fragmento de ADN puede obtenerse ahora por apareamiento de los dos animales transgénicos. La descendencia de estos es doblemente transgénica y expresan el gen de interés o expresan ARNbc o el fragmento de ADN de interés. Para generar suficientes machos en dicho apareamiento, uno de los animales transgénicos machos puede ser un mutante de *C. elegans* con un fenotipo que favorezca la generación de machos. Un Ejemplo de dicho mutante es him-5. Preferentemente, dicho mutante se usará para generar un *C. elegans* transgénico para ARN polimerasa T7, mientras que el hermafrodita contiene el fragmento de ADN bajo la regulación del promotor T7.

ES 2 320 527 T3

Para seleccionar de manera eficaz la descendencia doble transgénica puede introducirse un segundo transgén en el segundo animal transgénico. Este transgén contiene un gen indicador bajo la regulación del promotor T7. El gen indicador puede ser GFP, luciferasa, beta-galactosidasa o beta-lactamasa, siendo un ejemplo de dicho transgén los vectores pGN400 y pGN401.

Para obtener la expresión inducible específica de tejido de un transgén en *C. elegans* se puede generar una reserva de machos (es decir, him-5) que lleven la construcción de polimerasa T7 bajo el control de diferentes promotores de *C. elegans* que permiten la expresión específica de tejido como tal. Estos machos pueden cruzarse con hermafroditas que lleven el gen de interés bajo el control del promotor T7.

Además, los transgenes pueden integrarse en el genoma del animal. Se han descrito métodos para generar la integración estable de un plásmido en el genoma del animal (Methods in cell biology, Vol. 48, 1995, ed. por Epstein y Shakes, Academic Press) e implica la radiación del animal.

Esto puede hacerse para ambos animales, pero preferentemente, los animales que expresan la ARN polimerasa T7 se someten a dicho tratamiento. Esto da como resultado una colección de nematodos *C. elegans* que expresan de forma estable la ARN polimerasa T7 bajo el control de diversos promotores, siendo ejemplos de dichos promotores el myo-2 (expresión en faringe), myo-3 (músculos de la pared corporal), egl-15 (músculos vulvares), unc-119 (pan-neuronal), SERCA (músculos), let858 (todas las células), ges-1 (intestino).

Construcción de vectores de doble híbrido en levadura del promotor T7 de ARNi

pGAD424 con T7/T3 y/o Sp6 directo e indirecto

En la mayoría de los experimentos de doble híbrido se clona una genoteca de ADNc en el plásmido pGAD424 (Figura 16) que se ha modificado por ingeniería genética con sitios de restricción adicionales en el polienlazador tal como un sitio NcoI (Clontech). Esta genoteca permite la exploración de proteínas de unión en un experimento de doble híbrido en levadura. Se construyó un nuevo vector de doble híbrido en levadura con las mismas posibilidades para realizar doble híbrido en levadura, pero que contienen dos promotores T7 adicionales, de manera que el vector puede usarse para *knock out* pseudo estables inducidos por ARN polimerasa T7. Para esto se insertó un T7 directo usando un enlazador de T7 (que consiste en los siguientes cebadores aattcttaatacagactcactatagggcc y catgggcctatagtgagtgattaag) en el sitio EcoRI-NcoI de pGAD424. El vector resultante se denominó pGAD424-without-FULL-ICE-both-T7. Se tuvo cuidado de eliminar los codones de terminación y usar aminoácidos de máxima compatibilidad con el polienlazador. Se adoptó la misma estrategia para el T7 inverso (que consistía en ambos cebadores gatccgtcgacagatccctatagtgagtcgtattactgca y gtaatacagactcactataggagatctgtcgacg) con BamHI y PstI. Para evitar la pérdida de SalI, se incluyó este sitio en el cebador.

El sitio SalI es importante ya que la mayoría de las genotecas se clonan en este sitio, se dispone de adaptadores. Esto hace al vector recién construido compatible con vectores existentes.

pAS2 con T7/T3 y/o Sp6 directo e inverso

Se construyó un vector de doble híbrido en levadura análogo basado en pAS2 (Clontech). Mediante digestión parcial con EcoRV se fue capaz de eliminar una parte significativa del gen cyh2. La construcción correcta puede aislarse y revisarse mediante una digestión de restricción con BgIII. Este sitio de restricción está presente en el fragmento EcoRV de PAS2 a eliminar. Esto elimina el gen cyh2 que es un gen ligeramente tóxico y que está implicado en el retraso del crecimiento. Este gen no es esencial para la realización del ARNi y los experimentos de doble híbrido en levadura. Después de la eliminación del fragmento EcoRV, el sitio de restricción *EcoRI* que se localiza entre la secuencia de ADN que codifica GAL4BD y HA (epítipo) se vuelve única para el plásmido, y puede usarse para sustituir HA con un enlazador que contiene el promotor T7. Esto asegura la persistencia de todos los sitios de restricción, permitiendo tanto la clonación en fase de lectura como la compatibilidad con vectores previos y pGAD424. Se usaron los siguientes enlazadores (cebadores: aattcttaatacagactcactataggcca y tatggcctatagtgagtcgtattaag) usando sitios de clonación EcorI y NdeI. Se adoptó la misma estrategia para el T7 inverso (cebadores: gatccgtcgacagatccctatagtgagtcgtattactgacacatgggcctatagtgagtcgtattaag y gtaatacagactcactataggagatctgtcgacg) con BamHI y PstI. Para evitar la pérdida de SalI se incluyó en el cebador. El vector resultante se denominó pAS1-cyh2-HA+both T7-final.

Tener el promotor T7 (o de manera alternativa el promotor T3 o SP6) en pGAD424 permite ir rápidamente de la proteína que interacciona al ARNi y asignar una función al fragmento de ADN aislado. Una ventaja adicional es la capacidad de generar mediante transcripción *in vitro* acoplada a traducción *in vitro* (hay un ATG en fase de lectura con GAL4DB o GAL4AD) una proteína marcada que puede usarse para controles *in vitro* (por ejemplo ensayos de inmunoprecipitación) de la interacción proteína-proteína real.

ES 2 320 527 T3

Las secuencias de los plásmidos producidos y la polimerasa SP6 y T3 se identifican en la Lista de Secuencias proporcionada a continuación:

5

ARN polimerasa dependiente de ADN de SP6: SECUENCIA ID N°: 1 número de acceso swissprot P06221

10

secuencia de proteína:

1 mqdlhaiqlq leeemfnggi rrfeadqqrq iaagsesdta wnrrllseli apmaegiqay
61 keeyegkkgr apralafllq venevaayit mkvmdmlnt datlqaiams vaeriedqvr
15 121 fskleghaak yfekvkkslk asrtsyrha hnvavvaeks vaekdadfdr weawpketql
181 qigtllleil egsvfyngep vfmramrtvg gktyyylqts esvgqwiasaf kehvaqlspa
241 yapcvipprp wrtpfnggfh tekvasrirl vkgnrehvrk ltqkqmpkvy kainalqntq
301 wqinkdvlav ieevirldlg ygvpsfkpli dkenkpanpv pvefqhlrgr elkemlspeq
20 361 wqqfinwkge carlytaetk rgksaavvr mvgqarkysa fesiyfyvam dsrsrvyvqs
421 stlspqsnld gkallrftg rpvngvealk wfcinganlw gwdkktfdvr vsnvldeefq
481 dmcrdiaadp ltftqwakad apyeflawcf eyaqyldlvd egradevrth lpvhqdgscs
541 giqhysamlr devgakavnl kpsdapqdiy gavaqvikk nalymdadda ttftsgsvtl
601 sgtelramas awdsigitrs ltkkpvmllp ygstritcre svidyivdle ekeaqkavae
25 661 grtankvhp eddrqdyllp gaaynymtal iwpsisevkv apivamkmir qlarfaakrn
721 eglmytlptg fileqkimat emlrvtclm gdikmslqve tdivdeamm gaaapnfvhg
781 hdashliltv celvdkgvts iavihdsfgt hadntltlr alkqgvamy idgnalqkll
841 eehevrmvd tgievpeqge fdlneimdse yvfa

30

35

ARN polimerasa dependiente de ADN de T3: SECUENCIA ID N°: 2 número de acceso swissprot P07659

40

secuencia de proteína:

1 mniieniekn dfseielaa pfntladhyg salakeqlal ehesyelger rflkmlerqa
61 kageiadnaa akpllatllp kltrrivewl eeyaskkgrk psayaplql kpeasafitl
45 121 kvilasltst nmittiqaag mlgkaiedea rfgrirdlea khfkhhveeq lnkrhgqvyk
181 kafmqvvead migrgllge awsswdkett mhvgirliem liestglvel qrhnagnags
241 dhealqlaqe yvdvlakrag alagispmfq pcvvppkpww aitgggywan grrplalvrt
301 hskkglmrye dvympevyka vnlantawk inkkvlavvn eivnwncpv adipslerqe
50 361 lppkpdiddt neaalkewkk aaagiyrdk arvsrrisle fmleqankfa skkaiwfpyn
421 mdwrgryyav pmfnpqgndm tkgltlakg kpigeegfyw lkingancag vdkvpfperi
481 afiekhvddi lacakdpinn twwaeqdspf cflafcfeya gvthhglsyn csplafldgs
541 csqihfsam lrdevggrav nllpsetvqd iygivaqkvn eilkqdaing tpnemitvtd
60 601 kdtgeisekl klgtstlaqq wlaygvtrsv tkrsvmtlay gskefgfrqq vlddtiqpai
661 dsgkglmftq pnqaagymak liwdavsvtv vaaveamnwl ksaakllaae vkdkktkeil
72 721 hrhcavhwt pdgfpvwqey rkpqlqrlom iflgqftrlp tintlkdsi dahkqesgia
781 pnfvsqdqs hlrmtvvyah ekygiesfal ihdsfgtipa dagklfkavr etmvityenn
84 841 dvladfysqf adqlhetqld kmpplpkkgn lnldilksd fafa

60

65

pGN105:

SECUENCIA ID N°: 4

5 aa g c t t g c a t g c c t g c a g g c c t t g g t c g a c t c t a g a c a c t t t t c a g t a c c o l a g a t a c a t g g a t a c c c c g c c c c c a a t c c a c c c a c c a g g g a a a a
g a a g g g c t c g c c g a a a a a t c a a g t a t a c t c c a g g c t c g c g a t c c c a c c g g a g c g g t t g a c t t c t c c a c c a c t t t t c a i t t a a c c c t g g g g t a c g
g g a t t g c c a a a g g c c c a a a g g t a t g t t t c g a a t a f a c l a a c a t a a c a t a g a a c a t t t c a g g a g g a c c c t g c t t g g a g g t a c c g a g c t c a g a a
a a a t g a c t g c t c c a a g a a g a c g t a a g g t a c c g g t a a t g a a c a c g a t a a c a t c g t a a g a a c g a c t t c t g a c a t c g a a c t g c t g c t a c c c
g t t c a a c a c t c t g g t a c c a t t a c g g t g a g c g t t f a g t c t c g c g a a c a g t t g g c c c t t g a g c a t g a t c t t a c g a g t g g g i g a a g c a c g t t c g c a a
g a t g t t t g a g c t c a a t t a a a g c t g g t g a g g t t g g a t a a c g t c c c c a a g c c t c a t a c t a c c t a c c t a a g a t g a t t g c a c g c a t c a a
10 c g a c t g g t t t g a g a a g t g a a a g c t a a g c g g c a a g c g c c c g a c a g c c t t c a g t t c c t g c a a g a a a t c a a g c c g g a a g c c t g a g c t a c a t c a
c c a t t a a g a c c a c t c t g c t t g c c t a a c c a g t g c t g a a l a c a a a c c g t t c a g g c t g t a g a a g c g a a t c g g t c g g c c a t t g a g a c g a g g c t c g
c t t c g t c g t a t c c g t a c c t t g a a g t a a g a c t t c a a g a a a a c g t t g a g g a a a c t c a a a g c g c g t a g g g c a c g t c t a c a a g a a g c a i t t a
t g c a a g t t g c g a g c t g a c a t g c i c t a a g g g t c a c t c g g t g g c g a g g c g t g t c t t c g t g c a t a a g g a a g a c t c a t t c a t g t a g g a t a c g t
15 g a a t a c g t g a t g c t a t c g c a a c c c g t g a g g t g c g t g c t g c a t c t c c g a t g t t c c a a c c t t g c g t a g t t c c t a a g c c t g g a c t g g c a t t
a c t g g t g g g c t a t t g g g t a a c g g t c t g c t c t c t g g c g t g g t g c t a c a g t a a g a a g c a t g a t c g c t a c g a a g a c g t t t a c a t g c c t
g a g g t g t a c a a g c g a t t a a c a t t g c g a a a c a c c g c a t g g a a a t c a a c a a g a a a g t c c t a g c g t c c c a a c g t a a t c a c c a a g t g g a a g c a t
t g t c c g g t c g a g g a c a t c c c t g c g a t g a g c g t g a a g a a c t c c g a t a a a c c g g a a g a c a t g a c a t g a a t c c t g a g g c t c a c c g c g t g g a a a
20 c g t g t c c c g t g t g t a c c g a a g a c a g g g c t c g c a a g t c t c c c g t a t a g c c t t g a g t c a t g c t t g a g c a a g c c a a a a g t t g t a a c c a t
a a g g c c a t c t g t c c t t a c a a t g g a c t g g c g c g g t c g t g t a c c g c g t g t a a t g t t c a a c c c g a a g g t a a c g a t a t a c c a a a g g a c t g c t t
a c g c t g c g a a a g g t a a a c a a t c g g t a a g g a a g g t a c t a c t g g c t g a a a a t c c a c g t g c a a a c t g t g c g g g t g t c g a t a a g t t c c g t c t g
a g c g c a t c a a g t t a t t g a g g a a a c a c g a g a a c a t a t g c t t g c t a a g t c c a c t g g a g a a c a c t t g g t g g c t g a a g t a a g t t c c g t c c t g
25 g c n e c t t g c n t g t c t t g a g t a c g t c g g g t a c a g c a c a c g c g c t g a g c t a a a c t g c t c c c t c c g t g g c g t t t g a a g a t t g a t t c c g t t c
c a g c a c t t c c g g a t g t c c g a g a t g g g t a g g t g t g c g c g g t a a c t t g c t c c t a g t g a g a c g t t a c g a c a t c a c g g a t g t t g t a a g
a a a g t a a c g a g a t t c a a a g c a g a c g a a l c a a t g g a c c g a t a a c g a a g t a g t a c c g t g a c c a t g a g a a c a c t g t g a a t c t g a g a a a
g t c a a g c t g g c a c t a a g g c a c t g g c t g c a a t g g t g c t c a c g g t t a c t c g a g t g t a c t a a g c g t t c a g t c a l g a c g c t g g c t t a c g g g t c
c a a a g a g t t c g g t c c t c a a c a a g t c t g g a a g a t a c a t t a g c c a g c c a t t a t t c c g c a a g g t c g a t t t c a c t a c g c c g a a t a c a g g c t g
c t g g a t a c a t g g c t a a g c t g a t t g g a a l c t g t g a c g t g a c g g t g a g t g c g g t g a a g c a a t g a a c t g g c t t a a g t c t g t g t a a g t c t g t g g
30 c t g c t g a g g t c a a a g a t a a g a a g a c t g a g a t t c t c g a a g c g t t c g c t g t g c a t t g g t a a c t c g a t g t t c c t g t g t g g c a g g a a t a c
a a a g c c t a t c a g a c g c g c t g a a c c t g a t g t t c c t g g t c a g t t c c g t t a c a g c c t a c a t t a a c c a a a a a g a t a g c g a g a t t g a t g a c a c a
a a c a g a g a c t g g t a t c g t c t a a c t t t g a c a c g c c a a g a c g t g a g c c a c t t c g t a a g a c t g a a g a c t a t a g a a a a c c g c a c a a a a t a c t t a c c a
a t c t t t g c a c t g a t c a g a c t c c t c g g t a c c a t t c g g c t g a c g t c g a a c c t g t t c a a a g c a g t g c g c g a a a c t a g t t g a c a c a t a t g a g t t
35 g t a t g a t c g g t g a t t t a c g a c c a g t t c g t g a c c a g t g c a c g a g t c a a t t g a c a a a a t g c c a g c a c t t c c g g t a a a g g t a a c t t g a a c c t
c c g t g a c a t c t a g a t g g a c t c g c t g c g t a a g a a t c a a c t g a g c g c c g g t c g t a c c a t t a c c a a c t t g t c t g g t g c a a a a t a a t a g g g
g c c g t g t c a t c a g a g t a a g t t a a a c t g a g t t c a a c t a a c a g a t a a t t a a a t t t c a g a c t c g c c c g t g c c t g a c t t a a g t c a a t t
a c t t t a c a a t c c c a t a g t c t t c c c t g t g t c c c a c c c c t a t t t t g t a t a t c a a a a a a c t t c t t a a t t t t t g t t t t a g e t t c t t t a a g t c a
c t c t a a a a t g a a a t t g t a g a t t c a a a a t a g a t a t t c g t a a a a a g t c g a a a a a a t t g t c t c c c c c a t t a a a t a a t t c t a c c a
40 a a a t c t a c a c a a t g t g t a c a c t e t a t g t t t t t t a a a t t t t g a a a c a t a t a g a a a a a c c g c a c a a a a t a c t t a c a t a t g t t
a c g t t c a g t t a t a c c a a t t t a m t c g c a c g t c t g g c c t c a t a g a t c a a a t a t g c i a t c g t g a a a a g t t t g g a g t a i t t t g a a i t t t
c a a t c a a g t a a a g t t a t a a t t a t t t c t g c t t t t g g g g t t c c c t a t t g t t c a a g a g t t c g a g a c g g c g t t t t c t g t a a a l c a
c a a g t a t t g a t g a c a g a t c a a g a a g a t c y a a g a a g t t t g g g t t g a g g c t a g t g g a a g t g a g t a a g t t g a a a t t g a a g t g a g t a
45 g t g t c t a t g g g t t t g c c t a a a t a c a g a a t a c a t t c c a a t a t a c c a a c a t a a c t g t t c t a c t a g t c g g c g t a c g g g c c c t t c g t c g c g
t t c g g t g a t a c g g t g a a a c c t g a c a t g c a g t c c c g g a g a c g g t c a c a g t t g t g t a a g c g g a t c c g g g a g c a g a a g c c c g t c a
g g g c g c t a g c g g g t g t g g g g t g c g g g c t g g c t t a a c t a t g c g g c a i c a g a g c a g a t t g a c t g a g a g t g c a c c a t a t c g g t g t g a a a t a
c c g c a c a g a t g t a a g g a a a a l a c c g c a t c a g g c g g c t t a a g g g c c t g t a t a c c c a t t t t a t a g g t t a a t g t a g a a t a a l g t t t c t
a g a c g t c a g g t g g c a t t t t c g g g a a a t g t c g c g g a a c c c a t t t g t t a t t t t a a a t a c a t c a a a t a t g t a f c c g c a t g a g a c a a a c c c t
50 g a t a a t g c t c a a a t a t t g a a a a g a a g a g t a g a t t c a a c a m t c o g t g c c c t a a t t c c t t t t t g c g c a t t t g c c t c g t t t t g e t c a
c c c a g a a c g t g t g t g a a g t a a a g a t g c t g a a g a t c a g t t g g t c a c g a g t g g t t a c a t c g a a c t g a t c a a c a g c g g t a a g a t c t g a g
a g t t t c g c c c g a a g a c g t t t c a a t g a t g a g c a c t t t a a a g t c t g t a t g t g g c g g t a t a t c c g t a t t g a c c c g g c a a g a g c a a c t c g
g t c g c g a t a c a c a t t t c a g a a t a c t t g g t t g a t a c c a c a g t c a g a a a a g a c t t a c g a t g g a t g a c a g t a a g a a t t a t g c a g t g
c t g c c a t a a c c a t g a t a a c a c t g c g g c a a c t a c t t e t g a c a a c a t c g a g a c c g g a a g g a g c t a a c c g t t t t t g c a a a c a t g g g g a t
55 c a t g t a a c t c c c t g a t c g t t g g a a c c g g a g c t g a t a a g c a t a c c a a a c g a c g a g c g t e a c c a c a t g a t c c t g a g c a a t g g c a a c a c g
t t g c c a a c t a t a a c t g c g a a c t a c t a c t a g c t t c c c g g c a a c a t t a a t a g a c i g a t g g a g g c g g a t a a a g t t g c a g a c c a c t t c g c g t
c g g c c t t c c g g c t g g t t a t t g c t g a a a a c t g g a c c g g t g a g c g t g g t c t c g c g t a t c a t t g c a g c a c t g g g c c a g a t g g t a a g c c c
t c c g t a t c g t a t t a t c a c a c g c g g a g i c a g g c a a c t a t g a t g a a c g a a a t a g a c a g a t c g t g a g a t a g g t c c t a c t g a t a a g c a t t g
g t a a c t g i c a g a c c a a g t t a c t a t a t a c t t t a g a t g a t t a a a c t t a t t t a a t t a a a g g a l c t g g t a a g a l c c t t t t g a t a l c t a t g a c c a
60 a a a t c c t t a a c g t g a g t t t c t c a t g a c g t c a g c c c c g t a g a a a g a t c a a a g g a t c t t c t t g a g a l c c t t t t t c t g c g t a a t c t g t c t t
g c a a a c a a a a a a c c a c c g t a c c a g c g g t g g t t t t g c c g g a t c a a a g a g t a c c a a c t t t t c c g a a g g t a a c t g c t c a g c a g a g c g a g a
t a c c a a a t a c t g t c t t c t a g t g t a c c g t a t t a g g c c a c a c t t a a a g a c t t g a g a c c c c a t a c c t c g c t e t g t a l c c t g t t a c a g t g
g t c t g c c a g t g g c g a t a a g t g t t c t a c c g g t t g g a c t a a a g a g a t a g t a t c c g g a t a a g g c g a g c g t g g c t g a c g g g g g t c g

5
10

tgacacagcccagcttgagcgaacgacctacccgaactgagatacctacagcgtgagcaltgagaagcggccagctcccgaaggagaa
aggcggacaggtatccggtaagcggcagggcggaaacaggagagcgcacgagggagctccagggggaaacgcttgatcttatagtctgtc
gggtttccaccctctgactigagcgtcgtatititgtagctcgtcagggggcggagcctatgaaaaacgccagcaacggccttttaccggtc
ctggcctttgtctggcctttgtcacaatgcttctcgtctatccctgafctgtggaacccgtattaccgctttgagtgagctgataccgctgcog
cagccgaacgaccgagcgcagc
ttaatgcagcgtggcacgacaggcttccgactgaaagcggcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
taccattatgcttccggctcgtatgtgtgtggaattgtagcgggatacaaatctacacaggaacagctatgaccatgattaccgcaagcgtgaa
aaacatgacttactaacactatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaatctcaat
at

pGN400:

SECUENCIA ID N°: 5

15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

aagctgcatgctgagcggcctggctgactctagacacttticagctacclagatacatggatccccgctcccaatccaccaccaggggaaaa
gaaggcctgcccgaaaaaicaagttatctccaggctcgcaccccaccgagcgggtgacttctccaccacttttcatitaaacctcgggttacg
ggattggccaaaggaccacaagggtatgttcgaatgatacacaatacagcaacatttcaggagacccttcttgagggtaccgagctccgg
gattaatcagcactataccgtagaaaaatgagtaaggagaagaactttcactgaggttcccaattctgtgaatagatggtgagtgtaaatg
ggcacaatattctgctcagtgaggagggtgaagggtgatcaacacagcgaacttacccttaaaattattgactactggaaaactacctgttccatgg
gtaagttaaacatataatacactaacctgataitaaatttcagccaacctgtcactacttctgtatggttcaatgcttctcagataccag
atcatagaaacggcagcactttcaagagtgccatgcccgaagggtatgtagcaggaagaactatitttcaaatgagcgggaactcaagacac
gtaagttaaacagctcggtaactaaccatacatttaaaatttcaggtgctgaagcaggttgaaaggtagalaccttgtaatagaatcaggttaa
aggattgatttaagaaagatggaacattctggacacaaattggaatacaactatactcacacaatgtatatacagcagacaacaaaaagaa
ggaaacaaagtgtgaagttaaacatgatttactaacactaactcgtatgattaaatttcagaaactcaaaatgagacaacaactgtgagcagctca
actagcagaccattcaacaaaaactccaattggcggcctgtcttaccagacaaccactcctgtccacacactgccccttccgaaagatc
ccaacgaaaagagagaccacatggccttctgagttgtaacagctgctgggattacacatggcatggatgaactatacaaatgactctgaaatc
caactgagcggcgtctaccattaccacacttctggtgtcaaaaaataagggccgctgtcactagagtaagttaaactgagttactactaa
cgagtaalatitaaatttcagcactcgcggcctgctgacttcaagtcacactctcaacalccctacatgctcttctccctgctccacc
cttattttgtatatacaaaaaactctcttatttcttttttagctctttaaagtcaccctcaacaatgaaattgtgtagattcaaaaatgaaatattctg
taataaaaagcgaaaaaattgtctccctccccattataataatctacccaaaatctacacatgtctgtgtagactcttatttttactctg
ataaattttttgaacatcatagaaaaacggcacacaaaactctatcatatgtagctttcagttatgaccgcaatttttctctcgcagctcgggc
ctctcatgacgcaaatcatgctcactgtaaaaaatttggagatttttggaaattttcaacaaagtgaagttatgaaatatttccctgttcttctt
ggggttcccttattgttctcaagagttcagagcggcgttttctctcaaaaacaaagtattgagcagcagatgcaagaaagatcggaaaggg
ttgggttggagcctagtggaaggtagaagttgalaattgaaagtggagtagtctatgggttttggcttaaatgacagaataacttcccaal
ataccaaacataacttctclactagctggcctgacggcctttctgctcggcgtttctggtagacgggtgaaaacctgacacatgagctccc
gagacggtcacagcttctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgcagcgggctcagcgggttggcgggtgtcgggctgctgta
actatggcgcacagagcagattgactgagagtgaccatgatgctgggtgaaatccgcacagatgctgaaggagaaaaataccgcatcagcgggc
cttaaggccctctgtagccttattataggttaatgcatgataaatgtttcttagacgctcaggtggcactttctgggaaatgtcgcgggaacc
cctatttttttttcaatacactcaaaatgtagcctcactgagacaataaccctgataaatgctcaataatgaaaaagggaagatgtagtatt
caacattctgctcgccttattctctttttggcgaatttctctctctttttctcaccgaacgctggtagaaatgaaatgtagtagatcagctg
gggtgcagagtggttactatcgaactgtagcacaacgggtaagatccttgagagtttctgcccgaagaaacttcaatgtagcagcttttaa
gttctgctatgtggcgggtattatccglatgacggcgaagcacaactcggctcggcactacacttctcagaatgacttgggtgtagtactac
cagtcacagaaaaagcactctacgtagcagtagaagaaatgtagcagctgccaataaccatgagtagaactgcccgaacttacttctga
caacgatcggagcagcgaaggaagcgaacccgtttttgcacaacatggggatcatgtaactcgccttgcgttgggaaccggagctgaatgaagc
catalcaaacgagcagcgtgacacacagatgctgtagcaatggcaacaacggtgcgaactatgactgcccgaacttactctagcttccggc
aacaattaatagactgtaggagcggataaagtgtaggaccacttctgctcggcctccggctggctggttattgtgataaatcggagccg
gtgagcgtgggtctcggglatcattgcagcactggggccagatgtagccctccgtagttagtctacagcaggggagtcaggaactat
ggatgaacgaaatagacagatcgtgagatgggtccctcactgattaagcattgtaactgtcagaccaagttactatatactttagattgaa
acttatttttaattaaaggatcaggtgaagatccttttgataatctatgacaaaatcccfaacgtgagtttcttccactgagcgtcagacccg
tagaaaagatcaaaagatctttagatcctttttctgctgtaaltctgctgctcaaaaacacccgctaccagcgggtgttggcttggccg
atcaagactaccaactcttttccgaaggtaactgctcagcagcgcagatacaaaatctgtcttctgtagccgtagtaggccaactt
caagaactctgtagcaccgctacatctctgctctaaactctgtaccagtggtctgctccagtgggagataagctgtcttaccgggtggaactca
agacgatagttaccgataaggcgcagcggctgggctgaacgggggttctgtcacacagcccagcttgagcgaacgacctacccgaactga
gatacctacagcgtgagcattgagaagcggcagccttccgaaggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcaggttggaaacaggag
agcgcagcagggagcttccagggggaaacgctggatcttatagtctctgggttctgcccacttctgactgagcgtcagttttgtgactcgtc
agggggcggagcctatggaaaaacggcaacggcggccttttaccgcttctgctggccttttctgctcactgctcacttctgctgcttcc
ctgattctgtgataaccgtattaccgctttgagtagctgataccgctcggcagcgaacgaccgagcgcagcagcagcagcagcagcagcagc
cggaagagcggcccaatcgaacggcctctccccggcgtggtgagcattcaatgcaagcgtggcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
agtgagcgaacgaatgtaggtgactcactatagcaccggcctttacactttagcttccggctgtagtgggtggaattgtagcgg
ataacaattcacaaggaacgctatgacctagcaccagcgtgtagttaaacatgacttactaacacttctcaatctcaatctcaatctcaat
aaaaatggctgaatcactcaacgatgtagcctaaacttggaaatgaaat

pGN401:

SECUENCIA ID N°: 6

gatccccggcgcgcatgctcgggagatggcgcgcctgggaagcgcgagagatatcagggaagatgctgctgattctcctcggatgccacc
 5 catctctcgagtttccgcctgtaactccctgccgaacctgatactccgttgcgtaaaagagalgttttatcttaccacgggctctctctctg
 agcacagctcagtggtgctgctcgggctcctgccaccggcgcctcctctctctctctctctctctcctcctcctcctcctcctcctcctc
 atctcttttcatcatcaactagcattcttactttatattttttcaatttcaattttcagataaaaccaaactacttgggtaacagccgtaacagatccccg
 ggaltggcaaaaggaccacaaggatgnttcgaatgatacacaatacagataacattttcaggaggacccttgcctggagggtaccggtagaaaa
 atgagtaaaggagaagaacttttctcagtggtgcccacttctgttgaatagatgggtatgtaattgggcaaaattttctgctcagtgaggagggtga
 10 aggtgatgcaacatacggaaaacttcccttaaaatatttgcaactacigggaaaactaccgttccatgggtaagtttaacataatataactaactaacct
 gatttttaaatttcagccaactgtctactactttctgtatgggttcaatgcttctcagataccagatcatatgaaacggcctgacttttcaagagt
 gccatgcccgaaggatgatacaggaaactataattttcaaatgacgggaactacaagacacgttaagtttaaacagtccggtactaactaacal
 acatattaaattttcaggtgctgaagcaagtgaaggtgatacctgttataatgaatcaggttaaagggtattgatttaaaagagatggaacaatctt
 agcacaaaattggatacaactacacaatgatacatcagcagcaaacaaaagaatgaaatcaagttgatagtttaaacttggacttac
 15 taactaacggattatatttaaatttcagaaacttcaaaatagacaacaacttgaagatgggaagcgttcaactagcagaccattatcaacaaaactcaca
 ttggcagtgccctgtcttttaccagacaaccattactgtccacacaactctgccccttgaaagatcccaacgaaaagagaccacatggctctct
 tgagttgtaacagctgctggattacatggcatggatgaaactatacaaatagcattcgtagaattccaactgagcggcgtctgctaccattacaac
 ttgctgtgtcaaaaaataaggccgctgtctcagagtaagtttaactgagtttactaactaacgagtaatttaaaattttcagcatctcgcgccc
 20 gtgctctgacttcaagtcacttctcaacatccctacatgctctttctccctgtctcccccctattttgattatcaaaaaacttctcttaatt
 tctttgtttttagctcttttaagtcaccctcaaatgaaatgtgtatgataaaaaagaatattcgtataaaaaagtcgaaaaaaatggctcctcc
 ccccaataaataattctatccaaaatctacacaatgtctgtatcactttatgttttttactctgataaattttttgaaacalcatagaaaaaacg
 cacacaaaatacttataatgtaacggttcaatgaccccaattttttctcgcagcttgggctctcagctcaaatcatgtctatctgtaaa
 25 aagttttgagatttttgaattttcaatcaagtgaaaagttaagaaatatttctctcttttcttttgggggttccctatgtttgcaagagttcag
 gacggcgtttttctgtaaaatcaaatgattgatgacgacgatcaagaagatcggaaagaaggtttgggttggagctcagtggaagggtgagt
 aagttgataattgaaagtgagtagtctatgggggttttcttaaatgacagaatacattcccaatataccaaacataactgtttcctactagtcggcc
 gtacgggcccgtaccagctttgtccctttgtgagggttaattgctgcgcttggcgtatcatggctatagctgtttcctgtgtaaaatgttatccgcl
 caaatccacacaacatacagcggaaagcataaaggtgaaagcctgggggtgcctaatgagtgagcctaactacataaattcggtgctcactgc
 30 ccgctttccagtcgggaacctgtctgctccagctcattaaatgaatcggccaacgcgcgggagaggcggtttgcgtatgggcgctctccgcttcc
 tgcctcactgactcgtc
 acgcaaggaaagacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgttaaaaaggccggtgctggtcgttttccataggtcccccct
 gacgagcacaacaaacagcicaagtcagaggtggcgaaaccgacaggactataagataccaggcgtttcccttggaaagcttccctcgtg
 35 cgtctcctgttccgacctgccttaccggatacctgtccgcttctcccttccggaaagcgtggcgtttctcctatagctcactcctgtaggtatctcag
 ttcggtgtagctgctcctcaagctggctgtgtgacgaaaccccttctcagcaccgacgtcgtcgtcgttaccggtaactatcgtcttgagctca
 cccggtaagcacaagcttaccgctgagcagccactgttaacagattgtagcagagcaggtatgtagggcgtgtcactcagagttctgaaagt
 gtggcctaactcggctacatagaaaggacagattttgtatctcgtcgtcgtgaaagcagttacccttggaaaaagagttgtagctctgtatccgg
 caaacaaccacgcgtgtagcgggtgtttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaagatctcaagaagalcittgtatctttctacg
 40 ggtctgacgtcagtggaacgaaactcaggttaaggatgtttgtcagatgattcaaaaaggatcttaccctagatcttttaaaftaaaaatgaag
 ttttaaatcaatcaagtaataatagtaaacftgtctgacagttaccaatgctaaatcagtgaggcaccatctcagcagatctctatttctcctccat
 agttgctgactccccgtctgtatgatactacgatacgggagggcttaccatctggccccagctgctcaatgataccgcgagaccacgctcaccg
 gctccagattatcagcaataaacacagccagccggaaggccgagcagaaagtgtcctcagactttatccgctcctaccagctctatattgttgc
 45 cgggaagctagtagtaagtagtccagtaaatgtttgcaaacgtgttccattgtctacagcaltctgtgtgctcagctcgtctgtttgtatggctt
 attcagctcgggttcccaacgatcaaggcagttacatgatccccatgtttgtgcaaaaaagcggtagctccttccgctcctccagctgtgtcagaagt
 aagttggccgagtttactcctatggttatgagcagctgcataattcttactgtcactcgttaagatctttctgtactgtgagttactca
 ccaagtcaattctgagaalagtgtatgctggcagaccggttctcttcccggcgtcaatacgggataataccgcccacatagcagaactttaaaagt
 50 ctcatattgaaaaagcttcttggggcgaacactcgaagatctaccgctgttgatccagttctgatgccaccactctgacccaactga tctt
 agcatcttttaccaccagcgttttgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatccgcaaaaaagggaataaggggcagaccgaaatgttgata
 ctacactcttcttttcaatatttgaagctttatcagggttatgtctcagtgaggatacatatttgaatgtattgaaaaaaacaaatagggttct
 cggcacaattccccgaaaagtccaccataaattgtaagcgttaattttgttaaaatcgcgttaaaattttgttaaatcagctca tttttaaccaataggc
 55 cgaatcggcaaaatccctataaaacaaagaatagaccgagatagggtgagttgttccagtttgaacaagagtcactattaaagaacgtgga
 ctccaagtcaaaaggcgaacccgtctatcaggggcagtgcccactcgtgaacccatccctaatcaagtttttggggctgaggtgctgctgtaaa
 gcaactaaatggaaaccccaaaaggagccccgatttagcgttacggggaagccggcgaacgtggcgaagaagggaagggaaggaaagcga
 aggagcggggcgttagggcgtgcaaggtgtagcggcagcgtcgtcgttaaccaccaccccggcgttaagtcggcctacaggggcgtc
 60 ccttccattcaggtcgcgaactgttggaaaggcagctgctgctggcctcttccctatcagccagctggcgaaggggaggtgctgcaag
 gcgattaagtgggtaaccaggggtttccagtcacgacgttgaaacgacgcccagtgagcggcgttaatacgaactcactatagggcgaattg
 gactccaccgggtggcggcctctagactagt

ccttccgggttctgacgicagtgicccgaatgctatgtagtataacttaggacctaaagattcaattatgaagtattaaattgctctgaaaccttcaaga
 tgaiccttggattagaacalabaagacaggttacciatctatfaaaaaacagatacaaaatagabccgaccaaatcgataatccatgctacctggca
 ciaggaaacgigtcttagaaattctacgtaaacgtagaagaatacaattgtagctggccagcaaaaatagggttttaaggtagtattttat
 5 tagtcaaccggaattatagtttttttcaagaanaaccctgaaaaccccctaaigtatacaattttggagcagcttcctgctttttgagcaataaant
 tcaataaaacagaatttagttaaattgacatttagttctatfittatcaaaattttgctcaaaaacattcgaagcctctcaaaaatgcaftaanaa
 aggggtttcagtggttttcaataaaaaagcnaattttaactaaaatccatcaatttccaaactttgicacaacaataaaatgctgtgcaaaatggttccg
 aaaaaatgtttttttaattttaaaatfaaaatagtttttcttccgctgggacacatacattttggggcaaaatttccattttcaaacat
 10 aatcatabaagctacgctcigatctcicgcacftaccctgcccctgaticgaaagaacaaccgtagccaaaagaacaagaagaaczagcagctagtgtg
 gtagtggagcgttcaicacgcaatacgaaccatggcctggggctcactttccgtaactatgagagaggggagactgaagatggcaattgaggaca
 gtgcttcgacgcacgcatgcaataagcatalatccaggaggatggagagaaaaatctgitttcaagcccctctcttgaatacacaacatact
 aataccgaagaatggcctaattgaaatggacgctagctgtgctgtagtttccaaggcaatcogtagaataactgaaagaagaatttaataattatg
 aggcgtaaccggcggtcaltgaagactggactgattgaggaggagatcagatccatacacttaattggaggatgctggtagcgggaaatg
 15 ggcttagtaagtgactgaccacacgctggggcctaaatfaataaattgaattcattcagatgigtcaaacatgatacagaattcgaanaaacga
 ggaggttatggaggatccgtaaggaaacattggaaacgccgataatccgatgaggatgggtggcagcagttggatgataagaaggaggtagt
 gatgtggaagagctccgaagaagactacagagattatgataatacigatcagaattgactccttcagaaggatcaatttgaagtttggccggc
 aatcgtgaagtgccgggtgccaagaatttgcgaatttccgggaaaaaaattccgggaatttfaaaaaacttttgaataaataaatttgaacat
 20 ticagagaagctcctgacaatgcaatcattttgactaccaagaagctgctcaaatgctgaaatgaagatccagacagctgacaggtcagc
 gatgtgcaagaanaaaatttgcacaaaazaacccaacaaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaataaata
 algtattttgcaaaatctaaataatctccggaaatttcaataatttctttcagaacaagactctgctgcaigtgtgcaatttctgcaatttctg
 cctacgagcatttccagaaatgctcactgaacgttctccgacttccctcaataaccagcaatacttgaagaagctctccaggaacagctgac
 25 gattccgcaattgacatcaaaaactgggaatttggctccctattgctcatttctctcagcggatgctattgactgggaagatttggccgatafgaa
 aatgaccgaagaggacacaaacttcttggcagaatactatfaaataatatttgaactgtggaggcgaagggaatggtaaaccttaccgagag
 ttactgactccgtgattctctagagagatttttctgatticaatttccctatttcaagaacttggctcattgcttggatttcccacgaactaac
 aacagcgcacgatttcaacacttctcaatgattggattgggtggttgcacttggaaacttctgtaagcttggcaagggttcaagaagaaga
 30 agggaaatgctggaatggaaggccaacaaagctcagatcactgcttcttggatctcagactcctgctgacttcttggacttctgacatcc
 gaactgcttcaatctcacttctcagaatcagaccgaaccaccgaagaagaagaagaacagatgaaggagattccaanaaagaag
 gaaaaagagaatattgtcagcgggactggtggagcaagagactgaactcctgtaacaaagtgaggaaacaaggacacggatcgtgac
 tcccaaggatctgacgaaatcgtcggcagaacgagagatgaccgcaaggatcggagtaagatcgtctgctcaagatcggatcggatcggat
 35 tgaagatcgggtgaccgaagcaagatcgtgaggtcagctgactcggcctgctcgtactcgtatgactgtaaaactcgtgggaatagaagt
 gaagagcggaggagacgtcgtgaaatggaatcggatgacgacgacgctgtaattcaaaatfaaataatgaatattgtttttctat
 atttattatcttcttgggtttttcttcttcaaaaaatfaaataatccaaatcaaaatgagcggttttttcttcttcttccatccaaatcgtatc
 40 cctctcactgtaacaaatgtgcaagttatfatactctcctgcttcaattcaatgagcgtggggggaattggtggaagggggaacacacaaaaaggatg
 atggaaatgaataaggacacaaatgcaacaacattcaatcagaataatggaggaaagtttaaaagaaaacataaaaatatttagaggaggaa
 ggaaaactgtaaaaaatagcaaaagaaataggcgaacgatgagaattgctccttggcaaatgcaalccgtaaggagggcagcttggcga
 45 agcaaatgcttggatggatcgttaaaaatgtagtgaatttggctcttttaaaaaatttccgatttctgtaaaatcagctgccaagct
 gcaactcttcaatttcaaaatcaaaagcctttaaattggctgtagttgctaaatttctccttgaataatcttcccttgaatgtaattt
 50 tattatgatttcaaaaatcaaaagaaactggtaaaactcggaaatgtaaacactacagtaatccaaactcctaaaggcgcacacttfaaatgctc
 ccaatcagataatttttaagatcctagagcggccgcccacggctggagctccaaactcctatagtagtctgattacaatcactggccgtctg
 ttacaacgctgtagctggaaacccgtgctgtaaccacaaacttacccttgcagcacatccccttccagctgctgtaaaagcgaaggcc
 55 gaccgatcgccttcccacagctgctgctgaatggcgaalgggacgcccctgtagcggcattaaagcggcggtggtggttggtaacg
 gcagcgtgacccgtaacttgcacggccctgagcggccttcttcccttctccttcttccacgacgctcggccttcccctcaagctca
 aatcggggctcctttagggctcgaatttagctttacggcaccctcagcccaaaaactgattaggggtgattggtcagctagtgggccatgctc
 60 gatagacggitttccctttgacgttggagctcacttcttaataatgtagcttggcttccaaactggaacaacactcaaccctatctcgtcttatt
 galitaaaggatttggcgaatcggcctattggttaaaaaatgagctgattaaacaaaatfaacgcaatttfaa caaaaatfaacgttcaaatca
 65 ggctgcaacttccgggaaatgctcggggaacccctattgttttttcaataatcaataatglatccgctcactgagcaataacccctgataaagc
 tcaataatgtaaaaaggaagatgtagtattcaacattccgtctccttattctccttttggcgaatttcccttcttcttcttctcaccagaac
 gctgggtaaaaglaaaagatcgtgaagatcagttgggtgacagagtggttaccatcgaactggatcacaacggtaagatcttgagagtttcc
 ccgaagaacgtttccaatgatgacatttaaaattctctatggtggcggatattatcccgtattgacccgggcaaggaacactggctgctgcal
 acattctcagaatgacttggtagtctaccagtcacagaaagcaltctacggatggcagtaagagaattatgactgctccataag
 70 catgagtataaacctgcccacttcttgaacacgacggaggaccgaaggactaacggctttttcaacatgggggatcatgtaactc
 ccttgaatggtggaaaccggagctgaatgaaggcataccaacgacgagcgtgacaccagatgcccgttagcaatggcaaacggtgctgcaact
 75 ataacggcgaactacttacttacttccggcaacaatfaatagactgtagggcgggataaaatgtaggaccacttctgctcggccctcc
 agctggctggtttattctgataaatctgagccgggtgagcgtggctctcgggtatcattgtagcactggggcagatgtaagcctccctccgta
 ggttactcaacgagggcagctagggcaactatggatgaacgaatagacagatcgtgagatagggtecfcaactgataagcaattgtaactgtag
 80 accaaattactcaataatctttagattgatttaaaacttcaatttaaaatgaagatctaggtgaagatccttttataatctcatgaccaaaatccctaa
 cgtgagtttcttccactgagcctcagaccocgtaaaaagatcaaaaggatcttcttctgagatccttttctctgctgtaactgcttcaacaaa
 85 aaaccaccgctaccagcgggtgttggctcgaacagacccaacttcttccgaaggtaactgctcagcagagcgcagataccaataact
 gcttcttagttagccgtatgagccaccacttcaagaactctgtagcaccgctacatacctcgtctgctaatccgttaccagtgctgctccag
 90 tggcagataagctgcttaccgggtgactcaagacgatgtaaccggataangcgcagcggctggcctgaacgggggttctgctcacacagcc

ES 2 320 527 T3

cagcttggagcgaacgacctacccgaactgagatacctacagcgtgagcattgagaagcggccacgctcccgaaggagaaaggcggacagg
tatccggtaagcggcagggcgggaacaggagagcgcacgaggagctccaggggggaacgcctggtaicttatagctcgtcgggttcgccac
ctctgactgagcgtcgaatthtggatgctcgtcagggggccgagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacgggttcctggcctttgct
ggcctttgctcacatgttcttctggtatccccgattcgtggataaccgtattaccgccttgagtgagctgataccgctcggcagccgaacga
ccgagcgcagcagtcagtgagcgggaagcgggaagagcggccaatacgcgaaccgcctctcccgcgctggccgattcattaatgcagctg
gcacgacaggttcccgactggaaagcgggcagtgagcgcgaacgcaattaatgtgagttaccctcactcattaggcaccgccaggctttacactttatgt
tccggctcctatgtgtggaattgtgagcggataacaattcacacaggaacagctatgacctgattacccaagctcggaaataaccctactaa
agggaacaaaagctgggggg

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

pGAD424-without-FULL-ICE-BOTH-T7

SECUENCIA ID N°: 9

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

gatccgfcgacagatccctatagtgagtcgtactcagagatctatgaaicgtagatacgaaaaaccgccaggttcacitcaactgcatcgtgca
ccalcacatitcttcaatataatcgttgcctctttatgtaactatactctcaagttcaactctggccalgtaaccctctgactalagaatttttaaaigacta
gaattaaigcccaatcttttttgggacctaaatctfcaatgaasaatatactcagggcttattcagaagcttggactcttccgccagaggtttggcaagctccaa
tcaagggttgcggctgtctaccctgcccgaatctcgaaaaagatggaaagggtcaaaicgttggtagatacgttggacacitcaaaatgaagcgaattct
aigatttatgattttatataaataagttataaaaaaataagtgatatacaaaatfataagtgactcttaggttttaaacgaaatcttggcttggtagtaactcttcc
tgtaggctcagggttctcaggalagcaigaggctgcicittatgaccacacctctaccggcatgcccgaatccctaccctatgaaacatacttcttggc
aattctgtctgttctattatgaattctattataaagttatgtaacaaatcataaaaaagagaatcttttaagcaaggatttcttcttggcgacagca
tcaccgacitcgggtgtaicgttggaaaccctaaacaccagttctgatacctcacaacaccttttaactgcaictcaatggccttaccctctcaggca
gticaagacaaatcaacatcagcagcagacaagatagtggcgatagggtcaacctattcttggcaaatctggagcagaaccgtggcaigtctgtaca
aaccaaatgcccgtgtcttctgtgcaagagggcaagacgcagatggcaacaacccaaggaacctgggataacggaggttcaatggagatgatac
accaaacatgttctgttattataatacatttagtgggttgggttcttaactggatcagcggcaatcaatcaatgatgttgaaccttcaatgttagga
aattctgtgatgttctcaccagtttctcatalaacttgaagagggccaaaacattagctttatccaaaggaccaaataggcaatgttgggtctatgtttag
ggccatgaaaggcgttcttctgtatcttggaccttctggaacgggtgtattgttctactatcccaagcgcacacacacacacacacacacacacacac
aaatacctcccaatctctgacaacaacgaagtcagtaaccttagcaaatgttggctgtattggagataagctaaagagagtcggatgcaagttacat
ggtctaaagtgctgtaacattgaagttctttagatittagtaaaccttctgcaaggtctaacactaccctgtaacctttaggaccaccaacacacacacac
aacggcatcaaccttctggaggtctcagcgcctcatctggaagtgggacacctgttagcatcgatagcagcaccacaataaataatgttctgaaatgaa
ttgacattggaaacgaacatcagaalagctttaagaaaccttaattggcttggctgtgattctgaccacgtgtgcaacctggcaaacagcagatctttaggg
gcagacattgaaggtatactcttgaalataatataatgtctgaatfataaaaggtaaaaggtaaaaggtaaaaggtaaaaggtaaaaggtaaaaggtaaa
aaacaataggcttfaaataatattgcaacctcaagattgtgatgcaagcatttagatgaacgccttctlatctataaaaaagcgggtccggcctctca
cttcttcttctcccaatcttctgagtaaaaaaggtaatactgctcagcgcctctgaaatcaaaaaattctcagctatcgaattttagcttctgctgtagcgc
ccctgtgtctctgattgtttaggaaaaaaataggttctgaagagttgaactctgcatctacgatacctgagtaaccacaagttgggactctcagct
tagcttagaggatcaattctgtaactatggtcatalagctgttctctgtgtaaatgttctcagctcacaatctccacacaacatcagcggcgaagcataaagttaa
agccttgggtgctcctaagtgaggtaac
ggccaacgcgggggagaggcgggttctgtattggcgccttctcct
agctcactcaaaagcggtaatacggtaaccagaaatcagaggalaacgcaggaaagaacatgtgagcaaaagccagcaaaagccagggaaccgta
aaaagcccgctgtctgctgctgttctcctagcctccgccccctgacgagcatcaaaaaatcagcgcicaagtcagagggtggcgaaaaccggcagagct
ataaagatacagggcttcccccctggaagctcccctgtgctgct
tggccttctctcatalagctcagcctgttagtaicctcagttcgggttaggtctctctcaagctggcgtgtgtgctcagcaaccccccttcaacctcaccgctg
cgccttatcggtaacatctcctttagtccaaccggtaagacacagcattatgccactggcagcaccactggtaacaggattagcagagcagggtatgt
aggcgggtctacagagttctgaaggttggcctaactacggctacactagaaggacaatttggtaictctctctctctctctctctctctctctctctct
agagtgtgtagctttagcctgcaacaac
gatctttagatcttctacgggtctgacgctcagtggaacgaaac
aaatataaaatgaaatgaaatcaatcaataagataatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaatgaaat
tctgttaccatagttgcttactccctctgtgataactacgatacgggagggttaccatctggcccaagtgctgcaatgataccgagacccacg
ctcaccggctccagattatcaacataaacctagccagcggaaaggccgagcgcagaagtggtcttcaactttatccctcctcactcagctataaattgt
tgccgggaaagctagtagtaagtgtctccagttatagtttgcgcaacgttggcattgctacaggcaicgttgggtgacgcctctgtctgttggatgcttca
ttcagctccggctcccaacgatcaaggcagttacatgacccccatgttggcaaaaagcgggttagctccttggctctccgacatggttgcagaagtaagt
ggccgcaggttatacactcatgtttagcagcactgcataatctctactgtatgcatcaccctgtaagatgctttctgtgactgtgtagtactcaacaaagctat
ctgagaaatgtgtatgctgagcagcaggttgccttggccggcgaataaccgcccacatagcagaactttaaaagtgctatcatatggaa
acgttctcggggcgaaacctcaaggatcttaccgctgttgaatcagttgatgaaccactctgtcaccacactgacttcaacatcttcaacttcaacttca
agcgttctgggtgagcaaaaacaggaaaggcaaatgcccgaaaaagggaataaggcgcacacggaaatgttgaatactataacttcttcttcaataat
attgaagcattatcaagggttattgtctatgagcggalacataattgaaatgatttagaaaaataaacaataagggttccgcacatttcccgaaggtccc
acctgacgttaagaaaccataatcatgacataaacctataaaaataggcgtatcacagggcccttctctcggcgttctgggtgtagcgggtgaaaacel
ctgacacatgacgtctccggagacggctacagcttctgttaagcggatgcccgggagcagacaagcccgcagggcgcgtcagcgggttggcgggt
gctggggctggcctaactatgcccacagcagcagattgtactgagagtgcacalacgcatttaagcatalaacacgcactatgcccgttctctcatglata
atatatacaggaacacgcagatalaggtgacgagtgaaacagtgagctgtatgtgcagctcgcgttgcatttggaaagcgtctgttctggaaacgctt
gaagttcttctcgaagttcttctctatgctagaaagataggaactcagagcgttggaaaacaaagcgcctgaaagacgcacttcaaaaaacca
aaaacgcaccggagctgaacgagctactaaaatitgcgaatacctccacaaacattgctcaaaagtactcttctgataatctctgtgctataleccata
taacctaccacacacacttgccttgaactgcaatcaactcgaactctcaatitttatgttatctctagtatactctttagcaaaaaatgttagtaagaac
tatticatagagtgaaatgaaaacaatcgaaaatgaaacatttcttatactgataatagagcaaaaatagaagaaccgttcaatatttctgacaaatgaa
gaalcatcaacgcctacacttcttctcaaaatgagcagcaatccacatcgggtatagaatatactggggttgccttcttcaacttaacggacctacagctg
caactgaaacacgcgggaagtgagcagcttcttggaaagcaaaaatagacaccaaaagtagccttcttcaacttaacggacctacagctg
aaaaatgatacgaagctgcaatagagcgaacaaaggaaaaaaagtaactaagatgcttggtaaaaaatgagcctctcggggtgcaatttggata
caaaaaagaagtagattcttgggttaaaaagcgcctctcgggttctctgtaaaaatgagcctcagattcttggtaaaaatagcgcctc

ES 2 320 527 T3

cgctgcaattttgtttacaaaatgaagcacagatctctgtggtaaaatagcgttcgcgtgcaattctgtctgttaaaaatgcagctcagatctttgttgaa
aaattagcgcicgcgttgcaattttgtttacaaaatgaagcacagatctctgttgctgcatgcaactctttctttttttctttctcicccccgttggtct
caccatacggcaatgacaaaaaaatgatggaagacactaaaggaaaaaataacgacaagacagcaccaacagatgctggtttccagagctgatga
gggtatcttgaacacacgaaacttttcttctctcattcagcactactctctaatgagcaacgggtatacggccttctccagtiactgaattgaaataa
aaaaagtttccgctttgctatcaagataaatagacctgcaattataatctttgtttccttctcaattgttctcgttcccttctctgtttcttttctgcacaatatt
caagctataccaagcatalacaatcaactcaagctttgcaagatggataaagcggaaataatcccgagcctcaaaaagaagagaaaggcgaattggg
taccggcceaatttaatacaagtggaatattgctgatagctcattgtcttctcacttaacagtagcaacggctcgaaccataacaactcaaaaa
ttctcaagcgttccacaaccaattgcctctctaacgttcatgataactcatgataatgaaatcacggctagtaaaatgatgatggaataaaticaaaaccac
gtcacctggttggacggaccaactgcgtataacgcgtttggaatcactacagggatgttaataccactacaatggatgatgataaacatctaltcgatga
tgaagatacccccacaaaacccaaaaaaagagatcgaattcttaatacgaactactatagggccatggacgaagaaiccggtcattctatgtacctatgctg
agaatcgtccaataagaagccaatacttcttagatgatgcaataaatataaaataaaacaaaacagaaggctg

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

pGN205:

SECUENCIA ID N°: 10

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

ccgggtgtaccgggccccccctc gaggctgacggatc gataagcttctgctc atgaaaagaggataa gaataggacga tgggaa gaagctc tctgtt
 gtccaggagatcagaaaacagcaactgttccaantcnaaggaggagaaataicaatcagaattctgtctgtaacaaggctggaaactgggaga
 tctcttgaatcttctgacgtgtgttgcgaaagccaaagaaaccttgcctcaagaaitcctgtgaagatcttctgatacaactgtcaaggctggagccac
 tctcaagcttcatgttcatatgattggtgagccagcaccagatgtaacalggctcaticaatgaaaaaggaatcggagagagcaaggctcaaatlgaaaa
 tggccatacactcgcgagattgtcttccaaaggcactcgtaaagcaagtggaaaaataaccatcctgcaaccaacatfatggaaclyacagtgctc
 actcaatfatcaaggtaaaaaagcaagccaacgaaacaaagggaaccaatcagggtbaactgaigtcttguagatcgtgcaactcttgcagtgaaac
 caccagagagatgacggaggagagccaattgagttctatgaaatgaaaagatgaacccaaggagcgaatctgggttccatgtggagctgagggag
 atcccacttcacagctgacttctcaacaaggagatcattacaagttccgtgicaggctctcaacagcgaaggaacctctgatccatggaaactg
 aaaccgataatttgcctaaaaatccattgatcgtccagatagaccaggtcgtcagagccaactgattggatctgatacigtgatctc aagtgggat
 ccactgttctagaagcgtgctaaagggggccctcgtgagctggctcaaaicaactgaaactcaaggcagccaatgattggatctgatacigtgatctc aagtgggat
 agaaaaagagctcattgaaacagggttgaattcttctggtcaaaaagatgaaatattgatttcagccagatactccaaaactagcagcagagagct
 gcaagctgttcaagctc gcccagagaacgcgggaagtgagccaagggtatgitttcaaaaatcaataactgatcataa tttttattgttgggtgaatt
 aagaaaaataatttcgaaaattctc tgaattatcaagattcagctgataatttcgagaaaaatgagatattcagatagac taitgtaaaatttctgtattcag
 actgaaacttcggaaaatcaagagaaaaatcaaaagaaaggaagcaggggatgacccctggcacaccgaaacagctatagaaaggcggaaaacttc
 accagctccaaaaggctc caaggagaccaggttgcataaagcttctcgtgcttaattctatcatttttccagagaatcagagctcctgaaaatcc
 ccggctcgttcaactctccagaaggctctcagcacttccctcagcgaicctctagaccggccc gagaaaagagctcagaaaaggaagcaatccg
 aagagccagcaccgctaccaga gaaaaagaaagagcagctgataitctcgaacaagaaccggaggagcatabattccaccgcccaactt
 cgactatgcaacaagattatgataagcaagtgaaagatcagagaaatgaattgggaaagaatgaa gaaaagatcagggattggtaacag
 agtcaacgcgaagaaacttctcaaatgtcagagaaacttctcaagagaatgtgattcgtcaagtgagtgaaaaatcgaaggaaaaaggaagaat
 taatttaatttcaggggactctctgctgacattatcaagctcaggcttctcaccaggattctcaacgtctatgcaagcttggcggcagttatcaac
 tcaaaatccctcagctcggtaaccttctcctcgtctgattgtaactgcaaaaagaaagttctgtagaaatgacagagggctcagggtgaacgtgat
 caaaitcctgcacattgataaicaaacaggttctcagcaagcttctgctggaaatcatgattctgatcttgaagaaaccaactgatattcagttga
 agtccacttgccttctgaaagaggtgtggcaaaagcttctggagattctcagcagctcttaacagtgctctacgacctcttctgcaattctcag
 gaaactgaaaatgcggaaaaatgcacigggatcagctatctatgattgagactgcaalgcagatcgaaggacaatattcggtaaggtagaa
 tatataaatagtttatagaaaaataaattagaataaattaaatctcaactagccaatcagggcacttttgcgcatagttctatattgaaaaattggag
 aatttctcaatctcctcggtaaacctgcaatcagagacttctggtctctgctcagctccttctgctccttctcgttctctctgtatca
 ccaa gaacttctgagttcactaac tgaacttctgactgctcactlggatcactagcagactgaltctc gagaalacagattgagttgctgatt
 aggggtaccctagaaattgggataaatacgaactttgaaaatactcaggagatlaaaaaaattatctc gacaactctcaaaattctattgtaccatgt
 tctcctcaacttttcaataaagttatgaaaaatgtagaaatctggaaattggcaatttcagaccatttttaagcattttcaaaaaaattgcagctga
 aataatgctcattcagataaaatcagcagcttattctgtctcagcactagttttatgaaaaaattgtagaaagcaatgggccaataggaattctatg
 aatttctcagtttttttcaattcaactatccaaactctcaaacctcaattttcggagcttgggctcaagaalctgctcagttttataagcagcagc
 atctctgataactcagaaaaatfaattttatcaaaaacttgaatactcaactaaacccttataactttctcgtctgcttgcagtagcagaggtgaa
 gaagccaattgtagttgatttgggtc aagctcttctggctgttctagctcagctcctgcaatgctanttagtataacttagcccaagaaatcaattatg
 aagttatasaatttctctgaacctctaaagatgacttttggattgaaacataataagacaggttaccatctatataaaacagatcaaaatagatacag
 accaaaatcgataalccatccctacctggcaactaggaacgtgtctctagaaatcttctacglaactgatagaagaataacaattgatctgtggccag
 caaaaataagggttaagggtgatagtttttatagctaacggaaaatttala gtttttttgcagaaacctctgaaaaccccccaattgtatcaattt
 ttgggagcagcttctgctttttgagcaataaaattc gataaacagaaatttaagtgtaaahtttcaacttattttatcaaaattttgtctcaaaa
 cacttgaagctgtctcaaaaaatgcttaaaaaaggggtttctcagttcttcaatataaaaagctaaatataactcaaaaatccatcataattccaacttgc
 tcaacaataaattgtctggcctcaaaatgttctcaaaaaatgttttttttaattttataatataaaaatagttttcttctggtgacacatacaatttgggc
 gtaattttcagttcaaaattctatttcaaacataatcagaagctcagctctgactctctcagcttaccctgctgattcgaagaacaacccgtagc
 caaaaagaacagaaagcaaacagcagctgattgttggtagtggacgtctacagcaalactgaccactggtctggtgggtctcacttccgtactattgaga
 gaggggagactgaaagatggcaattgagacagctgtctcagcagcagctcactcaataagcataatccaggaggatgagagaaaaacttggtt
 ctaagcccccttcttgaatcacaacatactcaatccgaagaatggctaaatgaaatggagcagctgtctgtgtagttgccaaggatcactcagatg
 aataactgaaagaaatfaataatattcagcagctatcggcgtcattgaaagacttggacttgaagaggaggaicagatccatccatca
 ctbaatggagatgctgggtatccggaaatgggcttagtaagctgacccacagcggggcaatataatgaattcaattcagatgt
 gttcaactagatccagaattc gaaaagcaagaggaggtttatgagagatccgtaaggaaatcattgaaacgcgataattcggatgagatggtg
 gcgacgagttggatgagaaagaggglagtgatgtgcaagggcctcgaagaagactacagagattatgataaactgactcagaattgacigtct
 tcaagaaggtaactttgagtttggcggcggcaaatctgtaagttggcggcgaaaaattgctgaatttggcggaaaaaaatccggaaatttattta
 aaaaacttttgaataaattaaatgaatttcaactttcagagaagictaactgacaatgcaatcatttggactccaagaagctgtctcaaatgtctg
 aaaaatgagattccagacagctcagctcagcagatgttgc aagaaaaatttccgcaaaaacccaacaaatcaaaaatttaaaaaaacctc
 gtttttctttttttatcagagaaaaccaaaaaatgtatttggccaaatctcaaaatctatcccgaaatttcaatatttctcttcaagcaagcaactctg
 cgcgactgtctgactgttctcacaagcgtacccagcagctcagcgaatgctcagcgaactgtctcagcggacttccctcgaatcagcga
 taacttgaagaaactctcggaggacagctatctccagctaccgcaatgacatcaaaaactcgggaatttggctcgcctattgtctcattgtctcagc
 gatctattgactggaagatttgcggalatgaaaaatgaccgaagagacaaactctctcggcagaactatataatatttaattgaaactgtgtg
 gagcagatgggaattggtaaacctcactcagagttactcgtgagttctcagagagatttggcttctcagatcttcaatttccattcagaacttggct
 caltctgttggatattctccagcaactaatccgaacagcagcagatttctcaactctcaaatgattgattgggtgttgcagttgaaacttgc
 gtgaatggctggcaaaagggtctcaagaagaagagggaatctggaicaggttgaaggccgaatcaagctcagattcaicgtctctcggattcga
 gactcgtctgattctcggactctgacgattcaactcagctcgtctcagattctcaicctctcagaaicagagccagaaccaccgaaagaaaaagaa

gaagaaacagtgaaagagaggtccaaaaagaaagaaagaatattggtcgacgggacgtagagacaaagagagctgaacgtcatcgtgatcaaa
 gtagtgagaacaagacaaagatgctgacgtcggcaggttcgacgaaatcgtcggcagaacgaggagatgccgcaagatcggagtaa
 agatcgtcgtcgaagacgcggatgatgagagatcggaaaggtcgtgaaacgtcgggaagatcaggaggaaagacgtcggcagatcgggacgcac
 5 gtagcgaacaagatcagggagatcaccgtgaaatcggcgtgaccgaaagcaagatcgtgagatcagcgtgatccgtcgtcatgactcgtg
 atgatgatcgtaaaactcgtcggatagaagtgaaagcggagggacgtcgtcgtgaaagggaaatcggatgatcagcggcagcgtcgtgaaat
 caaatttaatacgtgaatattgttttttccctaitaitaitatctcttctgtgttttttcttcttcaaaaaatcaatcaatcaaatcaaacatgagcgggt
 tttttcttccgtctcccaatcgtatccgtcctctcatcgaacacaatgtgcaagtattatctctcgttcttcaatgagcgtggggggaat
 10 ggtggagggggaaacacacaagaatgatggaatgaaataagacacacaatgcaacaacatcaatcagaaaatggaaggaggttaa
 aagaaaaataaaaatataagaggaggaaggaactagtaaaaaagcaagaaatagcgaacgatgagaattgctcctcgttggcaaatg
 cgaatccgatgtagagggcaggttggcgaaggcaaaigtctggtatggagatcgttaaaaatgaaatgggttgccttttcaaaaat
 ccgatttccgtgaaatcagggtccaggctcgcacagctctccaattttcaaatcaaaaagacccttaagggctgtatgctaaatctcgttttga
 aaaattttctcgtttatcgaatftagtattttatgattttcaataaattcaaaaagactgtgaaactcggaaaatgtgaactacgataicca
 15 atcctaaaggcgacacccttttaaatgctcggcccaatcgaatfitttaagattcgttagagcggcggccaccgggtgagctcgaatccct
 alagtgatcgtattcaattcagctggcgtggtttacaacgtcgtgactgggaaacccctggcgttaccacatcaatcgttggcagcacatcccc
 ctccgacgtggcgtlaatagcgaagaggcccgaccgctcggcctcccaacagttgctgtagcctgaatggcgaatggcagcgttctgaagc
 ggcattaagcggcgggtggtgtacgcgacgtgaccgtacactgccagcgccttagcggcctcttctgttcttcccttcttct
 20 cggccagctcggcgttcccgctcaagctctaaatcggggctcccttaggggtccgatttagtctttacggcaccctcgaacccaaaaactgat
 tagggtagtgggtcagtagtggccatcggcctgataagcgggttttcccttggacgttggagctccagcttcttaatgtagcacttcttcaact
 ggaacaacactcaaccctatctcgtctatctttgatttaaaagggtttgcttccgttccgttgaataaaatgagctgatttaaaaaat
 cgcgaattttaacaaaataaactgattcaatcaggtgcaactttcgggaaatgtgcggaaccctattgtttttctaaatcactcaaatat
 25 gatccgtcatgagacaataaccctgataaatgctcaataatgaaaaaggaagatgagatcaacaatccgtctccttiafctctttttg
 cggcatttctctctgttttctcaccagaacgtggtgaaagtaaaagatgctgaagacagttgggtgacgagtggttaccatgcaactgga
 tcaacacgggtaagatcctgagagtcttgcggcgaagacgttttcaatgatgacacttttaaaagtctgctatgtggcgggtattatccggtat
 gacggcggcaagacacactggctcggcgcatacactttcagaatgactgtgtgactcaccagtcacgaaaaagcacttacggatggcat
 gacagtaagagaatfatcagctgctgccaiaagcatgagtgataacactggcgaacttacttctgacaacgacggaggaccgaaggagctaac
 30 gctttttcaacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcttgggaaccggagctgaatgaagccalaccaaacgacgagcgtgacaccacgat
 gctgtagcaatgccaacacgttgcgcaactatfaactggcgaactacttactctgcttccggcaacaataatagactggatgagggcgata
 aagtgcaggaccactctcgtcgtcggccttccggctggttattgtctgataaatcggagccgggtgagcgtgggtctcgggtatcattgag
 cactggggccagatgtaagccctcccgatcgtgattatcacaacggcagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgtgagat
 35 aggtgctcactgattaaagcattgtaactgtcagaccaaatctacalataacttttagattgatttaaaccttatttttaaaaggatctagggtga
 gatccttttgataactcagcaaaaacccctaacgtgagtttctgctcactgagcgtcagaccggtagaaaagatcaaggalcttcttggatcc
 tttttctgctglaactcgtcttcaaaaacacaccgctaccagcgggtgttgggttttggcggatcaagagctaccaactctttttcgaagg
 aactggctcagcagagcgaatatacactgctccttagctgtagccgttagtagccaccactcaagaactctgtagcaccgctacatacct
 40 gctctgctlaactcgttaccagtggtcgtgctgacagtgccagtaagctgtgcttaccgggtggactcaagacgatgtagcggataagggcagc
 ggtcgggtgaacgggggtcgtgcaacagccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatcctacagcgtgagcatggaag
 cgccacgttccgaaggagaaagcggacaggtatcggtaagcggcagggctcgaacagggagagcgcagaggagcctcagggggg
 aacgcctggtatctttagctcgtcgggttccaccctcgtgactgagcgtcgtattttagatgctcgtcaggggggccgagcctatggaaaacg
 ccagcaacggcggccttttacgggtcctggttctggtcctttgtcaccatgtcttctcgttaccctgattctggtgataaccgtattacgcct
 45 ttgagtgagctgataccgctcggcagccgaacgaccgagcgcagcagtgagcggaggagcggaaagagcggccaatagcgaacccg
 ctctccccggcgttggcggattatgagctgcaacgacaggttcccgactgaaagcgggcaagtgagcgaacgcaatfagtgagta
 cctcactcattagcaacccaggtttacactttatgcttccggcctctatgtgtgtggaattgtgagcggataacaattcacaaggaacagctatg
 accatgattacgccaagctcgaatfaaccctcactaaagggaacaaaagcgtgggggatctccaaaatcgtctcgtctgaaaaacgaagt
 50 ggacccttgacatccgaaaaatgggcgaaaaatgaaatgagctttttgggtcgaaaaaatgttttagaatgctgagaacacgtaaacacgaag
 atcatattttgagaccggatgctcgtgaaatgctgacatagattaaaaagcalatataattttcaatcagtgaaagtttgtgcaactttata
 gaatctctattgacatgtttttatnaactgagggcagttttgaacccctttgaaactttgaaatctttgagatactgctgaaagactgactga
 gcgtcgaatgccagaagaaactatattgaaatcgcgcctaaattgagaatgcaaccgctccacggacaattgaaaaaaaatttctgga
 55 ggcgacaacggtaatttcgaaatgatttctgtafcttctcatttttaaaatcttcttgaattatcgtcgtttgtgagaatfagtaaaccttttt
 atagtaagata

pGN207:

SECUENCIA ID N°: 11

```

5 cccgggtggtaccgctagccgtae gaaccgggggtctagaactagtggaicccacttgagatcaacalgatcagaatccccaatcagttggctctggacga
cctggctactctegacgatcaaatggatnrtagccc aaaaatctgggttcagttccaatygatcagaagggtccctcgtctgtgacagccctgacacggaa
cctgtaaatgatcccttggtgagigaatgacgtgaaagggtgtaicccactagctccacatggaaccagattccgctctgggttcatctttcaait
catagaactcaattggctctccctcgtcctctgtggtggttcagcaagagttgcacgalttcgaaagacatcgniacctcgatggctccctgggtt
cgnrggcttgmittacctgatafngatagigacactgtcagttccattaatgttgggtgcagtgatgtaiatittccactttgttacgaagtgccrtggca
aaagcaaacctcagagatgtagtctcatttcaaittgagccctgtctctcgaatcccttccattgaaigacatgttacalcctgggtcgtcaccatca
10 atatgaacaatgaactfagagtggtcctcgacacttgacagttgatacgaanaactcttcacgaltgaatctggagcaaggttctggcttcgcaaac
acgacacagaaggatcagaaggatcctcagttccagccctgttacagcagaatctgaaifgatalicttccccttaagattggaaacgtgtgtgt
ttctgaicctctggaaacacgagagcttctccatcgtccatcttcaatgacgaaagcttaccataaccgctgacccctgagggggggc
cctctctgagctggtcacaatcaccgaaactccaaaggcagcagtgaggaacgtgaaagaagaanaagagctactgacaggttgaatctct
15 tctggtcaaaaagatgaaattattgattcagcacaactcccaaaactagcagcggagaagctctgcaagctgtcacagtcgccagagaatcgcg
ggaaagtggcgaagggtatgtttcaaaaatacaiaactgatalcaaatittatigtgtgaaatgaanaataatctgaaaattccttgaattatc
aaagtgcagtataatctcagaaaattgagataatcagactatgtaaaattctgtattcagactgaaacttccgaaaatacagagaatacaca
gaaaaaggatgacgggagatcagcctggcacaccgacagctatagaagccgggaaacttaccagctccaaaaagggtccaaaggagaccagggt
rtgcaaaagctccctgagaaatctcattcaattttcagagaatcagagctcttgaaaaalcccgggttcgaaatctccagaaaggctctcag
20 cacgttcccctgacgatctccagacggcggcggagaagagctcagaanaaagcaatccgaagagccagaccgctaccagagaanaagaa
gaaaagaccgctggatafctacgaacaagaaccggagagcataatctccacccccaacctcagctatgcaacaagattgigataagcaaa
agtgaacagatcagagaatgaaifgggaagaatgaaagaanaagattcaccggattggfitaacagagctcaaccgggaagatcttcaaatgtcag
agaactcttcaagagaatgtgartcttcaaaagttagtgagaalccgaaagaaagaaagaatataatfctcaggggactctctcgtgcg
25 attattcaagctcagggtctccaggatctcacaactctatgcaacttggcggcagitaicactcgaatctccatgctgggtaactctctc
gtctctgattgtacagttcaaaaaggttccgtgaatgacagagggcgtcagggtaacgtgatcaaatcaicgcacattgttaatacaacaggt
gctcaccgaagcttggcgtcgaatcaigattctgatgttgaagaaccacagatgattcaggtgaaigcgcacatlgcgttccgaaagagtggtgag
caaagctctgagaaatgctccagcagcttcaacagtgcttaccgaccgtcttgcgcaatctcaaggaaactgaanaagatcggaaaatgcactggaicg
acgtattcagatatafngatgagactgcaatgcagattcgaaggacaatfctggtaaggtagaataataatagttatagaanaaaataatfaga
30 ataatttaatttctactagccaatcagggcacccttttggcatagttctatattgaaaaatttggagaattctcattctcctcggaaacttggaaactc
gacgagactctctgcttctgtcagctgcacgcttctgtctccttctcgtctgtctctctgtctacccaagaacccttggatgattcaacctgaaactgtt
gactggcttggattgctcactggatgcacagactgacttctcagaaatcagattgagttgcgattaggggaccta gaaatgggaaataatcgaact
ttgaaaataatcaggaggaataaaaaattttctcgacaactctcaaaatttacttaattgcaccatgttgcctcaacattttcaanaagtaatagaaa
atgtagaanaatcggaaattggcaattttcagaccaattttaagcaatttcaaaaaaaattgcagctgaaaataatgtcattttcagabaatcagcgtatit
ctgttctctgacactgatttttagttttaaanaattgttggaagacatgggtgcaatggtaatttcatagaatttccatgtgtttttcaataaaccaattacc
35 aaacttccaaactcattttggagctggcgtatcaagaatctgctgagttatagaagcagcaictctgataicactgaaantaattttaatcaaa
aacitgaataicactaaaccacttataactttctcgtactcttctgcttctggtagatgacggtagaagaaccctaaatgtagtagttgattgggtcaaglc
ctttcgggtgtctcactggtcactggaatgcacagactgacttctcagaaatcagatcaaaaatagatacgaaccacaaatcgataatcctgactttagat
ctaggaaactgcttgaagattctacgtaatctgtagaagaatacaaatfctgttggccagcaaaaataggggtttaaglgggalaglttttat
40 tagctaacgggaaatttatagtttttttcaagaacactgaaaaccccctaattgatacatttttggagcagcttctgtcttatttgacataaaaat
ctgataaaacagaattaaagtgtaaaigtccacttttagtttctaatctcaattttgtctcaaaaactcgaagctgtctcaaaaaatgcttaaaaa
aggggtttcagtggttttcaataaaaaagctaatttaactaaaaatccatcatttccaactttgcaacaataaaaatgtctggcaaaatgtgtctg
aaaaatgttttttttaatttataatfnaaaaaatgattttcttctcgtgggacacatacattttggcgtaaaatttcagttcaaatttccattttacaacat
45 aatcaaaagctacgtctgaltctctcgcacttaccctggcctgattcgaagaacaaccgtagccaaaagaacaagaagaacaagcacgtatgtgt
ggtagtggagcttaccacgcaalacigaccaatggctggtgggtctactccgtactatfagagagaggggagacgaaagatggcaattgagggaca
gtgtctcagcgcacgcatgcaatcaaaagcataatcaggagggatggagagaanaatcttttcaagccctccttcttgaatcacacacatct
aataccgaagaatgctaatgaaatggacgtcagctgtgtgctgagttgccaaaggcattcagatgaaataactgaagaagaatfnaataatttc
agggctatccggcggtcattgaagacttgacttggatgttagggagatcagatcatalacacttaattggaggatgctggttgaaccggaanaatg
50 ggcttagtaagtagctaccacacggggggcattaaatttaataattgaattcagaltggttcaaacatgaccgaatcgaanaatcgaagaacga
ggaggttatagagagatccglaaggaalcatlgtgaaacgctgatatfctggaltgagatgtgtgacgagttggaigaigaagaagggtgat
gatgtggaagaggtcctcgaagaagactcagagatfataatcagatcagaatgactgtctcagaaggatctatitgagtttggccggcaa
atctgtaagttgctgggttgcgaatgtctgaatttgcggaaaaaaaatccggaatttataaaaactttttgtaaaaataaataatgcaact
tccagagaagctcactctgacaatgcaatcttttgaactcaccagaagctgtcaccacaaatctgaaaatgaaagattccagacagcaagtgaggcagc
55 gatgttgcagaagaaaaatfctgaccaaaaaaaccacccaatcataaatttaaaaaaaactcggtttttcttttttatacagagaaaaacaaaaaa
atgtatttttccaacttcaaaatactatcccgaatttcaaatfctcttccagaacgaactctgctcgtgctgtgaltgtgtgctcaacgctia
ccctacgagcgtacttccggaatgctcaccgaacttctcgtcctcgaatccagcaatctttgaaaaagctctcggagcacgtatctccac
gattcaccgaaatgacatcaaaaactcggaaattgtgctgcttattgtctctcagcggatgtatfctggtgaagattttggccgataigaa
60 aatgaccgaaggaggacacacttcttggcagaaactatataaanaatataatattgaacttggaggggatgggaatggtaaaacttctcagag
ttactgaterctgagttctcagagaggtgtttttctatcaatfctcattttcagaacttggctcattgtggttggatattccacagaaactaatccg
aacagcgcacgatttcaaacacttctcaaatgattgattgggtggttgactgtggaactctgaaatggctggcaaaagggttcaagaagaaga
agggaaatgctggaatcagttgaaaggcgaalcaagctcagattcactgctgctcagattctcagactcggattctcgggtcagatccac
65 actctgctcagattctcttctcagaatcagaccagaaccaccgaagaanaagaagaagaacaatgaaagaggttccaaaaagag

```

gaaaaagagaatattggctgacgggatcgtggagacaagagagctaacgtcaicgtgacaaagtgtggagaacaaggacaaggatcgtgacg
 tcgccaggattctgacgaaaatcgtccgcaaacgaggagatgccgcaaggatcggagtaaaatcgtcgtcgaagactcggatgatagg
 5 atcggaaaggctgtaaacctcggaaagattcaggggaaagacgtcggagatcgggatcgtgacgtatcgaacaaggatcaggaggatcaccg
 tgaagatcggcgtgaccgaagcaaggatcgtgaggatcgtgacgtatcggcgtcgtatgacictgatgatcgtaaaacgtcgggatagaagt
 gaagagcggaggagcgtcgtggaagtgaatcggatgatcgtgacggcgtcgttgaatttcaaaatttaaaactgaatattgttttttctatt
 atttattatctctgtgttttttctgttttaaaaaaattcaatccaaatcaaacatgagcggttttttctttcgttcccaattcgtattccgt
 cctctcactgaaacacaatgcaagtttattatcttctcgtttcattcattcattaggacgtggggggaattgtggaaaggggaaacacaaaaaggatg
 10 atggaatgaaataaggacacacaataatgcaaacattcaattcagaataatggaggaaggittaaaaaagaaacataaaaaatatagaggaggaa
 ggaaaactgtaaaaaaagcaaaagaaattggcgaacgatgaaattgtcctcgtttggcaaaigcgaatccgtalggagaggcagtttgccga
 aggcaaatgttcggtatggagatcgtaaaaatttaagttgaaattgtgtgtcctttacaaaatttccgatttctgaaattacgggtccaggtct
 cgacacgtctccaattttcaaaatcaaaagagccfataatggctgtagtgtcaatttctcgttttgaaaatttcttccgttatacgaattgatgtatt
 15 tattatgatttcaaaaattcaaaactgggtaaaactcggaaaattgtgaactacagtaatccaaatccfataaaggcgcacaccttttaaatgtccgc
 cccaatcagataatttttaagattcgtlagagcggccaccggcgtggagctcacaatccctatagtgagctgatacaattcactggcgtcgt
 ttcaaacgtcgtgactgggaaaaccctggcgttaccacaacttaatcgccttgcagcacatcccccttgcagcgtggtatagcgaaggggccc
 gcaccgatcggcctcccaacagttgcgtagcctgaatggcgaatgggacgcgccctgtagcggcgcattaaagcgcggcgttcccgtaagctc
 gcagcgtgaccgtacacttgcagcgccttagcggcgtcctttcgttttcccttctcgtccacgtcgcggccttcccgtaagctcacta
 20 aatcggggcctcccttaggttccgatttagtctttacggcacctcgaaccccaaaaaattgattagggtgatgttccgtatgtgggcccacgtccct
 gatagacggttttcgtcccttgcgttggagctccacttcttaatgtggactctgttccaaactggaacaacacacacccctatctggctatctt
 gattataaggatttgcggttccggttcttgaaaaaatgagctgatttaaaaaaattaacgcgaatttaaaaaaataaacgtttcaattca
 ggtggcacttttcgggaaatgtcgcggaaacccctattgttttaaaatacaatcaataatgatccgtcctatgagacaataacccgtataaatgc
 25 tcaataatattgaaaaggagatgagatgagatcaacatttccgttcccttatttccctttttcggcatttgccttctgttttctcaccagaac
 gctggtagaagtaaaagatcgaagatcagttgggtgacagagtggttaccatcgaactggatcaaacagcggtaagalcctgagagtttccgc
 ccgaagaacgtttccaatgagacacttttaagttctatgtggcgggtatattccgtatgacggggcaaggaacacggcgtccgcat
 acactattcagaatgacttgggtgactcaccagtcacagaaaagcattcaggtatggatgacagtaagagaattatgagctgtccataag
 catgagtgataaacctcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccggaaggactaacggcttttttcaacaatgggggatcatgtaactc
 30 ccttgcgtgggaaaccggagctgaatgaagccataccaacgacgagcgtgacaccacgatcctgtgcaatggcaacaacgttgcgcaaac
 attaacgtggcaacttacttctgacttccggcaacaattatagactggatggaggcggataaaattgaggaccacttctgctcgtggccttcc
 ggctggtggtttattgtgataaaatcggagccggtagcgtgggtctcgggtatcattgcagcactggggccagatgtaagccctccgctatcgt
 agttactacagcggcagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgtgagataggctcactgattagcaattgtaactgtcag
 35 accaagttactcaatatactttgattgatttaaaccttatttaatttaaaaggatcaggtgagaatccttttataaactcagaccaaaatccctaa
 cgtgagtttcttccactgagcgtcagaccctcgtagaagaatcaaaaggatcttcttggatcctttttctgcgcgtaactctgctgttgcacaacaaa
 aaaccacccgctaccagcgggtgttcttccggalcaagactcaaaccttttccgaaggtactgctcagcagagcgcagataccaaaact
 gtcctctagtgtagccgttagtgccaccactcaagaactctgttagcaccgctacatacctcgtctgctaaactctgtaccagtggtctgctccag
 40 tggcgataagctgttcttaccgggttgacicaagacgatattaccggataaggcgcagcggcgggctgaacggggggttctgtcacacagcc
 cagctggagcgaacgacctacaccgaaactgagatacctacagcgtgagcaittgagaagcggcaccgctccgaaggagaaaggcggacagg
 taccggtaagcggcagggtcggaaacaggagagcgcagggagcttccaggggggaacgcctggatctttatagctcgtcgggttccgccc
 ctctgacttgagcgtcgaattttgatgtctcgtcagggggcggagcctatggaaaaacggcagcaacggccttttaccggttcttggcctttgct
 45 ggccctttgctcactgttcttctgcttaccctgtattctgtgataaccgtattaccgctttgagtgagctgalaccgctcggcagccgcaacga
 ccgagcgcagcagtcagtgagcgaagcggaaagcggccaatcgcgaacgcctcctcccgcggttggccgattcaatagcagctg
 gcacgacaggttccgactggaaagcggcagtgagcgaacgcaatattgagttaccctcactcattaggcaccocaggctttactttatgct
 tccggctctatgttgtggaattgtgagcgataacaattcacacaggaacagctatgaccatgattacgcaagctcggaaataaccctactaa
 50 agggaaacaaaagctggggggatcctccaaaatcgtcttccgctctgaaaaacgaaagtggacccttgacatccgaaaaatggggcaaaaaatga
 aattgagcttttgggtcgaaaaaatgttttagaatctgagaacacgttaaacacgaagatcatttttagaccggatgctctgaaaaatgctg
 acatagatttaaaaagcatalatataatttcaattcaacgtgaaagtgtgcaacttatagaatcctctattggcactgttttttatttaactgaggcag
 ttttgaacaccttttgaactttgaatcctttgaagtactgtcgaagactgacttggcgttcaaatcgaagaacataatttgaatctcgc
 55 gctaaattgagaaatgcaaccgctcactggacaattgaaaaaaatttattcggagggcacaacggtatttccgaaatgatttctgtatttct
 catttttataaattcttctgattatctgtctgttggagaatttaattgattcaaacctttttagtaagata

REIVINDICACIONES

5 1. Un método para introducir ARNbc o ADN capaz de producir ARNbc en un organismo no humano, comprendien-
do dicho método suministrar a dicho organismo un microorganismo adecuado que comprende un vector de expresión
que comprende un promotor o promotores orientados en relación con una secuencia de ADN de manera que sean
capaces de iniciar la transcripción de dicha secuencia de ADN en ARN bicatenario tras la unión de un factor de
transcripción apropiado a dicho promotor o promotores o suministrar a dicho organismo directamente dicho vector de
expresión.

10 2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el vector de expresión comprende dos promotores
idénticos que flanquean la secuencia de ADN.

15 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el vector de expresión comprende la secuencia de ADN
en una orientación sentido y antisentido en relación con dicho promotor.

4. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el vector de expresión
comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un marcador de selección.

20 5. Un método de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicha secuencia de nucleótidos que codifica dicho
marcador de selección está orientada en relación con el promotor o promotores de manera que la transcripción de la
secuencia de nucleótidos en ARN bicatenario se produce tras la unión de un factor de transcripción apropiado a dicho
promotor o promotores.

25 6. Un método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha secuencia de nucleótidos que codifica el marcador
de selección se proporciona entre los promotores idénticos capaces de iniciar la transcripción de la secuencia de
nucleótidos en ARNbc tras la unión del factor de transcripción a los promotores.

30 7. Un método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha secuencia de nucleótidos que codifica el marcador
de selección se proporciona en una orientación sentido y antisentido en relación con el promotor de manera que se
produzca la transcripción de la secuencia de nucleótidos en ARNbc tras la unión del factor de transcripción a dicho
promotor.

35 8. Un método de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5 en el que dicho marcador de selección comprende una
secuencia de nucleótidos que codifica sup-35, para la introducción en *C. elegans* que tiene una mutación pha-1.

9. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho microorganismo o dicho
organismo están adaptados para expresar dicho factor de transcripción.

40 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicho microorganismo o dicho organismo comprende
un vector de expresión que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica dicho factor de transcripción unido
operativamente a secuencias de control de la expresión adecuadas.

45 11. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en el que dicho organismo es *C. elegans*
y dicho microorganismo es *E. coli*.

12. Un método de acuerdo con la reivindicación 11 en el que dicha cepa de *E. coli* es una cepa ARNasa III negativa.

50 13. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicho organismo es un mutante
nuc-1 de *C. elegans*.

14. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que dicho factor de transcripción
es ARN polimerasa T7, T3 o SP6.

55

60

65

FIG. 1.

pGN1

gagtgaccatagcgggtgtaaatccgcacagatgcgtaaggagaaaatccgcatcaggcgaattgtaaacgttaattt
tgtaaaattcgcgtaaatatngraatcagctcattttiaaccaataggccgaaatcggcaaaaicccittataatcaaaagaat
agaccgagataggggtgagtggtccagtttgaacaagagtcactattaagaacgtggactccaacgtcaaaaggcgaa
aaaccgtctatcaggcgatggccactacgtgaacatcacccaaatcaagtttttgcggtcgaggtgccgtaaagctctaaat
cggaaaccctaaaggagccccgatttaggctgacggggaaaagccggcgaacgtggcgagaaagggaaggaaag
cgaaggagcgggcgctaggcgctggcaagtgtagcgggtcacgctgcgctgtaaccaccacacccgccgctaatgcgc
cgctacaggcgcgctcattcggcattcaggctgcgcaactgttgggaaggcgatcggtcgggccccttcgctattaccca
gctggcgaaagggggatgtgctgcaaggcgattaaagttggtaacgccagggtttccagtcacgacgtgtaaaacgacgg
ccagtgaaatgtaatacgaactcactataggcggaattcgagctcggtaaccggggatcctctagagtcgaaagcttctcgcctat
agtgagtcgtaatacagcttgagtaattctatagtgctacctaataagcttggcgtaatcatggctatagctgttctgtgaaattgt
atccgctcacaattccacacaatacagcggcgaagcataaaggtgaaagcctgggggtgcctaatgagtgagctaaactcact
aattgcgttgcgctcactgcccccttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgggggag
aggcggtttgcgtatgggcgctctccgctcctcgtcactgactcgtcgcctcgtcgttggctcggcgagcggatcag
ctcactcaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaaacaatgtgagcaaaaggccagcaaaa
ggccaggaaacctaaaaaggccgcttggcgttttctgalaggetccgccccctgacgagcatcaaaaaatcagcgt
caagtcagaggtgcccgaacccgacaggactataaagataaccaggcgttccccctggaagctcctcgtcgcctcctgtt
cgacctgccgctaccggataacctgtccgcttctccctcgggaagcgtggcgttctcatagctcacgctgtaggtatctca
gttgggtgtagctcgtcgtccaaagctgggctgtgtgcacgaacccccgttcagcccgaaccgctcgccttatccgtaacta
tcgtcttgagtcacaaccggtaagacacgactatcggcactggcagcagccactgtaacaggattagcagagcggaggtatgt
aggcgggtgctacagagttcttgaagtgggtgacctacggctacactagaaggacagatattggtatctcgcctcgtgtaagc
cagttaccttcggaaaaagagttggtagctctgatccggcaaaacaaaccggctggtagcgggtgggtttttgttgaagcagc
agattacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatctttctacggggtctgacgctcagtggaacgaaactcacgt
taagggatitgtcatgagatatacaaaaggatctcactagatccttttaaaftaaaatgaagtttaaatcaatcaaaagtatat
atgagtaaaacttggctgacagttaccaatgcttaacagtagggcacctatctcagcgaatctgtctattcgttcatcatagttgcct
gactccccgtcgtgataaactacgatacgggagggcttaccatctggccccagtgctgcaatgatccgcgagaccacgct

FIG. 1. (CONTINUACIÓN)

caccggctccagattatcagcaataaaccagccagccggaaggcgagcgcagaagtggctcctgcaactttaaccgctcc
atccagctctattaattgttgcagggaagctagagtaagtagttcgccagttaalagtttgcgcaacggttggcaltgctacaggca
tcgltggtgtcacgctcctgctmgttatggcttcattcagctccggtcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatgltgtg
caaaaaagcggtagctcctcggctcctccgatcgttgcagaagtaagttggccgcagtggtatcactcatggttatggcagcact
gcataattccttactgtcatgccatccgtaagatgctttctgtgactggtagtactcaaccaagtcattctgagaalaccgcccc
ggcgaccgagttgctcttgcccggcgtcaatcgggataatagtgtatgacatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaa
cgttctcggggcgaaaactcicaagatctaccgctgttgagatccagttcgtatgtaaccactcgtgacccaactgatctca
gcatctttacttaccagcgttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaagggaataaggcgacacg
gaaatgtgaatactcatactcttctttcaatattattgaagcatttatcaggggttatgtctcatgagcggatacatattgaaatgat
ttgaaaaataaacaataagggttccgcgcacattccccgaaaagtgccactgacgtctaagaaaccattattatcatgacatt
aacctataaaaaataggcgtatcacgagggcccttctgctcgcgcttccggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgacgctcc
cggagacgggtcacagcttctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtcagggcgctgacgggggtgtggcgggt
gtcggggctggcttaactatgcccgcacagagcagattgtactga

FIG. 2.

PGN100

ctagcatgaacacgattaacatcgtctaagaacgacttctctgacatcgaactggctgctatcccgttcaacactctggctgaccatt
acgggtgagcgttagctcgcgaacagttggcccttgagcatgagcttacgagatgggtgaagcacgcttccgcaagatgtttga
gcgtcaactaaagctggtgaggttgggataacgctgccgccaagcctctcatcactaccctactccctaagatgattgcacgc
atcaacgactggttgaggaaagtaagcgtgcaagcggcgaagcggcgaacagcctccagttctgcaagaaatcaagccgga
agcctgagcgtacatcaccattaagaccactctggctgcttaaccagtgctgacaatacaaccgttcaggctgtagcaagcgc
atcggctcggccattgaggacgaggtcgtctcgtctgctatccgtgaccttgaagcactcaagaaaaacggtgaggaa
caactcaacaagcgcgttagggcagcgtctcaagaaagcattatgcaagttgtcaggctgacatgctcttaagggtctactcg
gtggcggggcgtggtctcgtggcataaggaagactctattcatgtaggagtagctgcaicgagatgctcattgagtcaccgg
aatggtagcttacaccgcaaaaagctggcgttaggtcaagactctgagactatcgaactcgcacctgaatcgcctgagggt
atcgaaccctgcaaggtgctgctggctgctctccgatgttcaacctgctgctcctcctaagcctggactggcattac
tgggtgggtattgggctaacggctcgtctcctctgctgctgctgctgctacacagtaagaaagcactgatgctacggaagc
ggttacatgcttgggtgtacaaagcgttaaacattgcgcaaaacaccgcattgaaaatcaacaagaaagtcttagcggctgcc
aacgtaatcaccagtggaagcattgtccggtcgaggacatccctgcgattgagcgtgaagaaactcccgatgaaccgggaaga
catcgacatgaatcctgaggctctcaccgctggaaacgtctgctgctgctgtaccgcaaggacagggctcgcgaagtctc
gccgtatcagcctgagttcatgcttgagcaagccaataagttgctaaccataaggccatctggttcccttacaacatggactggc
gcggtcgtgttacgccgtgcaatgttcaaccgcaaggtaacgatatgaccaaagactgcttacgctggcgaaaggtaac
caatcggtaaggaaaggttactgctgaaatccacgggtgcaaaactgtcgggtgtcgataaagttccgttccctgagcgc
caagttcattgaggaaaaccacgagaacatcatggcttgcgttaaagtctccactggagaacacttgggtgggtgagcaagattct
ccgttctgcttctgcttctgctttagtactcgtgggtacagcaccacggccagctataactgcttcccttccgctggcgtttg
acgggtcttctgcttccagcacttctccgcgatgctccgagatgaggtagggtgctgctggcggnaactgcttcttagtgag
accgttcaggacatctacgggattgtgtcaagaaagtcaacgagattctacaagcagcgaatcaatgggaccgataacgaa
gtagttaccgtgaccgatgagaacactgggtgaaatctcagagaaagtaagctgggactaaaggcactggctgggtcaatggctg
gctcaggtgttactcgcagtgtactaaagcgtcagctcatgacgctggcttacgggtcaaagagttcggctccgtcaacaagt
gctggaagataccattcagccagctattgattccggcaaggggtccgatgttactcagccgaatcaggctgctgatacatggct
aagctgatttgggaatctgtgagcgtgacgggtgtgctgctgggtgaagcaatgaactggcttaagtctgctgctaagctgctgg

FIG. 2. (CONTINUACIÓN 1)

ctgctgaggtcaaagataagaagactggagagattcttcgaagcgttgcgctgtgcattgggtaactcctgatggttccctgtgt
 ggcaggaatacaagaagcciatcagacgcgcttgaacctgatgtcctcggcagttccgcttacagcctaccattaacaccaac
 aaagatagcgagattgatgcacacaaacaggagtctggtatcgctcctaacttgtacacagccaagacggtagccaccttctgia
 agactgtagtgtgggacacagagaagtacggaatcgaatctttgcactgattcacgactccttcggtaccattccggctgacgct
 gcgaacctgtcaaagcagtcgcaaaactatggttgacacataagagtcttctgtatgtactggctgatttctacgaccagttcgt
 gaccagttgcacgagttcaattggacaaaatgccagcacttccggctaaaggtaacttgaacctccgctgacatcttagagtcgg
 acttcgcttgcgtaaccatggtattgatactgagctccgcatcggccgctgtcatcagatcgccatctcgcgcccgtgcctctg
 acttctaagtccaactctcaacatccctacatgctcttctcctgtgctcccaccccctattttgttattatcaaaaaacttctc
 ttaattcttgtttttagcttctttaaagtcaccttaacaatgaaattgtgtagattcaaaaatagaattatctgaataaaaagtcga
 aaaaaattgtgctccctccccattataataaattctatcccaaatctacacaatgttctgtgacacttctatgttttttacttctga
 taatttttttgaacatcatagaaaaaacggcacacaaaafacctatcatatgttacgttcagtttatgaccgcaatttttatttctc
 gcagctcgggctctcatgacgtcaaatcatgctcatcgtgaaaaagtttggagtttttggaaatttcaatcaagtgaaagtta
 tgaaltatttctccttcttcttgggggttccctattgttctcaagagtttcgaggacggcgttttcttctaaaaacacaag
 tattgatgagcagatgcaagaagatcggaaagagtttgggttgaggctcagtggaaggtagtagaagttgataaattgaa
 agtggagtagtctatgggggttctttaaataacagagaatacattcccaatataccaaacataactgttctactagtcggccgt
 acgggccccttctcgtcgcgcttgggtgatgacgggtaaacctctgacacatgagctcccggagacgggtcacagcttct
 gtaagcggatgcccgggagcagacaagcccgtcaggggcgcgtcaggggtgtgggggtgtcggggctggcctaactatgc
 ggcacagagcagattgactgagagtgaccatagcgggtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaaccgcatca
 gggggccttaaggggctcgtgatacgcctattttataggttaattgtcatgataataatggttcttagacgtcaggtggcactttc
 gggaaatgtgcgcggaaccccctatttttctaaatacaatcaaatatgtatccgctcatgagacaataaacctgataaatgct
 tcaataataltgaaaaaggagagtagatgattcaacattcctgtcgccttattccctttttgggcattttgcttctctgtttg
 ctacccagaaacgctgggtaaagtataagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggttcatcgaactggatctcaaca
 gcggttaagatccttgagagtttgcggccgaagaacggtttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatc
 ccgtattgacgcccgggcaagagcaactcgggtcggccatcacactattctcagaatgacttgggtgagtagctcaccagtcaagaa
 aagcatctacggatggcagagacaagagaattatgcaagtgctccataaccatgagtgataaacctcggcccaacttacttct
 gacaacgatcggaggaccgaaaggagctaacccgtttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaacc
 ggagctgaatgaagccataccaacgacgagcgtgacaccagatgctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaa
 ctggcgaactacttctagcttccggcaacaataatagactggatggagggcggataaaagttgcaggaccacttctcgcctc
 ggccctcggctggctggttattgctgataaatctggagccgggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgacgactggggcca
 gatggtaagccctcccgtatcgtagtatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgag
 ataggtgctcactgattaaagcattggttaactgtcagaccaagtttactcatatatacttagattgattaaaaacttatttttaaa
 aggatctaggtgaagatcctttgatattctcatgacaaaatcccttaacgtgagtttctgctcactgagcgtcagaccccgtag
 aaaagatcaaggtatctctgagatcctttttctgcgctaatctgctgcttcaaacaaaaaacaccgctaccagcgggtgg
 ttgttgcgggatcaagagctaccaactctttccgaaggttaactggctcagcagagcgcagataccaataactgtccttctagt
 gtagccgtagttaggccaccactcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctctgctaatcctgttaccagttggctgtgc
 cagtgccgataaagctgtgttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctcgggctgaacggggg
 gttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagcattgagaaagcggccac
 gcttcccgaaggagaaaggcggacaggtatccggttaagcggcagggtcggaaacaggagagcgcacgagggagctcca
 gggggaaaacgctggtatctttatgctctgctgggttccggcactctgacttggagcgtcgtttttgtgagctcgtcagggggg
 cggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggcttctggccttttctggccttttctcactgttcttctcgtt
 atcccctgattctgtgataaaccttaccgctttgagtgagctgataaccgctcggcgcagccgaacgaccgagcgcagcga
 gtcagtgagcaggaagcggaaagagcggcccaatacgcgaaaccgctctcccgcgcttggccgattcattaatgagctgg
 cacgacaggttccgactggaaagcgggagtgagcgcgaacgcaattaatgtgagttagctcactattaggcaccaccaggct
 ttacattatgcttccggctctatgtgtgtgaaattgtgagcggataacaatttcacacaggaacagctatgaccatgattacg
 ccaagcttgcagcctgcaagctgactctagaggatcaagagcatttgaatcagaataggagaacggagcatgagcattttcga
 agtttttagatgcaactagaacaaagcgtgttggcttctctgagcccgcttcttataaccgcattctgacgcttacagaatp**

FIG. 2 (CONTINUACIÓN 2)

ctagaaggctctagatgcatcgtttgaaaatactcccgggtgggtgcaagagacgcagacggaaaatgtatctgggtctttatt
gtgtacctactttccatgtaccgaatgtgagtcgccctccitttgcaacaagcagctcgaatgttctagaaaagggtggaaaata
gtataaataccggtgaaaataaataccgaacaacattgctctaattgtgaaattagaaatcttcaactataatcatctcactggatc
cccgggattggccaaaggacccaagggtatgtttcgaatgatactaacataacatagaacatitfcaggaggacccttgg

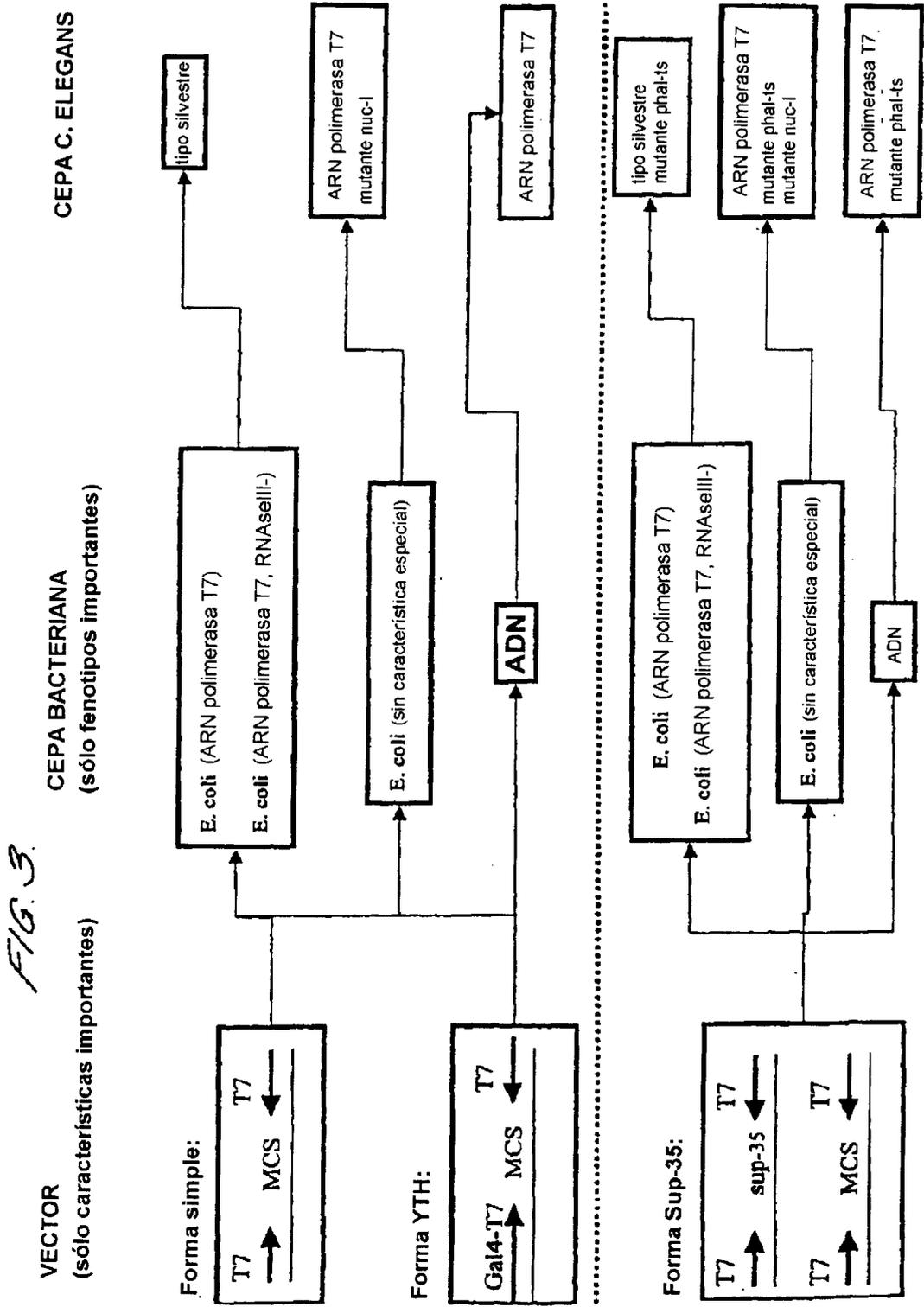


FIG. 4.

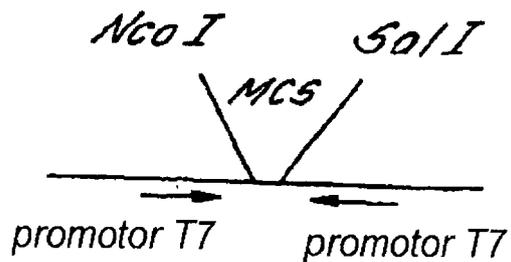
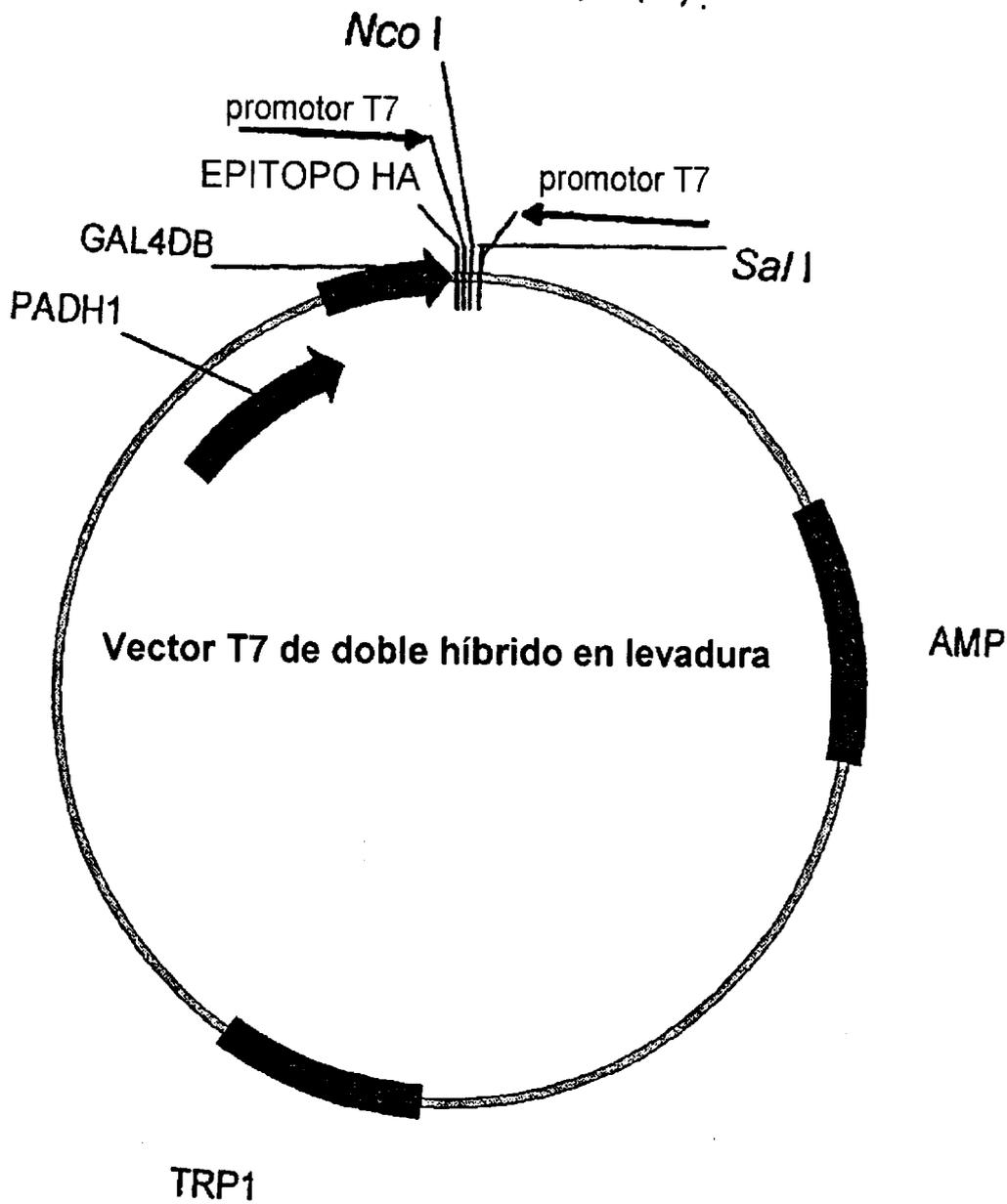


FIG. 5.

Descripción general del vector de expresión de la ARN polimerasa T7 de *C. elegans* con 4 ejemplos

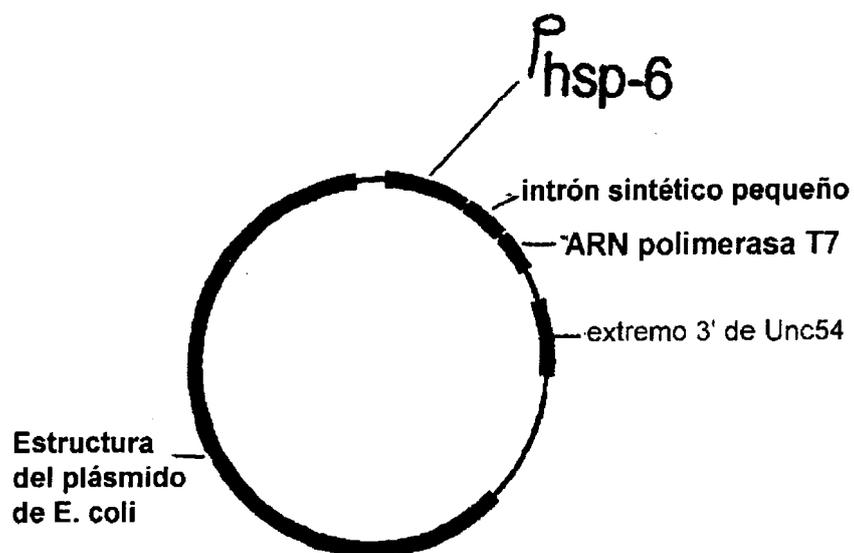


FIG. 5. (CONTINUACIÓN)

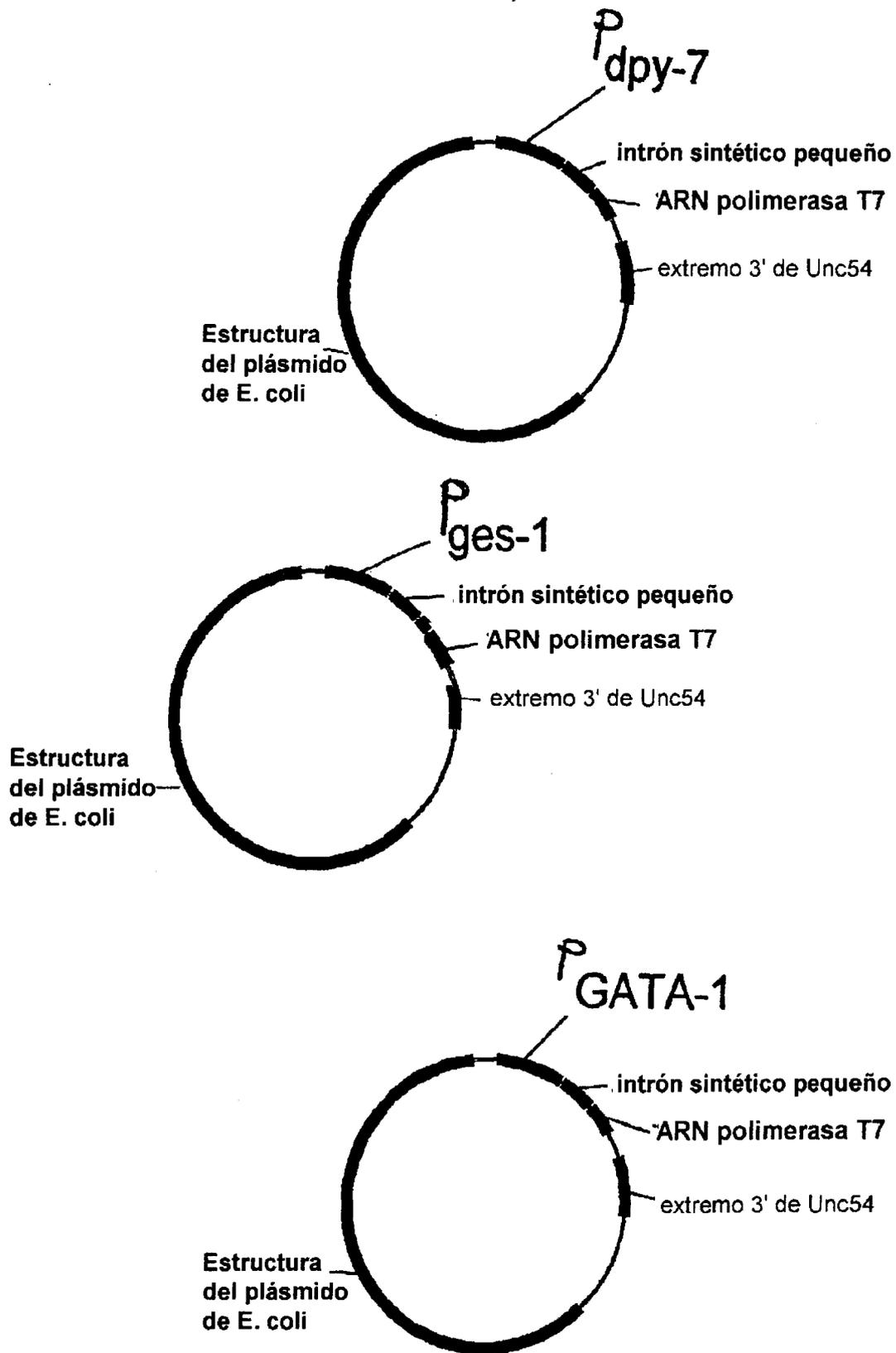


FIG. 6.

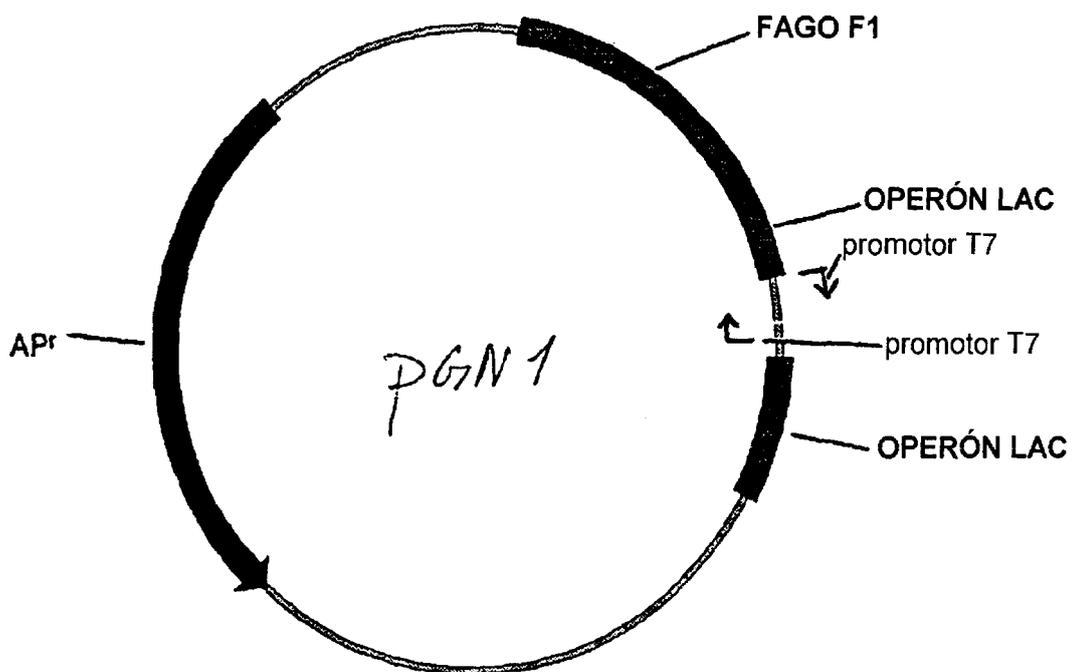
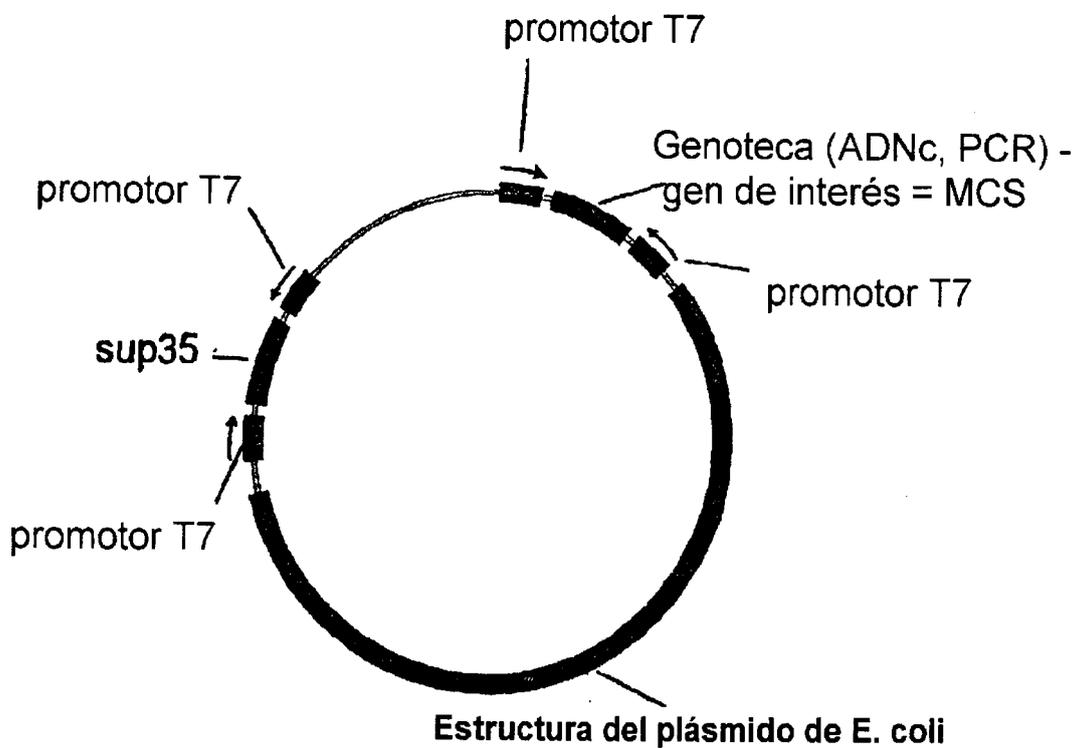


FIG. 7.



vector aumentado para ARNi, que produce ARNbc de sup35 y ARNbc de la genoteca, gen de interés o producto de PCR

FIG. 8.

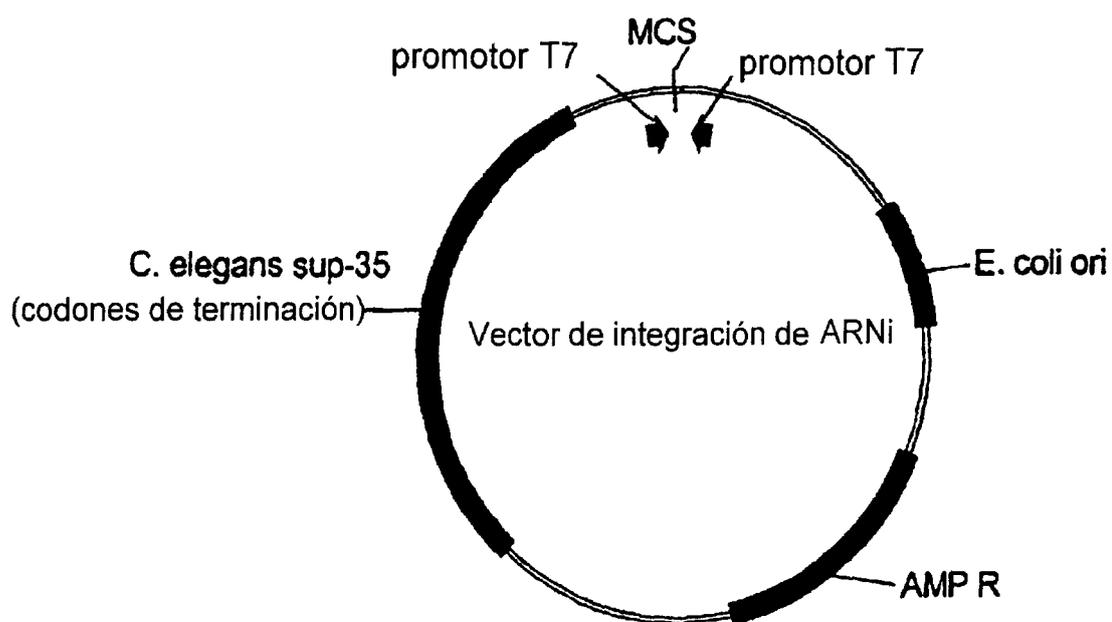


FIG. 9.

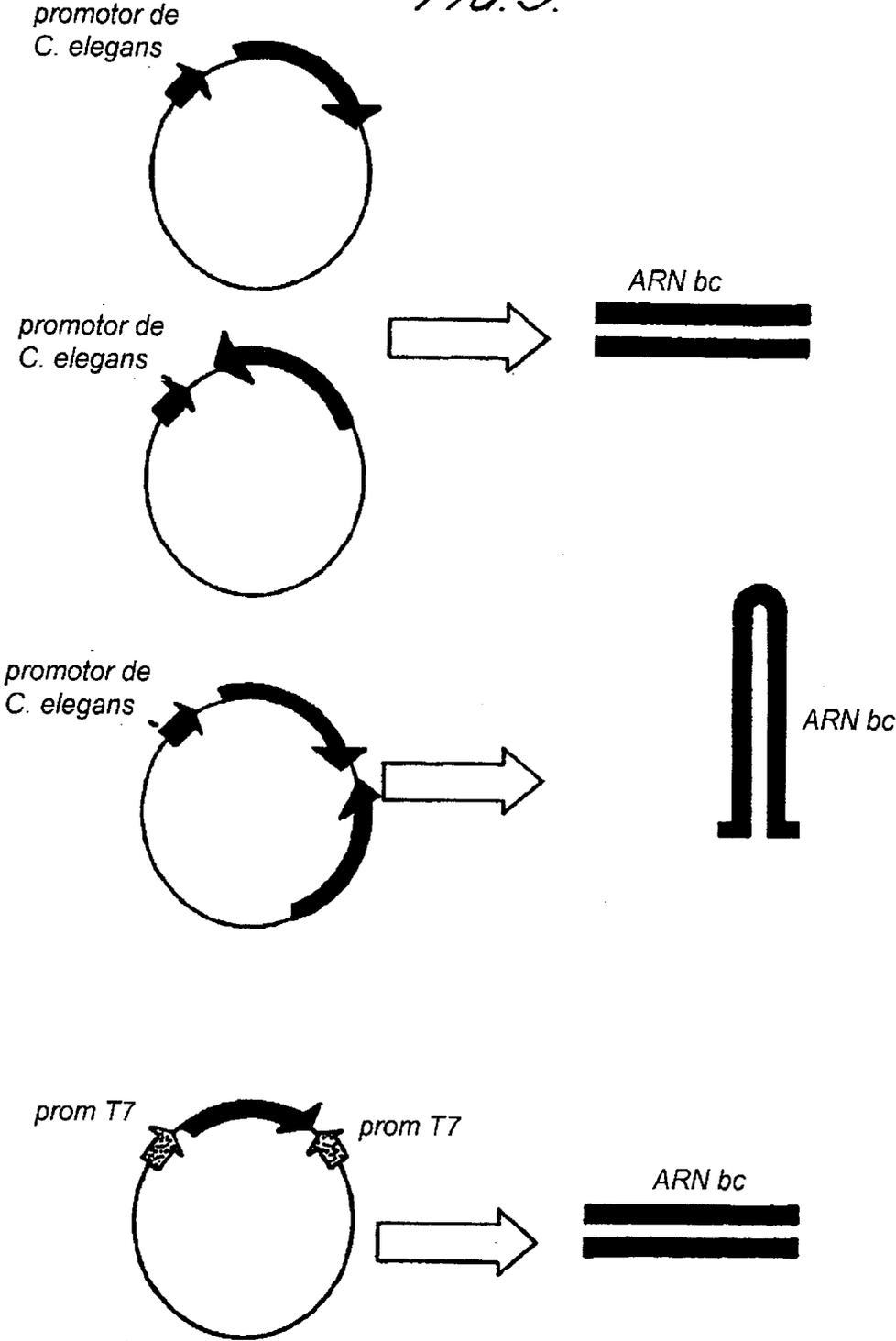


FIG. 10.

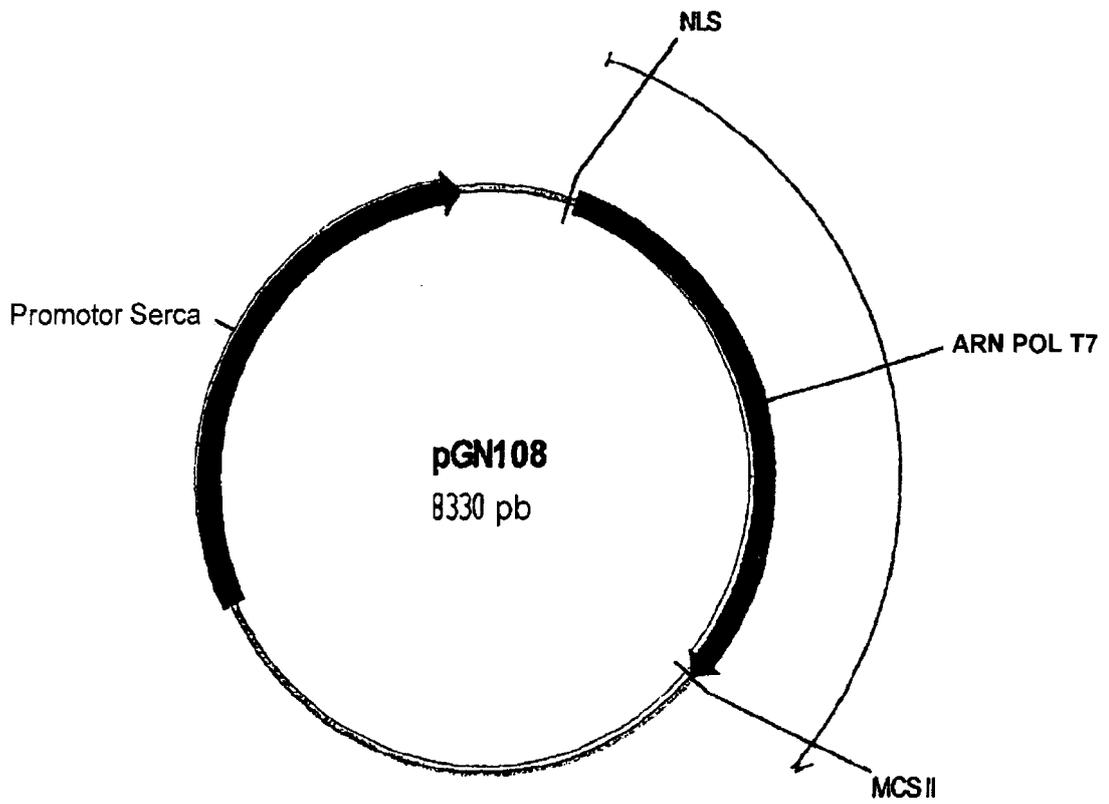
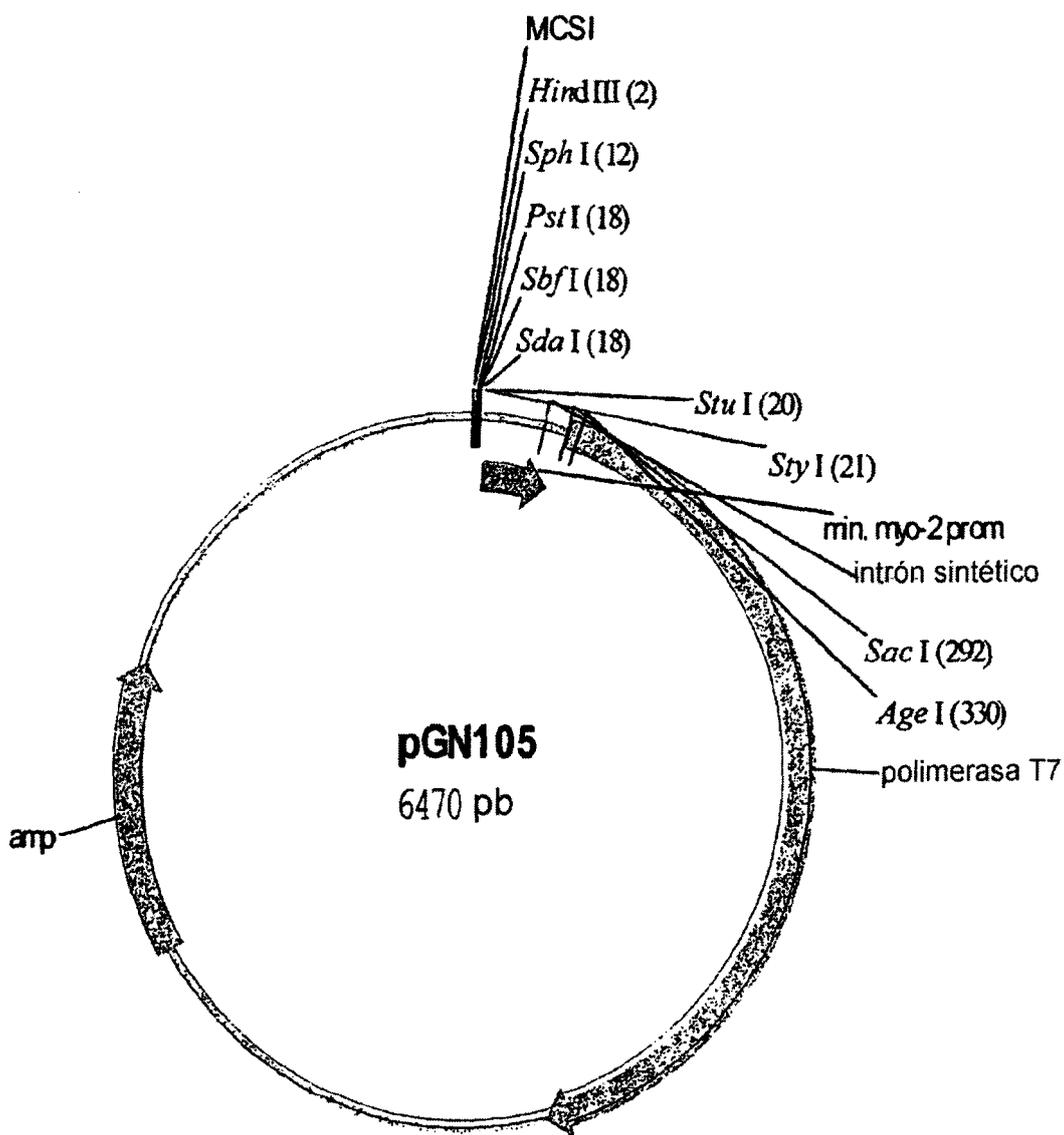


FIG. 11.



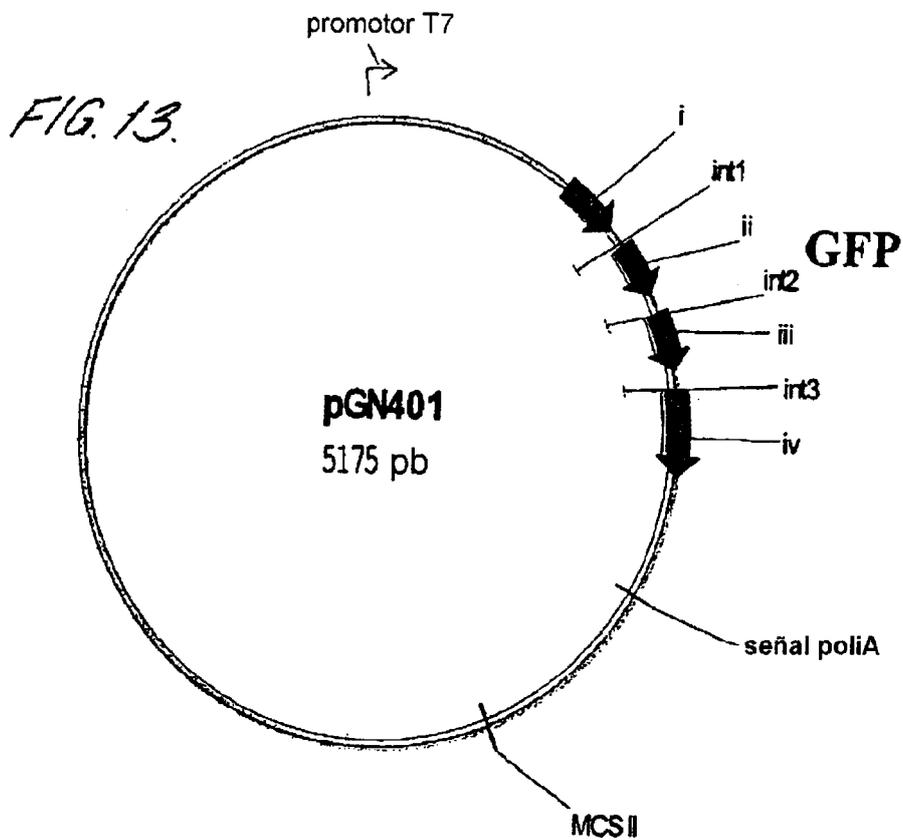
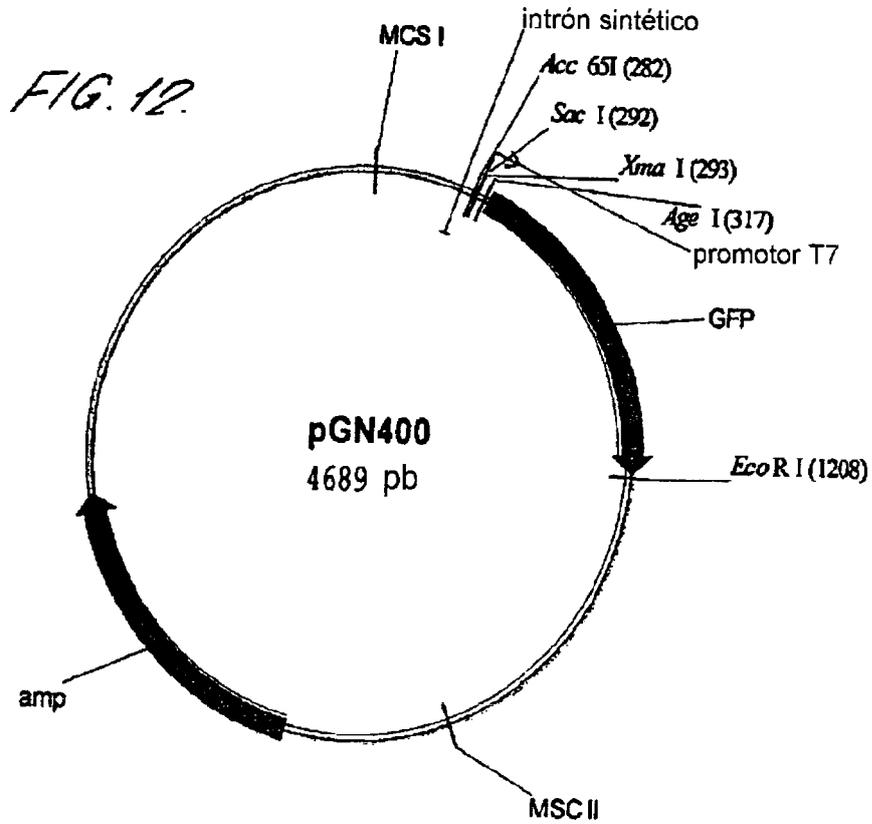


FIG. 14.

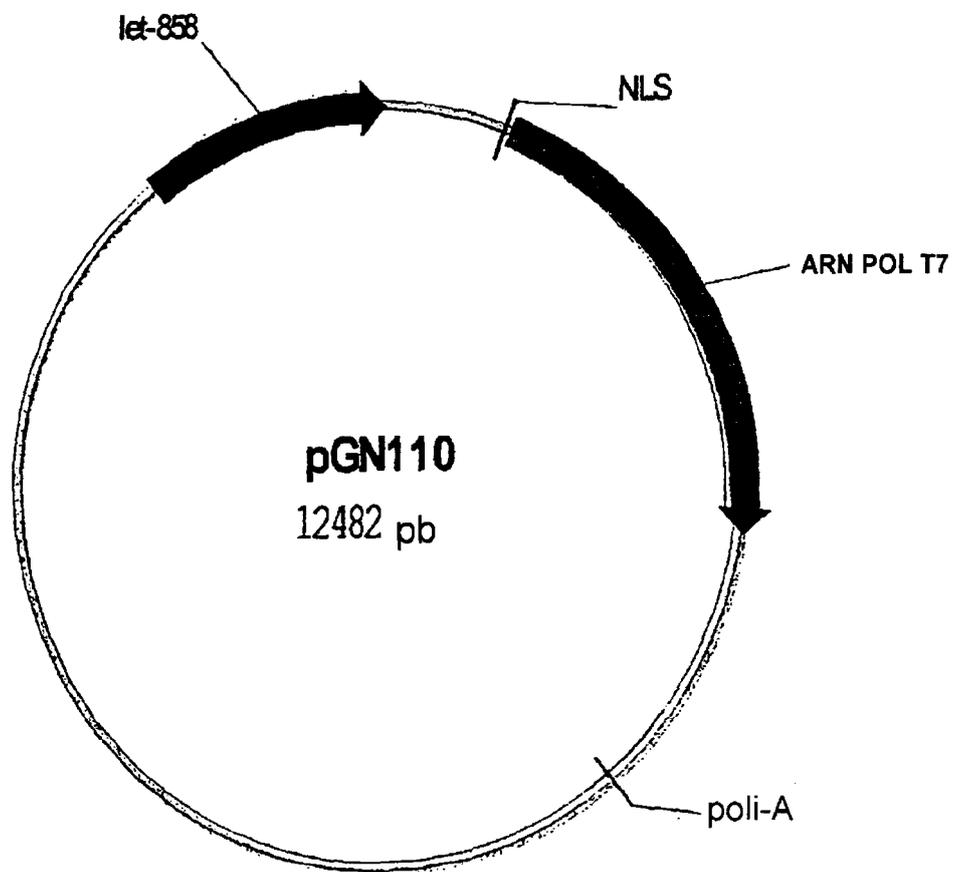


FIG. 15.

pAS2* con T7/T3/Sp6 Directo e Inverso

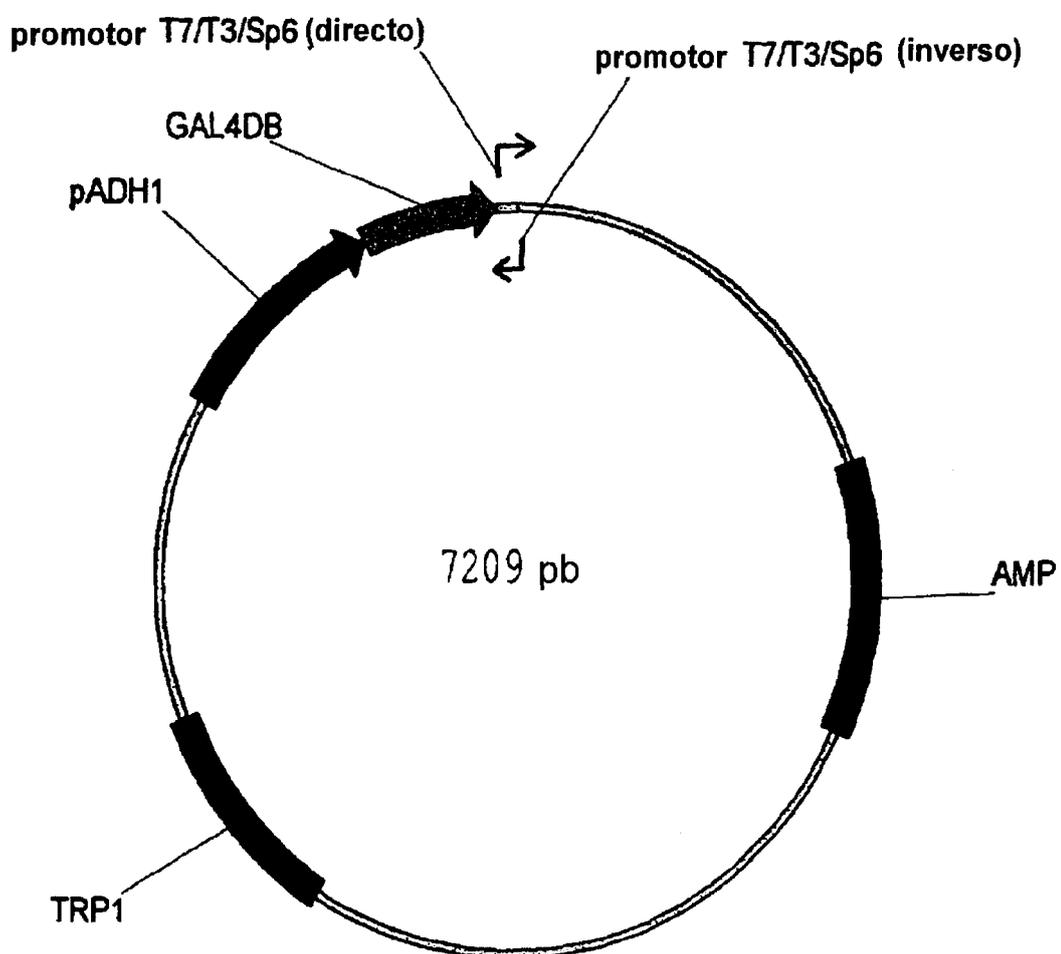


FIG. 16.

pGAD424 con T7/T3/Sp6 Directo e Inverso

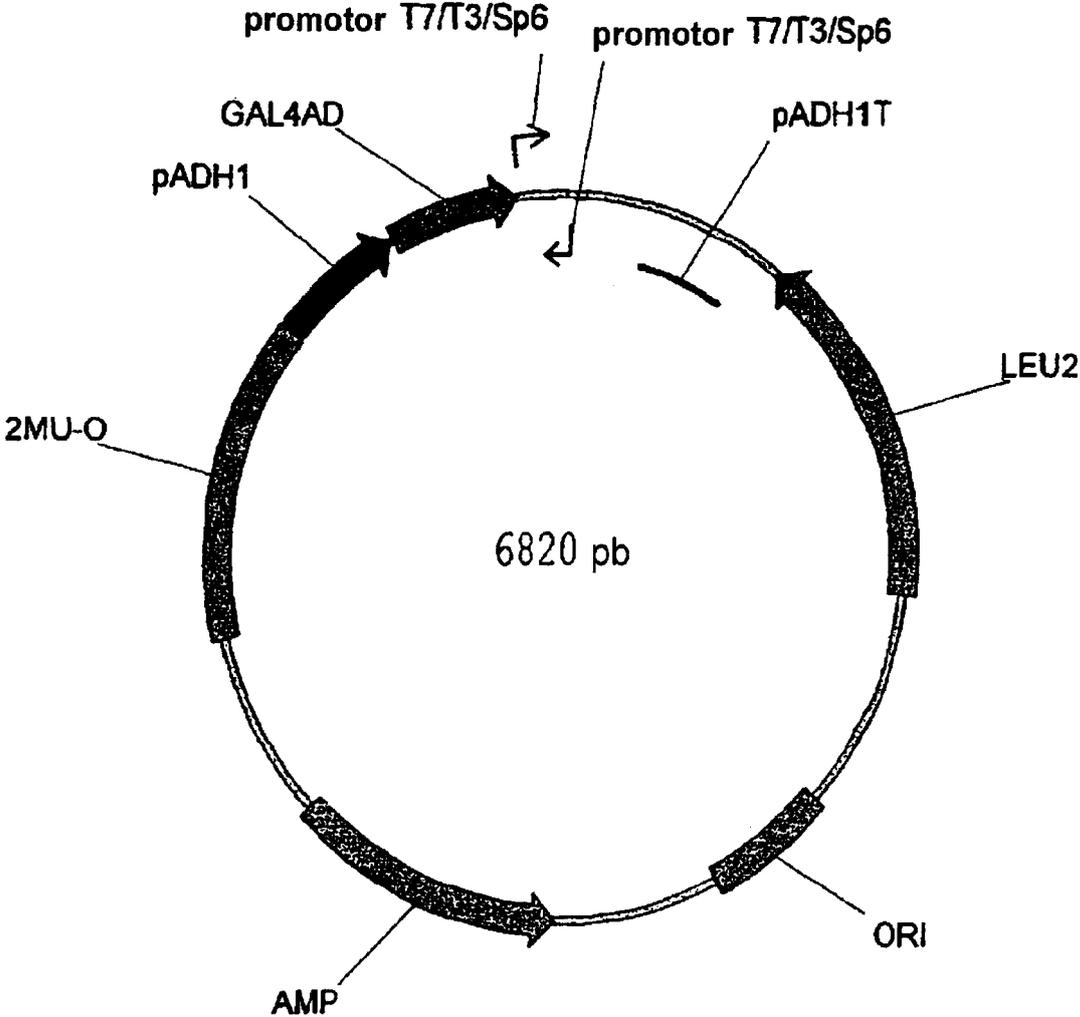


FIG. 17.

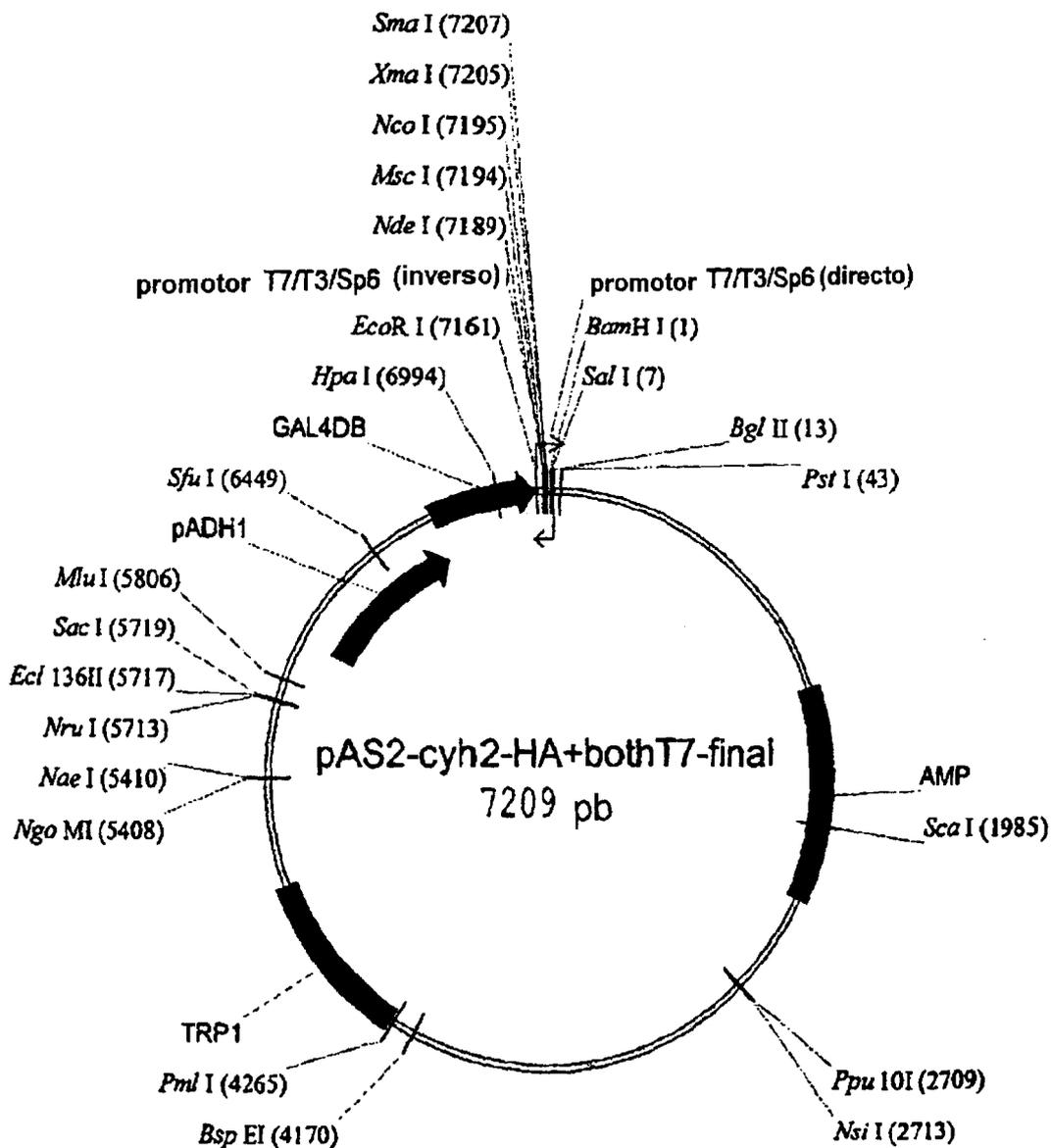


FIG. 18.

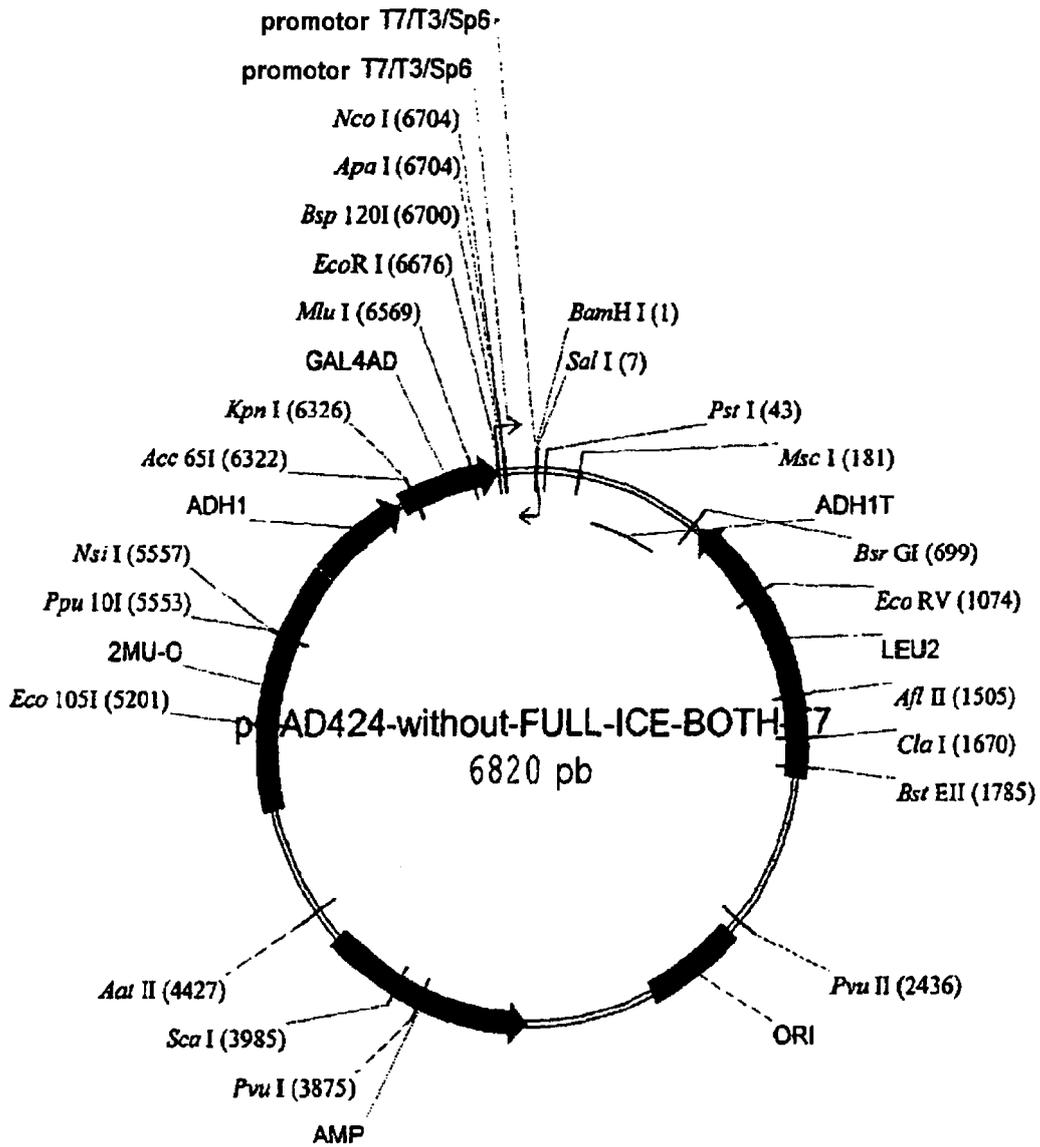
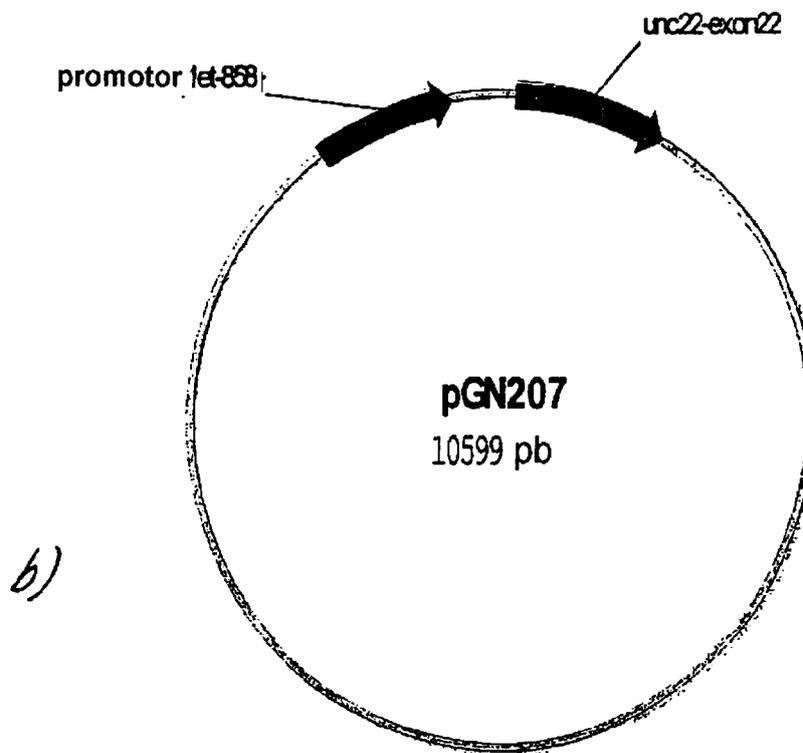
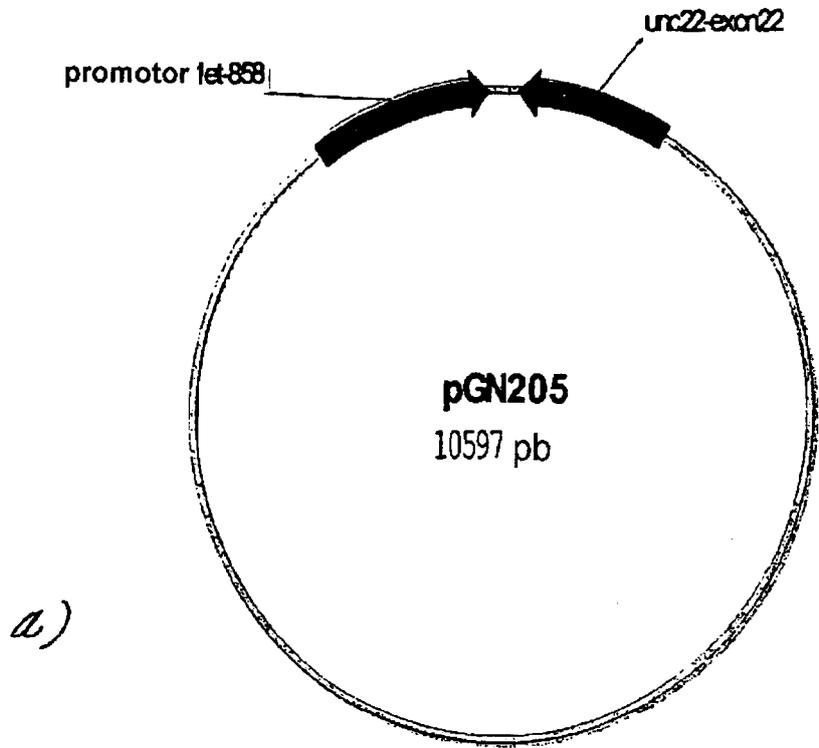


FIG. 19.



ES 2 320 527 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Devgen N. V.

5 <120> Caracterización de la función génica usando inhibición por ARNbc

<130> 50897/408

10 <140> 99932836.2
<141> 02-07-1999

<150> GB 9814536.0

15 <151> 03-07-1998

<150> GB 9827152.1

20 <151> 09-12-1998

<160> 11

<170> PatentIn Ver. 2.0

25 <210> 1
<211> 3216
<212> ADN

30 <213> Secuencia Artificial

<220>

35 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 1

40 gagtgcacca tatgCGgtgt gaaataccgc acagatgcgt aaggagaaaa taccgcatca 60
 ggcgaaattg taaacgtaa tttttgtta aaattcgcgt taaatatttg taaatcagc 120
 tcatttttta accaataggc cgaatcggc aaaatccctt ataatcaaa agaatagacc 180
45 gagatagggg tGagTgttGt tccagtttgg aacaagagtc cactattaa gaacgtggac 240
 tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gccactacg tgaaccatca 300
 cccaaatcaa gttttttgCG gtcgaggtgc cgtaaagctc taaatcggaa ccctaaaggg 360
 agccccgat ttagagcttg acggggaaaag cggcgaaacg tggcgagaaa ggaagggag 420
50 aaagcgaaag gagcgggcgc tagggcgcgt gcaagtgtag cggtcacgct gcgcgtaacc 480
 accacaccCG ccgcgcttaa tgcgccgcta cagggcgcgt ccattcgcca ttcaggtgc 540
 gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag 600
 gggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttccag tcacgacgtt 660
55 gtaaacgac ggccagtGaa ttgtaatacG actcactata gggcgaattc gagctcggta 720
 cccgggatc ctctagagtc gaaagcttct cgccctatag tgagtcgtat tacagcttga 780
 gtattctata gtgtcaecta aatagcttgg cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgtgt 840
60 gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacGagc cggaagcata aagtgtaaag 900
 cctgggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgcccgctt 960
 tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag 1020

65

ES 2 320 527 T3

```

gCGGtttgCG tAttgggCGc tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg cGctcggctg 1080
ttcggctgCG gCGagcggta tcagctcact caaaggcggT aatAcggtta tccAcagaat 1140
caggggataa cGcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta 1200
5 aaaaggccgc gttgctggcg ttttccgata ggctccgccc cctgacgag catcAcaaaa 1260
atcgacgctc aagtcagagg tggcgaAACc cGacaggact ataaagatac caggcgtttc 1320
cccctggaag ctccctcgTg cGctctctcTg ttccgaccct gccGcttacc ggatacctgt 1380
10 ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctCacgctgt aggtatctca 1440
gttgggtgta ggtcgTtcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccG 1500
accgctgcgc ctatccggT aactatcGtc ttgagTccaa cccggtaaga cagcacttat 1560
cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggTgcta 1620
15 cagagttctt gaagtggTgg cctaactacg gctacactag aaggacagta tttggTatct 1680
gCGctctgct gaagccagtt accttcgga aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac 1740
aaaccaccgc tggtagcggT ggtttttttg tttgcaagca gcagattaCG cgcagaaaaa 1800
20 aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggTc tgacgctcag tggAACgaaa 1860
actcaggtta agggatTTTg gTcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt 1920
taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggTctgaca 1980
25 gttaccaatg cttaatcagT gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt cgttcaccca 2040
tagttgctg actccccgTc gtgtagataa ctacgatacG ggagggtta ccatctggcc 2100
ccagTgctgc aatgataccG cGagacceac gTcaccggc tccagattta tcagcaataa 2160
accagccagc cGgaaggGcc gagcgcagaa gtggTcctgc aactttatcc gcctccatcc 2220
30 agTctattaa ttgtTcccgG gaagctagag taagtagTtc gccagTtaat agttTgcgca 2280
acgtTgttgG cattgctaca ggcacgTgg tGtcacgctc gTcgtttggT atggcttcat 2340
tcagctccgG ttcccaacga tcaaggcGag ttacatgatc ccccatgTtG tgcaaaaaag 2400
cggTtagctc ctTcggtcct ccgatcgtTg tcagaagtaa gTtggccgca gTgttatcac 2460
35 tcatggTtat ggCagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt 2520
ctgtgactgg tgagtactca accaagTcat tctgagaata ccGcgcccGg cGaccgagtt 2580
gctctTgccc ggcgTcaata cgggataata gTgtatgaca tagcagaact ttaaagTgc 2640
40 tcatcattgg aaaaCGttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccG ctgttgagat 2700
ccagTtcgat gtaaccact cgtgcaccca actgatcttc agcatctttt actttacca 2760
gCGtttctgG gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgcGc aaaaaggga ataaggGcga 2820
cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg 2880
45 gttattgtct catgagcGga tacatattTg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg 2940
ttccGcgcac atttccccga aaagTgccac ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga 3000
cattaacctA taaaaatagg cgtatcacga ggcctttcg tctcGcgctt ttcggTgatg 3060
50 acggTgaaaa cctctgacac atgcagctcc cGgagacggT cacagctTgt ctgtaagcGg 3120
atgcGgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgtTggcggg tGtcggggct 3180
ggcttaactA tGcgGcatca gagcagattg tactga 3216

```

55

<210> 2

<211> 6460

<212> ADN

60

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

65

ES 2 320 527 T3

<400> 2

ctagcatgaa cacgattaac atcgttaaga acgacttctc tgacatcgaa ctggctgcta 60
tcccgttcaa cactctggct gaccattacg gtgagcggtt agctcgcgaa cagttggccc 120
5 ttgagcatga gtcttacgag atgggtgaag cacgcttccg caagatgttt gagcgtcaac 180
ttaaagctgg tgaggttgcg gataacgctg ccgccaagcc tctcatcact accctactcc 240
ctaagatgat tgcacgcctc aacgactggg ttgaggaagt gaaagctaag cgcggcaagc 300
10 gcccgcacgc cttccagttc ctgcaagaaa tcaagccgga agccgtagcg tacatcacca 360
ttaaagaccac tctggcttgc ctaaccagtg ctgacaatac aaccgttcag gctgtagcaa 420
gcgcaatcgg tccggccatt gaggacgagg ctcgcttcgg tcgtatccgt gacctggaag 480
ctaagcactt caagaaaaac gttgaggaac aactcaacaa gcgcgtaggg cacgtctaca 540
15 agaaagcatt tatgcaagtt gtcgaggtcg acatgctctc taagggtcta ctcggtggcg 600
aggcgtggtc ttcgtggcat aaggaagact ctattcatgt aggagtacgc tgcctcgaga 660
tgctcattga gtcaaccgga atggttagct tacaccgcca aaatgctggc gtagttagtc 720
aagactctga gactatcgaa ctcgcacctg aatcgcctga ggctatcgca acccgtgcag 780
20 gtgcgctggc tggcatctct ccgatgttcc aaccttgcgt agttcctcct aagccgtgga 840
ctggcattac tgggtggggc tattgggcta acggctcgtc tctctggcg ctggtgcgta 900
ctcacagtaa gaaagcactg atgcgctacg aagacgttta catgcctgag gtgtacaaag 960
cgattaacat tgcgcaaaac accgcatgga aaatcaacaa gaaagtccta gcggtcgcca 1020
25 acgtaatcac caagtggaag cattgtcccg tcgaggacat ccctgcgatt gagcgtgaag 1080
aactcccgat gaaaccggaa gacatcgaca tgaatcctga ggctctcacc gogtggaaac 1140
gtgctgcccgc tegtgtgtac cgcaaggaca gggctcgcaa gtctcgcctg atcagccttg 1200
30 agttcatgct tgagcaagcc aataagtttg ctaaccoataa ggccatctgg ttcoccttaca 1260
acatggactg gcgcggtcgt gtttacgccc tgtcaatgtt caaccocgaa ggtaacgata 1320
tgaccaaagg actgcttacg ctggcgaaag gtaaaccaat cggttaaggaa ggttactact 1380
ggctgaaaat ccacgggtgca aactgtgogg gtgtcgataa ggttccgttc cctgagcgca 1440
35 tcaagttcat tgaggaaaac cacgagaaca tcatggcttg cgctaagtct ccactggaga 1500
acacttggtg ggctgagcaa gattctccgt tctgcttcc tgcgttctgc tttgagtagc 1560
ctgggtgaca gcaccacggc ctgagctata actgctccct tccgctggcg tttgacgggt 1620
cttgcctgg catccagcac ttctccgca tgctccgaga tgaggtaggt ggtcgcgcgg 1680
40 ttaacttget tcttagtgag accgttcagg acatctacgg gattgttget aagaaagtca 1740
acgagattct acaagcagac gcaatcaatg ggaccgataa cgaagtagtt accgtgaccg 1800
atgagaacac tggtgaaatc tctgagaaag tcaagctggg cactaaggca ctggctggtc 1860
aatggctggc tcacgggtgtt actcgcagtg tgactaagcg ttcagtcctg acgctggctt 1920
45 acgggtccaa agagttcggc ttccgtcaac aagtgtgga agataccatt cagccagcta 1980
ttgattccgg caagggtccg atgttctact agccgaatca ggctgctgga tacatggcta 2040
agctgatttg ggaatctgtg agcgtgacgg tggtagctgc ggttgaagca atgaactggc 2100
50 ttaagtctgc tgctaagctg ctggctgctg aggtcaaaga taagaagact ggagagattc 2160
ttcgcaagcg ttgcgctgtg cattgggtaa ctctgatgg tttccctgtg tggcaggaat 2220
acaagaagcc tattroagcg cgcttgaacc tgatgttcc cggctcagttc cgcttacagc 2280
ctaccattaa caccaacaaa gatagcgaga ttgatgcaca caaacaggag tctggtatcg 2340
55 ctctaaactt tgtacacagc caagacggta gccaccttcg taagactgta gtgtgggcac 2400
acgagaagta cggaatcgaa tcttttgca tgattcacga ctcttcgggt accattccgg 2460
ctgacgctgc gaacctgttc aaagcagtcg gcgaaactat ggttgacaca tatgagtctt 2520
gtgatgtact ggctgatttc tacgaccagt tcgctgacca gttgcacgag totcaattgg 2580
60 acaaaatgcc agcacttccg gctaaaggta acttgaacct ccgtgacatc ttagagtcgg 2640
acttcgcgtt cgcgtaacca tggattgat atctgagctc cgcctcggcc gctgtcatca 2700
gatcgcctc tcgcgcccgt gctctgact tctaagtcca attactcttc aacatcccta 2760
catgctcttt ctccctgtgc tcccacccc tatttttgg attatcaaaa aaacttcttc 2820
65 ttaatttctt tgttttttag cttcttttaa gtcacctcta acaatgaaat tgtgtagatt 2880
caaaaataga attaattcgt aataaaaagt cgaaaaaat tgtgctccct ccccccatta 2940

ES 2 320 527 T3

ataataatc tatcccaaaa totacacaat gttctgtgta cacttcttat gtttttttta 3000
 cttctgataa attttttttg aaacatcata gaaaaaacgg cacacaaaat accttatcat 3060
 5 atgttacgtt tcagtttatg accgcaattt ttatttcttc gcacgtctgg gcctctcatg 3120
 acgtcaaatc atgctcatcg tgaaaaagtt ttggagtatt ttggaattt ttcaatcaag 3180
 tgaaagttha tgaaattaat ttctctgctt ttgctttttg ggggtttccc ctattggttg 3240
 tcaagagttt cgaggacggc gtttttcttg ctaaaatcac aagtattgat gagcacgatg 3300
 10 caagaaagat cggagaagg tttgggtttg aggctcagtg gaaggtgagt agaagtgat 3360
 aatttgaaag tggagtagtg tctatggggg ttttgcccta aatgacagaa tacattcca 3420
 atataccaaa cataactggt tctactagt cggccgtacg ggccttttcg tctcgcgct 3480
 ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggc cacagcttgt 3540
 15 ctgtaagcgg atgcogggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tqtggcggg 3600
 tgtcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt gcaccatag 3660
 cgggtgtaaa tacgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcagcg gccttaaggg 3720
 cctcgtgata cgctattht tataggttaa tgcctatgata ataatggtt cttagacgtc 3780
 20 aggtggcact ttccggggaa atgtgcgcgg aaccttatt tgtttattht tctaaataca 3840
 ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata acctgataa atgottcaat aatattgaaa 3900
 aaggagagt atgagtattc aacatttccg tctcgcctt attcctttt ttgocgctt 3960
 ttgccttctt gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca 4020
 25 gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaec agcggtaaga tcttgagag 4080
 ttttcgcccc gaagaacggt tccaatgat gagcacttt aaagttctgc tatgtggcgc 4140
 ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcggc cgcgcatac actattctca 4200
 gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttaocgatg gcatgacagt 4260
 30 aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggcca acttacttct 4320
 gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgttttttg cacaacatgg gggatcatgt 4380
 aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaaacg acgagcgtga 4440
 35 caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac gttgcgcaa ctattaactg gcgaactact 4500
 tactctagct tccggcaac aattaataga ctggatggag gccgataaag ttgcaggacc 4560
 acttctgcgc tcggccttc cggctgctg gtttattget gataaatctg gagccgggtga 4620
 gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact gggccagat ggtaagccct cccgtatcgt 4680
 40 agttatctac acgacgggga gtcaggcaac fatggatgaa cgaatagac agatcgtgta 4740
 gataggtgcc tcaactgatta agcattggta actgctcagc caagtttact catatatact 4800
 ttagattgat ttaaaacttc atthttaatt taaaaggatc taggtgaaga tctttttga 4860
 taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcttc cactgagcgt cagacccctg 4920
 45 agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca 4980
 aacaaaaaaa ccaccgctac cagcgtggt ttgtttgccc gatcaagagc taccactct 5040
 ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc ttctagtga 5100
 gcogtagtta ggcaccact tcaagaactc tglagaccg cctacatacc tgcctctgct 5160
 50 aatcctgtha ccagtggctg ctgccagtg cgataagtct tctcttaccg ggttgactc 5220
 aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acggggggtt cgtgcacaca 5280
 gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg aqattgaga 5340
 55 aagcggcagc cttcccgaag ggagaaaggg ggacaggtat ccggttaagcg gcagggctcg 5400
 aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc tggatcttt atagctctgt 5460
 cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg attttttga tgcctctcag gggggcggag 5520
 cctatgaaa aacgccagca acgcccctt ttacggttc ctggccttt gctggccttt 5580
 60 tgcctacatg ttcttctctg cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgctt 5640
 tgagtgagct gataccgctc gccgcagcgg aacgaccgag cgcagcagat cagtgagcga 5700
 ggaagcggaa gagcgcctaa tacgcaaacc gctctcccc gcggttggc cgattcatta 5760
 atgcagctgg cacgaaggt ttccgactg gaaagcggc agtgagcga acgcaattaa 5820

65

ES 2 320 527 T3

```

tgtgagttag ctcactcatt aggcacccca ggctttacac tttatgcttc cggctcgtat 5880
gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg accatgatta 5940
cgccaagcctt gcatgcctgc aggtcgactc tagaggatca agagcatttg aatcagaata 6000
5 tggagaacgg agcatgagca ttttcgaagt tttttagatg cactagaaca aagcgtgttg 6060
gcttcctctg agcccgttt ccttatatac ccgcattctg cagccttaca gaatgttcta 6120
gaaggtccta gatgcattcg tttgaaaata ctcccgggtg gtgcaaagag acgcagacgg 6180
aaaatgtatc tgggtctctt tattgtgtac actacttttc catgtaccga atgtgagtcg 6240
10 ccctcctttt gcaacaagca gctcgaatgt tctagaaaaa ggtggaaaat agtataaata 6300
ccgttgaaaa taaataccga acaacatttg ctctaattgt gaaattagaa atcttcaaac 6360
tataatcatc tcactggatc cccgggattg gccaaaggac ccaaaggatg gtttcgaatg 6420
15 atactaacat aacatagaac attttcagga ggacccttgg 6460

```

<210> 3

<211> 8330

20 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 3

```

30 gttgtcgtaa agagatgttt ttattttact ttacaccggg tcctctctct ctgccagcac 60
agctcagtggt tggctgtgtg ctcgggctcc tgccaccggc ggctcctctt tcttctcttt 120
cttctctcct gctctcgttt atcacttctt cattcattct tattcctttt catcatcaaa 180
ctagcatttc ttacttttatt tatttttttc aattttcaat tttcagataa aaccaaacta 240
35 cttgggttac agccgtcaac agatccccgg gattggccaa aggacccaaa ggtatgtttc 300
gaatgatact aacataacat agaacatttt caggaggacc cttgcttggg gggtagccga 360
tgactgctcc aaagaagaag cgtaagctca tgaacacgat taacatcgct aagaacgact 420
40 tctctgacat cgaactggct gctatcccgt tcaacactct ggctgacctt tacggtgagc 480
gtttagctcg cgaacagttg gcccttgagc atgagtctta cgagatgggt gaagcacgct 540
tccgcaagat gtttgagcgt caacttaaag ctgggtgagg tgccggataac gctgccgcca 600
agcctctcat cactacccta ctccctaaga tgattgcaag catcaacgac tggtttgagg 660
45 aagtgaaagc taagcgcggc aagcgcgccg cagccttcca gttcctgcaa gaaatcaagc 720
cggaaagcgt agcgtacatc accattaaga ccaactctggc ttgcctaacc agtgctgaca 780
atacaaccgt tcaggctgta gcaagcgaac tcggctgggc cattgaggac gaggctcgtc 840
50 tcggctcgtat ccgtgacctt gaagctaagc acttcaagaa aaacggtgag gaacaactca 900
acaagcgcgt agggcacgct tacaagaaag catttatgca agttgtcgag gctgacatgc 960
tctctaaggg tctactcggg gccgagggct ggtctctctg gcataaggaa gactctattc 1020
atgtaggagt acgctgcctc gagatgctca ttgagtcaac cggaatggtt agcttacacc 1080
55 gccaaaatgc tggcgtagta ggtcaagact ctgagactat cgaactcgca cctgaataacg 1140
ctgaggctat cgcaaccctg gcaggtgccc tggctggcat ctctccgatg ttccaacctt 1200
gcgtagttcc tcctaagccg tggactggca ttactggtgg tggctattgg gctaacggctc 1260
60 gtcgtcctct ggcgctggtg cgtactcaca gtaagaaagc actgatgccc tacgaagacg 1320
ttacatgcc tgagggtgtc aaagcgatta acattgccc aaacaccgca tggaaaatca 1380
acaagaaagt cctagcggtc gccaacgtaa tcaccaagtg gaagcattgt ccggctcaggg 1440
acatccctgc gattgagcgt gaagaactcc cgatgaaacc ggaagacatc gacatgaatc 1500
65 ctgaggctct caccgcgtgg aaacgtgctg ccgctgctgt gtaccgcaag acaaggctcg 1560
caagtctcgc cgtatcagcc ttgagttcat gcttgagcaa gccataagt ttgctaacca 1620

```

ES 2 320 527 T3

taaggccatc tggttccctt acaacatgga ctggcgcggg tcgtgtttac gctgtgtcaa 1680
 tgttcaaccc gcaaggtaac gatatgacca aaggacgtct tacgctggcg aaaggtaaac 1740
 caatcggtaa ggaaggttac tactggctga aatccacgg tcaaaactgt gcgggtgtcg 1800
 5 ataaggtttc gtttctgag cgcataaagt tcattgagga aaaccacgag aacatcatgg 1860
 cttgcgctaa gtctccactg gagaacactt ggtgggctga gcaagattct cggttctgct 1920
 tcottgcgtt ctgctttgag tacgctgggg tacagcacca cggcctgagc tataactgct 1980
 10 ccottccgct ggcgcttgac gggctctgct ctggcatcca gcacttctcc gcgatgctcc 2040
 gagatgaggt aggtggtcgc gcggttaact tgcttcctag tgaaccggtt caggacatct 2100
 acgggattgt tgctaagaaa gtcaacgaga ttctgcaagc agacgcaatc aatgggaccg 2160
 ataacgaagt agttaccgtg accgatgaga aactcgtgta aatctctgag aaagtcaagc 2220
 15 tgggcactaa ggcactggct ggtcaatggc tggcttacgg tgttactcgc agtgtgacta 2280
 agcgttcagt catgacgctg gcttacgggt ccaaagagtt cggcttccgt caacaagtgc 2340
 tggaagatac cattcagcca gctattgatt cggcaaggg tctgatgttc actcagccga 2400
 atcaggctgc tggatacatg gctaagctga tttgggaatc cgtgagcgtg acgggtgtag 2460
 20 ctgcggttga agcaatgaac tggcttaagt ctgctgctaa gctgctggct gctgaggtea 2520
 aagataagaa gactggagag attcttcgca agcgttgccg tgtgcattgg gtaactcctg 2580
 atggtttccc tgtgtggcag gaatacaaga agcctattca gacgcgcttg aacctgatgt 2640
 tctcggctca gttccgctta cagcctacca ttaacaccaa caaagatagc gagattgatg 2700
 25 cacacaaaac ggagtctggt atcgctccta actttgtaca cagccaagac ggtagccacc 2760
 ttcgtaagac tgtagtgtgg gcacacgaga agtacggaat cgaatctttt gcaactgattc 2820
 acgactcctt cggtaaccatt ccggctgacg ctgcgaacct gttcaaagca gtgcgcgaaa 2880
 ctatggttga cacatatgag tcttgtgatg tactggctga tttctacgac cagttcctgtg 2940
 30 accagttgca cgagtctcaa ttggacaaaa tgccagcact tccggctaaa ggtaacttga 3000
 acctccgtga catcttagag tcggacttcg cgttcgcgta agggcccact agtcggccgt 3060
 acgggcccctt tcgtctcgcg cgtttcggtg atgacgggta aaacctctga cacatgcagc 3120
 35 tcccggagac ggtcacagct tgtctgtaag cggatgccgg gacgagacaa gcccgctcagg 3180
 gcgcgtcagc ggggtttggc ggggtctggg gctggcttaa ctatgoggca tcagagcaga 3240
 ttgtactgag agtgcaccat atgcgggtgtg aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat 3300
 accgcatcag gcggccttaa gggcctcgtg atacgcctat ttttataggt taatgtcatg 3360
 40 ataataatgg tttcttagac gtcagggtgc acttttcggg gaaatgtgcg cggaaacctt 3420
 atttgtttat ttttctaat acattcaaat atgtatccgc tcatgagaca ataacctga 3480
 taaatgcttc aataatattg aaaaaggaag agtatgagta ttcaacattt ccgtgtcgc 3540
 45 cttattccct tttttgcggc attttgctt cctgtttttg ctcaccaga aacgctgggtg 3600
 aaagtaaaag atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtgg gttacatcga actggatctc 3660
 aacagcggta agatccttga gagttttcgc ccgaagaac gttttccaat gatgagcact 3720
 tttaaagttc tgctatgtgg cgcggtatta tccogtattg acgcccggca agagcaactc 3780
 50 ggtcgcgca tacactattc tcagaatgac ttggttgagt actcaccagt cacagaaaag 3840
 catcttacgg atggcatgac agtaagagaa ttatgcagtg ctgccataac catgagtgat 3900
 aacactgcyg ccaacttact tctgacaacg atcggaggac cgaaggagct aaccgctttt 3960
 ttgcacaaca tgggggatca tgtaactcgc cttgatcgtt ggaaccgga gctgaatgaa 4020
 55 gccataccaa acgacgagcg tgacaccacg atgcctgtag caatggcaac aacgttgcgc 4080
 aaactattaa ctggcgaact acttactcta gcttcccggc aacaattaat agactggatg 4140
 gaggcggata aagttgcagg accacttctg cgtcggccc tccggctgg ctggtttatt 4200
 gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgggta tcattgcagc actggggcca 4260
 60 gatggtaagc cctcccgat cgtagtatac tacacgacgg ggagtcaggc aactatggat 4320
 gaacgaaata gacagatcgc tgagataggt gctcactga ttaagcattg gtaactgtca 4380
 gaccaagttt actcatatat actttagatt gatttaaaac ttcattttta atttaaaag 4440
 atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgacaaaa tcccttaacg tgagttttcg 4500

65

ES 2 320 527 T3

5 ttcactgag cgtcagacce cgtagaaaag atcaaaggat cttcttgaga tccttttttt 4560
 ctgcgcgtaa tctgctgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc taccagcggg ggtttgtttg 4620
 cgggatcaag agctaccaac tctttttccg aaggtaactg gcttcagcag agcgcagata 4680
 ccaaatactg tccttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa ctctgtagca 4740
 ccgcctacat acctcgctct gctaactctg ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag 4800
 tcgtgtctta cggggttggg ctcaagacga tagttaccgg ataaggcgca gcggtcgggc 4860
 10 tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga 4920
 tacctacagc gtgagcattg agaaagcggc acgcttcccg aaggagagaaa ggcgggacagg 4980
 tatccggtaa gggcagggtt cggaacagga gagcgcacga gggagcttcc agggggaaaac 5040
 gcctggtatc tttatagtcc tgtcgggttt cgccacctct gacttgagcg tcgatttttg 5100
 15 tgatgctcgt cagggggggc gagcctatgg aaaaacgcca gcaacgcggc ctttttaagg 5160
 ttcctggcct tttgctggcc ttttgetcac atgttcttcc ctgcttctac cectgattct 5220
 gtggataacc gtattaccgc ctttgagtga gctgataacc ctgcgccag ccgaacgacc 5280
 gagcgcagcg agtcagtggc cgaggaagcg gaagagcgcc caatacgcaa accgcctctc 5340
 20 cccgcgcggt ggccgattca ttaatgcagc tggcacgaca ggtttccgga ctggaagcgg 5400
 ggcagtgagc gcaacgcaat taatgtgagt tagctcactc attaggcacc ccaggcttta 5460
 cactttatgc tccggtctcg tatgttgtgt ggaattgtga gcggataaca atttcacaca 5520
 ggaaacagct atgaccatga ttacgccaag ctgtaagttt aaacatgatc ttactaacta 5580
 25 actattctca tttaaatfff cagagcttaa aaatggctga aatcactcac aacgatggat 5640
 acgctaacaa cttggaaatg aaataagctt gcatgcctgc agagcaaaaa aatactgctt 5700
 ttccttgcaa aattcgggtgc tttcttcaaa gagaacttt tgaagtcggc gcgagcattt 5760
 ccttctttga cttctctctt tccgccaaaa agcctagcat ttttattgat aatttgatta 5820
 30 cacacactca gagttcttcg acalgataaa gtgtttcatt ggcaactcgc ctaacagtac 5880
 atgacaaggg cggattatta tcgatcgata ttgaagacaa actccaaatg tgtgctcatt 5940
 ttggagcccc gtgtggggca gctgctctca atataactt agggagacga ggagggggac 6000
 35 cttatcgaac gtcgcagtag ccattctttc tctttatgc actctcttca ctctctcaca 6060
 cattaatcga ttcatagaet cccatattcc ttgatgaag tgtgggtttt tagctttttt 6120
 tcccgatttg taaaaggaag aggctgacga tgttaggaaa aagagaacgg agccgaaaaa 6180
 acatccgtag taagtcttcc ttttaagccg aactttttta gacagcattc gccgctagtt 6240
 40 ttgaagttaa aatfttaaaa aataaaaatt agtttcaatt ttttttaatt actaaatagg 6300
 caaaaagttt tcaagaact ctagaaaaac tagcttaatt catgggtact agaaaaattc 6360
 ttgttttaaa ttaatatatt atcttaagat gtaattacga gaagcttttt tgaaaaattc 6420
 caattaaaag aatttgccga tttagaataa aagtcttcag aatgagtaa aagctcaaat 6480
 45 tagaagtttg tttttaaagg aaaaacacga aaaaagaaca ctatttatct tttctctccc 6540
 gcgtaaaaatt agttgtttgt ataatagtga tccgctgtct atttgcactc ggcctctcac 6600
 accgtgcttc ctctcacttg acccaacagg aaaaaaaaa acacagctctg agacgggtgaa 6660
 ttgccttate aagagcgtcg tctctttcac ccagtaacaa aaaaaatttg gtttctttac 6720
 50 tttatattta tgtaggtcac aaaaaaaaa tgatgcagtt ttgtgggtcg gttgtctcca 6780
 caccacctcc gcctccagca gcacacaatc atcttctgtt gttctogacg attccttgta 6840
 tgccgcggtc gtgaatgcac cacattcgac gcgcaactac acaccacact cactttcggg 6900
 ggtattacta cacgtcatcg ttgttcgtag tctcccctc tttctctccc actcaactct 6960
 55 cattattccc cttgggtgat tgattttttt taaatggtac accactcctg acgtttctac 7020
 cttcttgttt tccgtccatt tagattttat ctggaaattt ttttaaaatt ttaggccaga 7080
 gagttctagt tcttgttcta aaagtctagg tcagacatac attttctatt tctcatcaaa 7140
 60 aaaaaagttg ataaagaaaa ctggttattc agaaagagtg tgtctcgttg aaattgatc 7200
 aaaaaaaaa tcccaccctt cgcttgtttc tcaaaatatg agatcaacgg attttttctt 7260
 tctcgattca attttttctt gcgctctgtc tgccaaagtg tgtgtgtccc agcaaaagat 7320
 gagagaattt acaaacagaa atgaaaaaaaa gttggccaaa taatgaagtt ttatccgaga 7380

ES 2 320 527 T3

```

    ttgatgggaa agatattaat gttottttac gtttgagggg gagagagaga tagatttttcg 7440
    catcaaactc cgccttttac atgtctttta gaatctaaaa tagatttttc tcatcatttt 7500
    taatagaaaa tcgagaaatt acagtaattt cgcaattttc ttgccaaaaa tacacgaaat 7560
5    ttgtgggtct cgccacgatc tcggctcttag tggttcattt ggtttaaaag tttataaaat 7620
    ttcaaattct agtgtttaat ttccgcataa ttggacctaa aatgggtttt tgtcatcatt 7680
    ttcaacaaga aatcgtgaaa atectgttgt ttccgcaattt tcttttcaaa aatacacgaa 7740
    atatatggta atttcccga aatattgaggg tctcggccacg atttcagtca cagtggccag 7800
10   gatttatcac gaaaaaagtt cgcctagtct cacatttccg gaaaaccgaa tctaaattag 7860
    ttttttgtca tcattttgaa caaaaaatcg agacatccct atagtttcgc aattttcgtc 7920
    gcttttctct caaaaaatga cagtctagaa ttaaaattcg ctggaactgg gaccatgata 7980
15   tcttttctcc ccgtttttca ttttattttt tattacactg gattgactaa aggtcaccac 8040
    caccgccagt gtgtgccata tcacacacac acacacacac aatgtcgaga ttttatgtgt 8100
    tatccctgct tgatttcggt ccgttgtctc tctctctcta ttcatctttt gagccgagaa 8160
20   gtcocagaga atggagcaca caggatcccg gcgcgcgatg tcgtcgggag atggcgccgc 8220
    ctgggaagcc gccgagagat atcaggaag atcgtctgat ttctctcgg atgccacctc 8280
    atctctcgag tttctccgcc tgttactccc tgccgaacct gatatttccc 8330

```

<210> 4

25 <211> 6470

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

30 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 4

35

```

    aagcttgcat gcctgcaggc cttggtcgac tctagacact tttcagctac ctagatacat 60
    ggatatcccc gcctcccaat ccaccacccc agggaaaaag aagggctcgc cgaaaaatca 120
40   aagttatctc caggctcgcg catcccaccg agcggttgac ttctctccac cacttttcat 180
    tttaaccttc ggggtacggg attggccaaa ggacccaaaag gtatgtttcg aatgatacta 240
    acataacata gaacattttc aggaggacc cttgcttgag ggtaccgagc tcagaaaaaa 300
    tgactgctcc aaagaagaag cgtaaggtac cggtaatgaa cacgattaac atcgtaaga 360
45   acgacttctc tgacatcgaa ctggctgcta tcccgttcaa cactctgget gaccattacg 420
    gtgagcgttt agctcgcgaa cagttggccc ttgagcatga gtcttacgag atgggtgaag 480
    cacgcttccg caagatgttt gacgctcaac ttaaagetgg tgaggttgcg gataacgctg 540
50   ccgccaagcc tctcatcact accctactcc ctaagatgat tgcacgcac aacgactggt 600
    ttgaggaagt gaaagctaag cgcggcaagc gcccgacagc cttccagttc ctgcaagaaa 660
    tcaagccgga agccgtagcg tacatcacca ttaagaccac tctggcttgc ctaaccagtg 720
    ctgacaatac aaccgttcag gctgtagcaa gcgcaatcgg tcgggccatt gaggacgagg 780
55   ctgccttcgg tcgtatccgt gaccttgaag ctaagcactt caagaaaaac gttgaggaac 840
    aactcaacaa gcgcgtaggg cacgtctaca agaaagcatt tatgcaagtt gtcgaggctg 900
    acatgctctc taaggttcta ctcggtgccg aggcgtggtc ttogtggcat aaggaagact 960
60   ctattcatgt aggagtacgc tgcacgaga tgctcattga gtcaaccgga atggttagct 1020
    tacaccgcca aatgctggc gtagtaggtc aagactctga gactatcgaa ctgcacctg 1080
    aatacgtgta ggctatcgca acccgtgcag gtgcgctggc tggcatctct ccgatgttcc 1140
    aaccttgctg agttctctct aagccgtgga ctggcattac tgggtggggc tattgggcta 1200
65   acggtcgtcg tcctctggcg ctgggtcgta ctcacagtaa gaaagcactg atgcgctacg 1260
    aagacgttta catgcctgag gtgtacaaag cgattaacat tgccgaaaaa accgcatgga 1320

```

ES 2 320 527 T3

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

```

aaatcaacaa gaaagtccta gcggtcgcca acgtaatcac caagtggaag cattgtccgg 1380
tcgaggacat ccctgcgatt gagcgtgaag aactcccgat gaaaccggaa gacatcgaca 1440
tgaatcctga ggctctcacc gcgtggaaac gtgctgcgcg tgctgtgtac cgcaaggaca 1500
gggctcgcaa gtctcgccgt atcagccttg agttcatgct tgagcaagcc aataagtttg 1560
ctaaccataa ggccatctgg ttcccttaca acatggactg gcgcggctgt gtttacgccc 1620
tgtcaatggt caaccggcaa ggtaacgata tgacaaaagg actgcttacg ctggcgaaaag 1680
gtaaaaccaat cggtaaggaa ggttactact ggctgaaaat ccacggtgca aactgtgogg 1740
gtgtcgataa ggttccggtc cctgagcgca tcaagttcat tgaggaaaac cacgagaaca 1800
tcatggcttg cgtaagtct cactggaga acacttggtg ggctgagcaa gattctccgt 1860
tctgcttctt tgcgttctgc tttgagtacg ctgggttaca gcaccagggc ctgagctata 1920
actgctccct tccgctggcg tttgacgggt cttgctctgg catccagcac ttctccgoga 1980
tgctccgaga tgaggtaggt ggtcgcgagg ttaacttctt tctagttag accgttcagg 2040
acatctacgg gattgttctt aagaaagtca acgagattct acaagcagac gcaatcaatg 2100
ggaccgataa cgaagtagtt accgtgaccg atgagaacac tggtgaaatc tctgagaaaag 2160
tcaagctggg cactaaggca ctggctggtc aatggctggc tcacggtggt actcgcagtg 2220
tgactaagcg ttcagtcatt acgctggctt acgggtcca agagttcggc ttccgtcaac 2280
aagtgtctga agataccatt cagccagcta ttgattccgg caagggctcc atgttactc 2340
agccgaatca ggctgctgga tacatggcta agctgatttg ggaatctgtg agcgtgacgg 2400
tggtagctgc ggttgaagca atgaactggc ttaagctctg tgctaagctg ctggctgctg 2460
aggtcaaaga taagaagact ggagagattc ttcgcaagcg ttgcgctgtg cattgggtaa 2520
ctctgatgg tttccctgtg tggcaggaat acaagaagcc tcttcagacg cgcttgaacc 2580
tgatgttctt cggtcagttc cgttacagc ctaccatlaa ccccaacaaa gatagcgaga 2640
ttgatgcaca caaacaggag totggtatcg ctcttaactt tgtacacagc caagacggta 2700
gccaccttcg taagactgta gtgtgggcac acgagaagta cggaaatcgaa tcttttgac 2760
tgattcacga ctctctgggt accattccgg ctgacgctgc gaacctgttc aaagcagtgc 2820
gcgaaactat ggttgacaca tatgagctct gtgatgtact ggctgatttc tacgaccagt 2880
tcgctgacca gttgcacgag tctcaattgg acaaaatgcc agcacttccg gctaaaggta 2940
acttgaacct ccgtgacatc ttagagtcgg acttccggtt cgcgtaagaa ttccaactga 3000
gcgcccgtcg ctaccattac caacttgtct ggtgtcaaaa ataatagggg ccgctgtcat 3060
cagagtaagt ttaaactgag ttctactaac taacgagtaa tatttaatt ttcagcatct 3120
cgcgcccgtg cctctgactt ctaagtccaa ttactcttca acatccctac atgctcttct 3180
tccctgtgct cccaccccct atttttgta ttatcaaaaa aacttcttct taatttcttt 3240
gttttttagc tcttttaag tcaactctaa caatgaaatt gtgtagattc aaaaatagaa 3300
ttaattcgtg ataaaaagtc gaaaaaaatt gtgctccctc cccccattaa taataattct 3360
atcccaaat ctacacaatg ttctgtgtac acttcttatg ttttttttac ttctgataaa 3420
tttttttgga aacatcatag aaaaaaccgc acacaaaata ccttatcata tgttacgttt 3480
cagtttatga ccgcaatttt tatttcttcg cacgtctggg cctctcatga cgtcaaatca 3540
tgctcatcgt gaaaaagttt tggagtattt ttggaatttt tcaatcaagt gaaagtttat 3600
gaaattaatt tctctgctt tcttttttg gggtttccc tattgtttgt caagagtttc 3660
gaggacggcg ttttcttgc taaaatcaca agtattgatg agcacgatgc aagaaagatc 3720
ggaagaaggt ttgggtttga ggctcagtgg aaggtgagta gaagttgata atttgaaagt 3780
ggagttagtg ctatggggtt tttgccttaa atgacagaat acattcccaa tataccaaac 3840
ataactgttt ctactagtc ggccgtaagg gccctttcgt ctgcgcggtt tcggtgatga 3900
cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc ggagacggtc acagcttctc tgtaagcgga 3960
tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc gtcagcgggt gttggcgggt gtcggggctg 4020
gcttaactat cgggcatcag agcagattgt actgagagtg caccatagc ggtgtgaaat 4080
accgcacaga tgcgtaagga gaaaataccg catcagggcg ccttaagggc ctctgtatac 4140
gcctattttt ataggttaat gtcatgataa taatggtttc ttagacgtca ggtggcactt 4200
  
```

ES 2 320 527 T3

```

ttcggggaaa tgtgcgcgga acccctatatt gtttattttt ctaaatacat tcaaatatgt 4260
atccgctcat gagacaataa ccttgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta 4320
5  tgagtattca acatttccgt gtcgccccta tteccctttt tgcggcattt tgccttcctg 4380
tttttgctca cccagaaaacg ctggtgaaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac 4440
gagtgggtta catcgaactg gatctcaaca gcggtaaagat ccttgagagt tttcgccccg 4500
aagaacgttt tccaatgatg agcaactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc 4560
10  gtattgacgc cgggcaagag caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg 4620
ttgagtactc accagtcaca gaaaagcadc ttacggatgg catgacagta agagaattat 4680
gcagtgcctc cataaccatg agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg 4740
15  gaggaccgaa ggagctaacc gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg 4800
atcgttggga accggagctg aatgaagcca taccaaaacga cgagcgtgac accacgatgc 4860
ctgtagcaat ggcaacaacg ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt 4920
cccggcaaca attaatagac tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct 4980
20  cggcccttcc ggctggctgg tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc 5040
gcggtatcat tgcagcactg gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgtg gttatctaca 5100
cgacggggag tcaggcaact atggatgaac gaaatagaca gatcgcctgag ataggtgcct 5160
25  cactgattaa gcattggtaa ctgtcagacc aagtttactc atataactt tagattgatt 5220
taaaaacttca tttttaattt aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga 5280
ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgcttc actgagcgtc agaccccgtg gaaaagatca 5340
aaggatcttc ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac 5400
30  caccgctacc agcggtggtt tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg 5460
taactggctt cagcagagcg cagataccaa atactgtcct tctagttag ccgtagttag 5520
gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac 5580
35  cagtggctgc tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt 5640
taccggataa ggcgcagcgg tcgggctgaa cgggggggtc gtgcacacag cccagcttgg 5700
agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gcattgagaa agcggccacgc 5760
ttcccgaagg gagaaaggcg gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcggg acaggagagc 5820
40  gcacgagggg gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta tagtctgtc gggtttcgcc 5880
acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggcccggc ctatggaaaa 5940
acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt 6000
45  tctttcctgc gttatcccct gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg 6060
ataccgctcg ccgcagccga acgaccgagc gcagcagatc agtgagcagag gaagcgggaa 6120
agcgcccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcggtggcc gattcattaa tgcagctggc 6180
acgacaggtt tcccgactgg aaagcgggca gtgagcgcga cgcaattaat gtgagttagc 6240
50  tcaactatta ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc ggctcgtatg ttgtgtggaa 6300
ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagctatga ccatgattac gccaaactgt 6360
aagtttaaac atgatcttac taactaacta ttctcattta aattttcaga gcttaaaaaat 6420
55  ggctgaaatc actcacaacg atggatagcg taacaacttg gaaatgaaat 6470

```

<210> 5

<211> 4689

60 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

65 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

ES 2 320 527 T3

<400> 5

aagcttgcac gcctgcagge cttggtcgac tctagacact tttcagctac cttagatacat 60
 5 ggatatcccc gcctcccacat ccaccacccc agggaaaaag aagggtcgc cgaaaaatca 120
 aagttatctc caggctcgcg catcccacgg ageggttgac ttctctccac cacttttcat 180
 tttaaccttc ggggtacggg attggccaaa ggaccocaaag gtatgtttcg aatgatacta 240
 acataacata gaacattttc aggaggaccc ttgcttgag ggtaccgagc tcccgggatt 300
 10 aatcgcactc actataccgg tagaataaat gagtaagga gaagaacttt tcaactggagt 360
 tgtcccacatt cttgttgaat tagatggtga tgttaatggg cacaatttt ctgtcagtgg 420
 agagggtgaa ggtgatgcaa catacggaaa acttaccott aaatttattt gcactactgg 480
 aaaactacct gttccatggg taagtttaaa catatatata ctaactaacc ctgattattt 540
 15 aaattttcag ccaacacttg tcaactactt ctgttatggt gttcaatgct tctcgagata 600
 cccagatcat atgaacggc atgacttttt caagagtgcc atgcccgaag gttatgtaca 660
 ggaaagaact atatttttca aagatgacgg gaactacaag acacgtaagt ttaaacagtt 720
 20 cggactaac taaccatata tatttaaat ttccaggtgc gaagtcaagt ttgaaggta 780
 tacccttggt aatagaatcg agttaaagg tattgatttt aaagaagatg gaaacattct 840
 tggacacaaa ttggaataca actataactc acacaatgta tacatcatgg cagacaaaca 900
 aaagaatgga atcaaagttg taagtttaaa catgatttta ctaactaact aatctgattt 960
 25 aaattttcag aacttcaaaa tttagacaaa cattgaagat ggaacgcttc aactagcaga 1020
 ccattatcaa caaataactc caattggcga tggccctgtc cttttaccag acaaccatta 1080
 cctgtccaca caatctgccc tttcgaaaga tcccacgaa aagagagacc acatggtcct 1140
 tcttgagttt gtaacagctg ctgggattac acatggcatg gatgaactat acaaatagca 1200
 30 ttctgagaat tccaactgag cgcgggtcgc taccattacc aacttgtctg gtgtcaaaaa 1260
 taataggggc cgtgtcacc agagtaagtt taaactgagt tctactaact aacgagtaat 1320
 atttaattt tcaacatctc gcgcccgtgc ctctgacttc taagtecaat tactcttcaa 1380
 catccctaca tctcttttct cctgtgctc ccacccccta tttttgttat tatcaaaaaa 1440
 35 acttctctct aatttctttg ttttttagct tcttttaagt cacctctaac aatgaaattg 1500
 tgtagattca aaaatagaat taattctgaa taaaagctg aaaaaaattg tgctccctcc 1560
 ccccatiaat aataattcta tcccataatc tacacaatgt tctgtgtaca cttcttatgt 1620
 ttttttact tctgataaat ttttttgaa acatcataga aaaaaccgca cacaataaac 1680
 40 cttatcatat gttacgtttc agtttatgac cgcaattttt atttcttcgc acgtctgggc 1740
 ctctcatgac gtcaaatcat gctcatcgtg aaaaagttt ggagtatttt tggattttt 1800
 caatcaagt aagtttatg aaattaattt tctgctttt gctttttggg ggtttccct 1860
 attgtttgtc aagagtttcg aggacggcgt tttcttctt aaaaacaaa gtattgatga 1920
 45 gcacgatgca agaaagatcg gaagaaggtt tgggtttgag gctcagtggg aggtgagtag 1980
 aagttgataa tttgaaagtg gagtagtgc tatggggttt ttgctttaa tgacagaata 2040
 cattcccaat ataccaaaaca taactgttc ctactagtc gccgtacggg cctttctgtc 2100
 tgcgcggttt cgtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca 2160
 50 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcaggcgcg tcagcgggtg 2220
 ttggcgggtg tcggggctgg cttactatg cgcacatcaga gcagattgta ctgagagtgc 2280
 accatagcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataaccg atcagcgggc 2340
 55 cttaggggcc tcgtgatacg cctattttta taggttaatg teatgataat aatggtttct 2400
 tagacgtcag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttatttttc 2460
 taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa 2520
 tattgaaaaa ggaagagtat gagtaatcaa catttccgtg tcgcccttat tccctttttt 2580
 60 gcggcatttt gccttctctt ttttctcac ccagaaacgc tgggtgaaagt aaaagatgct 2640
 gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggtaagatc 2700
 cttgagagtt ttgcctccga agaacgtttt ccaatgatga gcaottttaa agttctgcta 2760
 tgtggcgcgg tattatcccg tattgacgcc gggcaagagc aactcggctc ccgcatacac 2820
 65 tattctcaga atgacttggg tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc 2880

ES 2 320 527 T3

```

atgacagtaa gagaattatg cagtgtctgcc ataaccatga gtgataaacac tgcggccaac 2940
ttactttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg cttttttgca caacatgggg 3000
gatcatgtaa ctgccttga tcgttgggaa ccggagctga atgaagccat accaaacgac 3060
5 gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc 3120
gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt 3180
gcaggaccac ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga 3240
gccggtgagc gtgggtctcg cggtatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc 3300
10 cgtatcgtag ttatctacac gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aatagacag 3360
atcgtgaga taggtgcctc actgattaag cattggtaac tgtcagacca agtttactca 3420
tatatacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc 3480
15 ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca 3540
gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt tttttctgcg cgtaatctgc 3600
tgcttgcaaa caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt gtttgccgga tcaagagcta 3660
ccaactcttt ttccgaaggc aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgtcctt 3720
20 ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg tagcaccgcc tacatactc 3780
gctctgctaa tcctgttacc agtggctgct gccagtgggc ataagtcgtg tcttaccggg 3840
ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggc cgggctgaac ggggggttcg 3900
25 tgcacacagc ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag 3960
cattgagaaa gcgccacgct tcccgaaggc agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc 4020
agggtcggaa caggagagcg cacgagggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat 4080
agtctgtcgc ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgtcaggg 4140
30 gggcggagcc tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttctt ggccctttgc 4200
tggccttttg ctcacatggt ctttctgctg ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt 4260
accgcctttg agtgagctga tacgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca 4320
35 gtgagcggag aagcgggaaga gcgcccaata cgcaaaccgc ctctccccgc gcgttgccg 4380
attcattaat gcagctggca cgacaggttt cccgactgga aagcgggcag tgagcgcaac 4440
gcaattaatg tgagttagct cactcattag gcaccccagg ctttacaact tatgcttccg 4500
gctcgtatgt tgtgtggaat tgtgagcggg taacaatttc acacaggaaa cagctatgac 4560
40 catgattacg ccaagctgta agtttaaaca tgatcttact aactaactat tctcatttaa 4620
attttcagag cttaaaaatg gctgaaatca ctcaaacga tggatacgtt aacaacttgg 4680
aatgaaat 4689

```

45 <210> 6

<211> 5175

<212> ADN

50 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

55 <400> 6

```

gatcccgcg cgcgatgctc tcgggagatg gcgcgcctg ggaagccgcc gagagatc 60
agggaaagac gtctgatttc tcctcggatg ccacctcacc tctcgagttt ctccgcctgt 120
60 tactcctcgc cgaacctgat atttcccgtt gtcgtaaaga gatgttttta ttttacttta 180
caccgggtcc tctctctctg ccagcacagc tcagtgttgg ctgtgtgctc gggctcctgc 240
caccggcggc ctcactctct tcttctctct ctctctgct ctgccttacc acttcttcat 300
65 toattcttat tccttttcat catcaacta gcatttctta ctttatttat tttttcaat 360
tttcaatttt cagataaac caaactactt gggttacagc cgtcaacaga tccccgggat 420

```

ES 2 320 527 T3

tggccaaagg acccaaaggt atgtttcgaa tgatactaac ataacataga acattttcag 480
 gaggaccctt gcttggaggg taccggtaga aaaaatgagt aaaggagaag aacttttcac 540
 5 tggagttgtc ccaattcttg ttgaattaga tggatgatgt aatgggcaca aattttctgt 600
 cagtggagag ggtgaagggt atgcaacata cggaaaactt acccttaaat ttatttgcac 660
 tactggaaaa ctacctgttc catgggtaag tttaaacata tatatactaa ctaaccctga 720
 ttatttaaat tttcagccaa cacttgtcac tactttctgt tatgggtgtc aatgcttctc 780
 10 gagataccca gatcatatga aacggcatga ctttttcaag agtgccatgc ccgaaggta 840
 tqtacaggaa agaactatat ttttcaaaga tgacgggaac tacaagacac gtaagtttaa 900
 acagttcggg actaactaac catacatatt taaattttca ggtgctgaag tcaagtttga 960
 aggtgatacc cttgttaata gaatcgagtt aaaaggattt gatttttaag aagatggaaa 1020
 15 cattcttggg cacaaattgg aatacaacta taactcacac aatgtatata tcatggcaga 1080
 caaacaaaag aatggaatca aagttgtaag tttaaacttg gacttactaa ctaacggatt 1140
 atatttaaat tttcagaact tcaaaattag acacaacatt gaagatggaa gcgttcaact 1200
 agcagaccat tatcaacaaa atactccaat tggcgatggc cctgtccttt taccagacaa 1260
 20 ccattacctg tccacacaat ctgcccttcc gaaagatccc aacgaaaaga gagaccacat 1320
 ggtccttctt gagtttgtaa cagctgctgg gattacacat ggcatggatg aactatacaa 1380
 atagcattcg tagaaltcca actgagcgcc ggtcgtacc attaccaact tgtctggtgt 1440
 caaaaaaat aggggcccgt gtcateagag taagtttaa ctgagttcta ctaactaacg 1500
 25 agtaatattt aaattttcag catctcgcgc ccgtgcctct gacttctaag tccaattact 1560
 cttcaacatc cctacatgct ctttctcctt gtgctcccac cccctatttt tgttattatc 1620
 aaaaaaactt cttcttaatt tctttgtttt ttagcttctt ttaagtcacc tctaacaatg 1680
 aaattgtgta gattcaaaaa tagaattaat tcgtaataaa aagtcgaaa aaattgtgct 1740
 30 cctccccccc attaataata attctatccc aaaaatcaca caatgttctg tgtacacttc 1800
 ttatgttttt tttacttctg ataaatlttt tttgaaacat catagaaaa accgcacaca 1860
 aaatacotta tcataatgta cgtttcagtt tatgaccgca atttttattt cttcgcacgt 1920
 35 ctgggcctct catgacgtca aatcatgctc atcgtgaaaa agttttggag tatttttggg 1980
 atttttcaat caagtgaag tttatgaaat taattttctt gcttttgcct tttgggggtt 2040
 tcccctattg tttgtcaaga gtttcgagga cggcgttttt cttgctaata tccacaagtat 2100
 tgatgagcac gatgcaagaa agatcggaa aggttttggg tttgaggctc agtggaaagt 2160
 40 gagtagaagt tgataatttg aaagtggagt agtgtctatg gggtttttgc cttaaatgac 2220
 agaatacatt cccaatatac caaacataac tgtttcctac tagtcggccg tacgggcccg 2280
 gtaccagcct tttgttccct ttagtqaggg ttaattgccc gcttggcgta atcatggtea 2340
 tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcaaattc cacacaacat acgagccgga 2400
 45 agcataaagt gtaaagcctg ggggtcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg 2460
 cgctcactgc ccgctttcca gtccggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatggc 2520
 caacgcgcgg ggagagggcg tttgcgtatt gggcgtctt ccgcttctc gctcaactgac 2580
 tcgctgcgct ccgtcgcttg gctgcggcga gcggtatcag ctcaactcaa ggcggtata 2640
 50 ccggttatcca cagaatcagg ggataacgca gaaagaaca tgtgagcaa aggccagcaa 2700
 aaggccagga accgtaaaaa ggcccggttg ctggcgttt tocataggt ccgccccct 2760
 gacgagcacc acaaaaatcg acgtcaagt cagaggtggc gaaaccgcac aggactataa 2820
 55 agataccagg cgtttcccc tggaaagctc ctctgctgct ctctgttcc gaccctgccg 2880
 cttaccggat acctgtccc ctttctcctt tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca 2940
 ccgtgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa 3000
 cccccgctc agcccagccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaaccg 3060
 60 gtaagacacg acttatcgc actgacagca gccactgta acaggattag cagagcgagg 3120
 tatgtagggc gtgctacaga gttcttgaag tgggtgccta actacggcta cactagaagg 3180
 acagtatttg gtatctgccc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc 3240
 65 tcttgatccg gcaacaaaac caccgctggg agcgggtggt tttttgttg caagcagcag 3300

ES 2 320 527 T3

```

attacgcgca gaaaaaaag atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac 3360
gctcagtggg acgaaaactc acgtaaggg attttggca tgagattatc aaaaaggatc 3420
ttcacctaga tcocttttaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag 3480
5 taaacttggg ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt 3540
ctatttcggt catccatagt tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag 3600
ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc accggctcca 3660
10 gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcttgcaact 3720
ttatccgctt ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca 3780
gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtgggtgc acgctcgtcg 3840
15 tttgggatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc 3900
atggttgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tcgttgctag aagtaagttg 3960
gccgcagtgt taccactcat ggttatggca gactgcata attctcttac tgtcatgcca 4020
tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagttg 4080
20 atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc 4140
agaactttaa aagtgctcat cattggaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc 4200
ttaccgctgt tgagatccag ttgatgtaa cccactcgtg caccactg atcttcagca 4260
25 tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa 4320
aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat 4380
tgaagcattt atcaggggta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa 4440
aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctaa attgtaagcg 4500
30 ttaatathtt gttaaaattc gcgttaaatt tttgttaaat cagctcattt ttaaccaat 4560
aggccgaaat cggcaaaatc cctataaat caaaagaata gaccgagata gggttgagtg 4620
ttgttccagt ttggaacaag agtcactat taaagaacgt ggactccaac gtcaaagggc 4680
35 gaaaaaccgt ctatcagggc gatggcccac tacgtgaacc atcacctaa tcaagttttt 4740
tggggctgag gtgccgtaa gactaaatc ggaaccctaa agggagcccc cgatttagag 4800
cttgacgggg aaagccggcg aacgtggcga gaaaggaag gaagaaagcg aaaggagcgg 4860
gcgctagggc gctggcaagt gtagcggta cgctgcccgt aaccaccaca cccgccgcgc 4920
40 ttaatgcgcc gctacagggc gcgtcccatt cgccattcag gctgcgcaac tgttgggaag 4980
ggcgatcggg gggggcctct tcgctattac gccagctggc gaaaggggga tgtgctgcaa 5040
ggcgattaag ttgggtaacg ccagggttt cccagtcacg acgttgtaaa acgacggcca 5100
45 gtgagcgcgc gtaatacgac tcaatatagg gcgaattgga gctccaccgc ggtggcggcc 5160
gctctagaac tagtg 5175

```

<210> 7

<211> 12482

50 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

55 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 7

```

60 gatcctccaa aatcgtcttc cgctctgaaa aacgaaagtg gacctttgac atccgaaaa 60
atgggcgaaa aatgaaatt gagctttttg ggtcgaaaaa aatgttttta gaatgctgag 120
aacacgtaa acacgaagat catatttatt ttgagaccgg gatgctctga aatgtctga 180
65 catagattta aaaaagcata tatatathtt tcattttcaa cgtgaaagtt ttgtgcaact 240
ttatagaatc tctattggc acattgtttt ttatttaact gaggcagttt ttgaacacct 300
ttttgaaact ttgaatctct ttgaagtata ctgtcgaaaa gactgacttg agcgttcgaa 360

```

ES 2 320 527 T3

atgccagaag aaaactatat ttgaatctcg cgctaaattg agaaatgcaa ccgcgcctcca 420
 ctggacaatt ggaaaaaaaaa tttattcggg ggcgacaacg gtattttcga aattgatttt 480
 ctgtgtat 5 tctcattttt tataaattct tctttgattt atcgttcgtt tgtgagaaat 540
 ttaattgtat tcaaactttt ttatagtaag ataccggtgg taccgctagc cgtacgaacc 600
 cgggattggc caaaggaccc aaaggtatgt ttcgaatgat actaacataa catagaacat 660
 tttcaggagg acccttgctt ggagggatcc ggatgactgc tccaaagaag aagcgtaaagc 720
 tcatgaacac gattaacatc gctaagaacg acttctctga catogaactg gctgctatcc 780
 10 cgttcaacac tctggctgac cattacgggtg agcgttttagc tcgcaaacag ttggcccttg 840
 agcatgagtc ttacgagatg ggtgaagcac gcttcgcaa gatgtttgag cgtcaactta 900
 aagctggtga ggttcgggat aacgctgccg ccaagcctct catcactacc ctactcccta 960
 15 agatgattgc acgcatacaac gactggtttg aggaagtga agctaagcgc ggcaagcgc 1020
 cgacagcctt ccagttcctg caagaaatca agccggaagc cgtagcgtac atcaccatta 1080
 agaccactct ggcttgctta accagtgtg acaatacaac cgttcaggct gtagcaagcg 1140
 caatcggctc ggccattgag gacgaggtc gcttcggctg tatccgtgac cttgaagcta 1200
 20 agcacttcaa gaaaaacggt gaggaacaac tcaacaagcg cgtagggcac gtctacaaga 1260
 aagcatttat gcaagtgtc gaggtgaca tgctctctaa ggtctactc ggtggcgagg 1320
 cgtggctctt gtggcataag gaagactcta ttcattgtagg agtacgctgc atcgagatgc 1380
 tcattgagtc aaccggaatg gttagcttac accgccaaa tgctggcgta gtaggtcaag 1440
 25 actctgagac tatcgaaact gcacctgaat acgctgaggc tatcgcaacc cgtgcagggtg 1500
 cgtcggctgg catctctccg atgttccaac cttgcgtagt tctcctaag ccgtggactg 1560
 gcattactgg tgggtgctat tgggctaacg gtcgtcgtcc tctggcgtg gtgcgtactc 1620
 acagtaagaa agcactgatg cgctacgaag acgtttacat gcctgaggtg tacaagcga 1680
 30 ttaacattgc gcaaacacc gcatggaaaa tcaacaagaa agtctagcg gtgccaacg 1740
 taatcaccaa gtggaagcat tgtccggtc aggacatccc tgcgattgag cgtgaagaac 1800
 tcccgatgaa accggaagac atcgacatga atcctgaggc tctcaccgcg tggaaacgtg 1860
 ctgccgctgc tgtgtaccgc aagacaaggc tcgcaagtct cgcctatca gccttgagtt 1920
 35 catgcttgag caagccaata agtttgctaa ccataaggcc atctggttcc cttacaacat 1980
 ggactggcgc ggttcgtgtt tacgctgtgt caatgttcaa ccgcgaaggt aacgatatga 2040
 ccaaaggacg tcttacgctg gcgaaaggta aaccaatcgg taaggaaggt tactactggc 2100
 40 tgaanaatcca cgggtcaaac tgtgcgggtg tcgataaggt ttcgtttcct gagcgcata 2160
 agttcattga ggaaaaccac gagaacatca tggcttgccg taagtctcca ctggagaaca 2220
 cttggtggc tgagcaagat tctccgttct gcttcttgc gttctgctt gactacgctg 2280
 gggtagcaca ccacggcctg agctataact gctcccttcc gctggcgtt gacgggtctt 2340
 45 gctctggcat ccagcacttc tccgcgatgc tccgagatga ggtaggtggt cgcgcggtta 2400
 acttgcttcc tagtgaacc gttcaggaca tctacgggat tgttgctaag aaagtcaacg 2460
 agattctgca agcagacgca atcaatggga ccgataacga agtagttacc gtgaccgatg 2520
 agaacactgg tgaatctct gagaaagtca agctggcac taaggcactg gctggtcaat 2580
 50 ggtcggctta cgggttact cgcagtgta ctaagcgttc agtcatgacg ctggttacg 2640
 ggtccaaaaga gttcggcttc cgtcaacaag tgcggaaga taccattcag ccagctattg 2700
 attccggcaa gggctgatg ttcactcagc cgaatcaggc tgcggatac atggctaagc 2760
 tgatttgga atccgtgagc gtgacggtg tagctcgggt tgaagcaatg aactggctta 2820
 55 agtctgctgc taagctgctg gctgctgagg tcaagataa gaagactgga gagattcttc 2880
 gcaagcgttg cgtgtgcat tgggtaactc ctgatggtt ccctgtgtg caggaataca 2940
 agaagcctat tcagaogcgc ttgaacctga tgttcctcgg tcagttccgc ttacagccta 3000
 ccattaacac caacaagat agcgagattg atgcacaca acaggagtct ggtatcgtc 3060
 60 ctaactttgt acacagcaa gacggtagcc accttcgtaa gactgtagtg tgggcacacg 3120
 agaagtacgg aategaatct tttgactga ttcacgactc cttcgttacc attccggctg 3180
 acgctgcgaa cctgttcaaa gcagtgccg aaactatggt tgacacatat gactcttggt 3240

65

ES 2 320 527 T3

atgtactggc tgatttctac gaccagttcg ctgaccagtt gcacgagtct caattggaca 3300
 aaatgcoagc acttccggct aaagtaact tgaacctccg tgacatctta gagtccgact 3360
 5 tcgcttccgc gtaagggccc tcgtcgagtc ggtcacaatc acctgaaact ccaaaggcag 3420
 ccagtgagga acgtgaagaa gaagaaaaag agtcatctga acaggtttga ttttctttct 3480
 ggtcaaaaag atgaaattat tgattttcag ccagatactc caaaactag cagcgagaag 3540
 tctgcaagtc gttcacagtc gccagagaa tcgcggaag tgagccaaga ggtatgtttt 3600
 10 tcaaaaatca ataactgac ataattttta ttggttggtg aatttaagaa aataatattc 3660
 gaaaattcct ctgaattatc aagattgcag tattaatttc gagaaaaatt gagatattca 3720
 tagagctatt gtaaattttc ttgatttcag actgaaactt cggaaaatca agagaaaatc 3780
 aaagaaaagg atgacgggga tgatcagcct ggcacaccga acagctatag aagccgggaa 3840
 15 acttcaccag ctccaaaaag gtccaaggag accaggtttg tcaaaagctt cctgcgatta 3900
 attctcattt caatttttca gagaatcaga gtctcctgaa aaatccccgg ttcgttcaag 3960
 atctcccaga aggtcttcag cacgttcccc gtcacgatct cctagacggc gccgagaag 4020
 aagctcagaa agaaagcaat ccgaagagcc agcaccgcta ccagagaaaa agaagaaaga 4080
 20 gccgctggat attctacgaa caagaaccgg aggagcatat attccaccgg ccaaacttcg 4140
 acttatgcaa caacagatta gtgataagca aagtgaacag tatcagagaa tgaattggga 4200
 aagaatgaag aaaaagattc acggattggt taacagagtc aacgcgaaga atcttgttca 4260
 aattgtcaga gaacttcttc aagagaatgt gattcgttca aagtgagtga gaaaatcaga 4320
 25 ggaaaaggaa agaattaatt taatttttca ggggacttct ctgccgtgac attattcaag 4380
 ctcaggcttt ctccaccagga ttctctaacg tctatgcagc tttggcggca gttatcaact 4440
 cgaaattccc tcatgtcggg gaacttcttc tccgtcgtct gattgtacag ttcaaaaaga 4500
 gtttccgtag aatgacaga gccgtcacgg tgaacgtgat caaattcctc gcacatttga 4560
 30 ttaatacaaa agttgctcac gaagtctctg cgotggaat catgattctg atgcttgaag 4620
 aaccaactga tgattcagtt gaagtcccca ttgcgttctt gaaagagtgt ggagcaaagc 4680
 ttctggagat tgctccagca gctcttaaca gtgtctacga cctcttctgt gcaattctca 4740
 35 tggaaactga aagatcggaa aatgcactgg atcgacgtat tcagtatatg attgagactg 4800
 caatgcagat tcgaaaggac aaatttgcgg taaggtagaa tatataaata gtttattaga 4860
 aaaaaataaa ttagaataat ttaaatctct actagccaat caggcgacct ttttgcgat 4920
 agttctatta ttgaaaaatt tggagaattt ctcatattct cgctcggaaa tctggaattc 4980
 40 gacgagatct tctggcttct gtgcagctgc atcgtttgt gctcccttc togttctct 5040
 tctgtgtaca ccaagaacct tgttgagtc atcaactgaa tctgtgactg gottgttct 5100
 cactggatgc actagacgac tgattctcga gaaatcagat tgagttgcga ttagggtgac 5160
 ctagaatttg ggaataatac gaacttttga aaatatcag gaggattaaa aaaattattc 5220
 45 tcgacaatcc tacaattta cttattgcac catgttctc caacattttt cattaaaagt 5280
 taatgaaaaa atgtagaaa tcggaaattg gcaattttca gaccattttt aagcattttc 5340
 aaaaaaaaaat tgcagctgaa ataaatgtca ttttcagata aatcgagcga tttctgttg 5400
 tctgacacta gtttttagtt ttaaaaaatg ttggaagaac atggtgcaat aggttaattc 5460
 50 atagaatttc catgtgtttt ttttcaatta accaattatc caaatcttcc aaactcacat 5520
 tttgcccagc tgggctatca agaactctgt gcagttttat aagacgagca tctctgatat 5580
 cactgaaaat taatttttaa tcaaaacttg aatatcaact aaaccactt attaaacttc 5640
 tcgatcttct gtcgttcggg acgatgacgg tgaagaagcc aattgtagta gttgatttg 5700
 55 ttcaagtcct ttcgggtgtg tacgtcagtg tctgcaatg ctatttagtt ataacttagg 5760
 cctaagattc aatttaatga agtgattaaa tttgttctct gaacctctta agatgatctt 5820
 ttggattaga aacatataag acaggtttac ctatctatta aaaaacagat caaaatagat 5880
 acgaccaaat cggataatcc atgcctacct ggcacttagg aacgtgttct tagaagattt 5940
 60 cttacgtaat cgtatgaaga aataacaatt tgatcgttgg ccagcaaaaa tagggtttta 6000
 agtgggatag tgtttttatt agctaaccgg aaaattttat agtttttttt tgcaagaaac 6060
 cactgaaaaac cccctaattg tatacatttt ttggagcagc ttctgttctt tttgagcaat 6120

65

ES 2 320 527 T3

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

```

aaaattcgat aaaacagaat ttaagtgtaa attgttcaca tttagtttct attttatcaa 6180
atTTTgtTgc tcaaaaacat tcgaagctgc tctaaaaaaa tgcattaaaa aaggggtttt 6240
cagTggTttt tcacattaaa aaagctaatt ttaactaaaa atccatcata tttccaactt 6300
Tgtcacaaca ataaaatgct ggtcaaaatg Tgttcgaaaa aatgtttttt tttttaattt 6360
ttataattta aaaatagttt tctttcgctg ggacacatac atttttgggc gtaaattttc 6420
agttcaaaat tccattttta caaccataat cataaagcta cgtctgatct ctctcgcact 6480
tacctgcgcc tgattcgaaa gaacaaccgt agccaaaaga acaagaaga caagcacgta 6540
gttTgtgtag Tggacgttca tcacgcaata ctgaccaatg gtcgtggggt ctcaactttc 6600
gtactattga gagaggggag actgaagatg gcaattgagg acagtgtctt cgacgcacgc 6660
atgcatccat aagcataatc caggagggat ggagagaaaa atcttgtttc taagcccctc 6720
cctttgtaat acatacacat atctaatacc gaagaatggc taattgaatg gacgtcagct 6780
gttTgtgtag ttgccaaagg atcatcgatg aaataactga aagaaagaat taataatta 6840
ttgcaggcgt atccggcggT cattgaagac ttggacttga ttgaggagga ggatcagatc 6900
atccatacac ttaatttgga ggatgcggtt gatccggaaa atgggcttag taagtgactg 6960
accacacgog gggggcatta atttaataaa ttgaattcca tttcagatgt gttcaaaacta 7020
gatccagaat tcgaaaagaa cgaggagggt tatgaggaga tccgttaagga aatcattgga 7080
aaccccgata ttcggatga ggatggtggc gacgagttgg atgatgaaga agagggtagt 7140
galgtggaag aggctccgaa gaagactaca gagattattg ataactactga tcagaattga 7200
ctgctttcag aaggatttca ttttgagttt tgggocggca aatctgtaag ttgccggttg 7260
ccgaaaattt gctgaatttg ccggaaaaaa aaattccgga atttatttaa aaactttttg 7320
taaaaattaa attaaatttg caacttttca gagaagtcta cctgacaatg caatcatctt 7380
tggactacca agaagctgct cacaaatgct tgaaaatgaa gattccaqac agcatgcagg 7440
tcagcgatgt Tgcaaaagaa aattttcgac caaaaaaacc aaccaatcat aaaatttaa 7500
aaaaaactcc gtttttttct ttttttttat acgagaaaaa ccaaaaaaat gtatttttgc 7560
caaattctaa aatactatcc ccgaaatttt caatattttc ttttcagaa cgaactctgc 7620
gcgatgcttg tcgattgttg Tgctcaacag cgtacctacg agcgattcta cggaaatgctc 7680
atcgaaactt tctgccgact tcgectcgaa taccagcaat actttgaaa gctctgccag 7740
gacacgtatt ccacgattca ccgaattgac atcaaaaaac tgcggaattt ggctcgctt 7800
attgctcatt Tgctctcgac ggatgctatt gactggaaga ttttgccga tatgaaaatg 7860
accgaagagg acacaacttc ttctggcaga atctatatta aatataatatt taatgaactt 7920
gtggaggoga tgggaatggt taaacttcat tcgagagtta ctgatccgtg agtttcttag 7980
agagagttgt tttcgtattc aattttccct attttcagaa ctttggtca ttgctttggt 8040
ggattattcc cacgaactaa tccgaacagc gcacgatttt cgatcaactt cttcacaatg 8100
attggattgg gtggtttgac gttggaactt cgtgaatggc tggcaagggt tctcaagaag 8160
aagaagggaT Tgctggatca gttgaaggcc gaatcaagct cagattcatc gtcgtcttcg 8220
gattcgtcag actcgtotga ttottcggat tctgacgatc catccgactc gtcttcagat 8280
tctcatctt cttcagaatc agagccagaa ccaccgaaga aaaegaagaa gaaqaacagt 8340
gaagagagtt ccaaaaagaa ggaaaaagag aatattggtc gacgggatcg tggagacaag 8400
agagctgaac gtcacgtgga tcaaaagtgt gagaacaagg acaaggatcg tcgacgtcgc 8460
caggattctg acgaaaatcg tcggccagaa cgaggagatg accgcaagga tcggagtaa 8520
gatcgtcgtc gtcaagactc ggatgatgag gatcggaag gtcgtgaacg tcgggaagat 8580
tcaggggaaa gacgtcgcgg agatcgggat cgacgtgatc gaaacaagga tcaggaggat 8640
caccgtgaag atcgcctgga ccgaagcaag gatcgtgagg atcgacgtga tcgccgtcgt 8700
catgactctg atgatgatcg taaaactcgt cgggatagaa gtgaagagcg aggaggacgt 8760
cgtcgtgaag tggaaatcga tgatcgacgc cgacgtcgtt gaattttcaa attttaata 8820
ctgaatattt gtttttttct ctattattta tttattctct ttgtgttttt tttcttgctt 8880
tctaaaaaat taattoaatc caaatctaaa catgagcggT tttttttctc tttccgtctc 8940
ccaattcgta ttcogctcct ctcatctgaa cacaatgtgc aagtttattt atcttctcgc 9000
  
```

ES 2 320 527 T3

5 tttcatttca ttaggacgtg gggggaattg gtggaagggg gaaacacaca aaaggatgat 9060
 ggaaatgaaa laaggacaca caatatgcaa caacattcaa ttcagaaata tggagggaagg 9120
 10 tttaaaagaa aacataaaaa tatetagagg aggaaggaaa actagtaaaa aataagcaaa 9180
 gaaattaggg gaacgatgag aattgtctct gcttggcaaa tgcgaatccg tatggagagg 9240
 cacgtttggc gaaggcaaat gttcggtatg gagatctgta aaaattttta agttgaaatt 9300
 tgggtgttgc cttttacaaa attttccgat tttcgttga aattacggtg ccaggctctcg 9360
 acacgtcttc caatttttca aattcaaaaag agcctttaat gggctgtagt tgctraatttc 9420
 15 tcgtttttga aaatttttct tccgtttaat cgaaatttga tgtattttat ttatgatttt 9480
 caataaattt caaagaaaact ggtgaaaact cggaaaattg tgaactacag taatccaatc 9540
 cttaaaggcg cacacctttt aaatgtccgc cccaatacga tttttttta agattcgccta 9600
 gagcggcgcg caccgcggtg gagctccaat tgcacctata gtgagtcgta ttacaattca 9660
 ctggccgctg ttttacaacg tctgtactgg gaaaaccctg gcgttaccga acttaatcgc 9720
 cttgcagcac atccccctt cgcacgctgg cgtaatagcg aagaggcccg caccgatcgc 9780
 ccttcccaac agttgcgtag cctgaatggc gaatgggacg cgccctgtag cggcgcatta 9840
 20 agcgcggcgg gtgtggtggt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg 9900
 cccgctcctt tgcctttctt cccttccctt ctgcaccgt tgcgcgctt tcccogtcaa 9960
 gctctaaatc gggggctccc tttagggttc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc 10020
 aaaaaacttg attaggggtg tggttcacgt agtgggceat cgccctgata gacggttttt 10080
 25 cgcccttga cgttggagtc cacgttcttt aatagtgagc tcttgttcca aactggaaca 10140
 aactcaacc ctatctcggc ctattctttt gatttataag ggattttgcc gatttcggcc 10200
 tattggttaa aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaattttaa caaaatatta 10260
 acgtttacaa tttcaggtg cacttttcgg ggaatgtgc gcggaacccc tattgtttta 10320
 30 tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt 10380
 caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc 10440
 ttttttgcgg cttttgcct tctgttttt gctcaccag aaacgctggt gaaagtataa 10500
 gatgctgaag atcagttggg tgcaagagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggc 10560
 35 aagatccttg agagttttcg ccccgagaa cgttttcaa tgatgagcac ttttaaagtt 10620
 ctgctatgtg ggcggglatt atcccglatt gacgcgggc aagagcaact cggtcgcgcg 10680
 atacactatt ctcaaatga ctltggttgg tactcaccag tcacagaaaa gcctcttacg 10740
 gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa gcatgagtga taactcgcg 10800
 40 gccaaactac tctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt tttcacaac 10860
 atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca 10920
 aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttcgc caaactatta 10980
 45 actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat 11040
 aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc ctcccgctg gctggttat tgctgataaa 11100
 tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag 11160
 cctcccgtga tctgagttat ctacaegacg ggcagtcagg caactatgga tgaacgaaat 11220
 50 agacagatcg ctgagatagg tgccctactg attaagcatt ggtaaactgtc agaccaagtt 11280
 tactcatata tactttagat tgatttataa cttcattttt aattttaaag gatctagggtg 11340
 aagatccttt ttgataatct catgacaaa atccctaac gtgagttttc gttcactga 11400
 gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta 11460
 55 atctgctgct tgcaaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa 11520
 gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact 11580
 gtccttctag ttagcgcgta gttaggccac caactcaaga actctgtagc accgcttaca 11640
 tacctcgcctc tctaatcct gttaccagtg gctgctgcca gtcggcgtata gtcgtgtctt 11700
 60 accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agoggtcggg ctgaaccggg 11760
 ggttctgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag 11820
 cgtgagcatt gagaaagcgc caccgttccc gaaggagaaa aggcggacag gtatccggta 11880

65

ES 2 320 527 T3

```

    agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc caggggggaa cgcttgggat 11940
    ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg 12000
    tcaggggggc cgagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc 12060
5   ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac 12120
    cgtattaccg cctttgagtg agetgatacc gctcgcgcga gccgaacgac cgagcgcagc 12180
    gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgcga aaccgcctct ccccgcgcgt 12240
10  tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag 12300
    cgcaacgcaa ttaatgtgag ttacctcact cattaggcac cccaggcttt acactttatg 12360
    ctcccgctc ctatgttggt tggattgtg agcggataac aatttcacac aggaaacagc 12420
    tatgaccatg attacgcaa gctcggatt aaccctcact aaaggaaca aaagctgggg 12480
15  gg
                                           12482

```

<210> 8

<211> 7209

20 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 8

```

30  gatccgtcga cagatctccc tatagtgagt cgtattactg cagccaagct aattccgggc 60
    gaatttctta tgatttatga tttttattat taaataagtt ataaaaaaaa taagtgtata 120
    caaattttaa agtgactctt aggttttaaa acgaaaattc ttgttcttga gtaactcttt 180
35  cctgtaggte aggttgcttt ctcaggata gcatgaggte gctcttattg accacacctc 240
    taccggcatg caagcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttctgtgtg aaattgttat 300
    ccgctcacia ttccacacia catacgagcc ggaagcataa agtgtaaagc ctggggtgcc 360
    taatgagtga ggtaactcac attaatgctg ttgcgctcac tgcccgcttt ccagtcggga 420
40  aacctgtcgt gccagctgga ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgctg 480
    attgggcgct ctccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggctgt tcggctgcgg 540
    cgagcgggat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac 600
    gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg 660
45  ttgctggcgt ttttccatag gctccgccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca 720
    agtcagaggt ggcgaaacce gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccttggagc 780
    tccctcgtgc gctctcctgt tccgacctg ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc 840
50  ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag ttcgggtgtag 900
    gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagccga ccgctgcgcc 960
    ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac acgacttatc gccactggca 1020
55  gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac agagttcttg 1080
    aagtggtggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat ttggtatctg cgtctgctg 1140
    aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaaa aaccaccgct 1200
    ggtagcggtg gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa 1260
60  gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctacggttaa 1320
    gggatttttg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aatttaaaaa 1380
    tgaagtttta aatcaatcta aagtatata gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc 1440
65  ttaatcagtg aggcaacct ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga 1500
    ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgcctga 1560
    atgataccgc gagaccacg ctcaaccgct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc 1620

```

ES 2 320 527 T3

5 ggaagggccg agcgcagaag tggctctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat 1680
 tghtgcccgg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttgttgcc 1740
 attgctacag gcatcgtggg gtcacgctcg tctgttggta tggcttcatt cagctccggg 1800
 tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatggtgt gcaaaaaagc ggtagctcc 1860
 ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgagc tgttatcact catggttatg 1920
 gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccacccgtaa gatgcttttc tgtgactggg 1980
 10 gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcccg gaccgagttg ctcttgcccg 2040
 gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgt catcattgga 2100
 aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcggatg 2160
 taaccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg 2220
 15 tgagcaaaaa caggaaggca aatgccgca aaaaagggaa taagggcgac acggaaatgt 2280
 tgaatactca tactcttctt ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc 2340
 atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca 2400
 tttcccggaa aagtgccacc tgaacgaagc atctgtgctt cattttgtag aacaaaaatg 2460
 20 caacgcgaga gcgctaattt ttcaacaaa gaatctgagc tgcattttta cagaacagaa 2520
 atgcaacgcg aaagcgtat tttaccaacg aagaatctgt gttcattttt tgtaaaacaa 2580
 aatgcaacg cgagagcgtt aatttttcaa acaagaatc tgagctgcat ttttacagaa 2640
 cagaatgca acgcgagagc gctattttac caacaaagaa tctatacttc tttttgttc 2700
 25 tacaaaaatg catcccgaga gcgctatttt tctaacaaag catcttagat tacttttttt 2760
 ctcttttggt cgtctataaa tgcagtctct tgataacttt ttgcactgta ggtccgtaa 2820
 ggttagaaga aggctacttt ggtgtctatt ttctcttcca taaaaaagc ctgactccac 2880
 ttcccgctt tactgattac tagcgaagct gcgggtgcat ttttcaaga taaaggcatc 2940
 30 ccgattata ttctataccg atgtggattg cgcatacttt gtgaacagaa agtgatagcg 3000
 ttgatgattc ttcattggtc agaaaattat gaacggtttc ttctattttg tctctatata 3060
 ctacgtatag gaaatgttta cattttcgta ttgttttoga ttcactctat gaatagttct 3120
 35 tactacaatt tttttgtcta aagagtaata ctgagataa acataaaaaa tgtagaggtc 3180
 gagttagat gcaagttcaa ggagcgaaag gtggatgggt aggttatata gggatatagc 3240
 acagagatat atagcaaaga gatacttttg agcaatgttt gtggaagcgg tattcgcaat 3300
 attttagtag ctggttacag tccggtgcgt ttttggttt ttgaaagtgc gtcttcagag 3360
 40 cgcttttggg tttcaaaagc gctctgaagt tctatactt tctagagaat aggaacttcg 3420
 gaataggaac ttcaaaagcgt tccgaaaac gagcgcctcc gaaaatgcaa cgcgagctgc 3480
 gcacatacag ctcaactgtc acgtgcacc tatatctgcg tgttgctgt atatatatat 3540
 acatgagaag aacggcatag tgcgtgttta tgcttaaatg cgtacttata tgcgtctatt 3600
 45 tatgtaggat gaaagtagt ctagtacctc ctgtgatatt atcccattcc atgcccgggta 3660
 tegtatgctt ccttcagcac tacccttag ctgttctata tgetgccact cctcaattgg 3720
 attagtctca tcttcaatg ctatcatttc ctttgatatt ggatcatatt aagaaacct 3780
 tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggcccttc gtctcgcgcg 3840
 50 ttcggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc cgggagacgg tcacagcttg 3900
 tctgtaagcg gatgcccggg gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg 3960
 gtgtcggggc tggcttaact atgcggcctc agagcagatt gtactgagag tgcaccatag 4020
 atcaacgaca ttactatata tataatatag gaagcattta atagacagca tctaatata 4080
 55 tgtgtacttt gcagttatga cgcagatgy cagtagtggg agatattctt tattgaaaaa 4140
 tagcttgtca ccttacgtac aatcttgatc cggagctttt ctttttttgc cgattaagaa 4200
 ttaattcggg cgaaaaaaga aaaggagagg gccaaagagg agggcattgg tgactattga 4260
 60 gcacgtgagt atacgtgatt aagcacacaa aggcagcttg gagtatgtct gttattaatt 4320
 tcacaggtag ttctggctca ttgggtgaaag tttgcccgtt gcagagcaca gaggccgcag 4380
 aatgtgtctc agatccgat gctgacttgc tgggtattat atgtgtgcc aatagaaaga 4440
 gaacaattga cccggttatt gcaaggaaaa tttcaagtct tgtaaaagca tataaaaaa 4500

65

ES 2 320 527 T3

5 gttcaggcac tccgaaatac ttggttggcg tgtttogtaa tcaacctaa gaggatgttt 4560
 tggctctggt caatgattac ggcattgata tctccaact gcattggagat gagtcgtggc 4620
 aagaatacca agagtctctc ggtttgccag ttattaaaag actcgtatctt ccaaaagact 4680
 gnaacatact actcagtgca gcttcacaga aacctcattc gtttattccc ttgtttgatt 4740
 cagaagcagg tgggacaggt gaacttttgg attggaactc gatttctgac tgggttggaa 4800
 ggcaagagag ccccgaaagc ttacatttta tgttagctgg tggactgacg ccagaaaatg 4860
 10 ttggtgatgc gcttagatta aatggcgta ttggtgtga tgaagcgga ggtgtggaga 4920
 caaatggtgt aaaagactct aacaaaatag caaatctcgt caaaaatgct aagaaatagg 4980
 ttattactga gtagtattta ttaagtatt gtttgtgac ttgccgatct atccggtgtg 5040
 aaataccgca cagatgogta aggagaaaat accgcacacg gaaattgtaa acgttaatat 5100
 15 ttgttfaaaa ttcgogttaa atttttgta aatcagctca ttttttaacc aataggccga 5160
 aatcgcaaaa atcccttata aatcaaaaga atagaccgag atagggttga gtgttgttcc 5220
 agtttggaac aagagtccac tattaaagaa cgtggactcc aacgtcaaac ggcgaaaaac 5280
 20 cgtctatcag ggcgatggcc cactacgtga accatcacc taatcaagtt ttttggggtc 5340
 gaggtgccgt aaagcactaa atcggaaacc taaagggagc ccccgattta gagcttgacg 5400
 gggaaagccg gcgaacgtgg cgagaaagga agggaagaaa gcgaaaggag cgggcgctag 5460
 ggcgctggca agtgtagcgg tcaogctgcg cgtaaccacc acaccgccc cgottaatgc 5520
 25 gccgctacag ggcgctgccc gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt ggggaaggcg 5580
 atcggtgccg gccctctcgc tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg 5640
 attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtcg 5700
 tccaagcttt cgcgagctcg agatcccagc ctltgcaaat taaagccttc gagcgtccca 5760
 30 aaacctctc aagcaagggt ttcagtataa tgttacatgc glacacgct ctgtacagaa 5820
 aaaaaagaaa aatttgaaat ataaataacg tcttaatac taacataact ataaaaaat 5880
 aaatagggac ctgacttca ggttgtctaa ctctctctt ttcggttaga gcggatgtgg 5940
 35 ggggagggcg tgaatgtaag cgtgacataa ctaattacat gatctcttt tgttgttcc 6000
 ggtgtacaa tatggacttc ctctttctg gcaaccaaac ccatacatcg ggattcctat 6060
 aatacctcg ttggtctccc taacatgtag gtggcggagg ggagatatac aatagaacag 6120
 40 ataccagaca agacataatg ggctaaacaa gactacacca attacactgc ctctattgat 6180
 glgglacata acgaactaat actgtagccc tagacttgat agccatcctc atatcgaagt 6240
 ttcactacc tttttccatt tgccatctat tgaagtaata ataggcgcct gcaacttctt 6300
 ttctttttt ttctttctc tctccccctg tgttgtctca ccatactcgc aatgacaaaa 6360
 45 aaaatgatgg aagacactaa aggaaaaaat taacgacaaa gacagcacca acagatgtcg 6420
 ttgttccaga gctgatgagg ggtatcttcg aacacacgaa acttttctct tcttctctc 6480
 acgcacacta ctctctaag agcaacggta tacggccttc ctccagtta cttgaatttg 6540
 aaataaaaa agtttgccgc tttgctatca agtataaata gacctgcaat tattaatctt 6600
 50 ttgtttctc gtcattgttc tcttctctt tcttctctt ttcttttct gcacaatatt 6660
 tcaagctata ccaagcatac aatcaactcc aagcttgaag caagcctcct gaaagatgaa 6720
 gctactgtct tctatcgaac aagcatgcga tatttgccga cttaaaaagc tcaagtgtc 6780
 55 caaagaaaaa ccgaagtgcg ccaagtgtct gaagaacaac tgggagtgtc gctactctcc 6840
 caaaacaaa aggtctccgc tgactagggc acatctgaca gaagtggaat caaggctaga 6900
 aagactggaa cagctatttc tactgatttt tctctcgaaa gaccttgaca tgattttgaa 6960
 aatggattct ttacaggata taaaagcatt gttaacagga ttatttgtac aagataatgt 7020
 60 gaataaagat gccgtcacag atagattggc ttcagtggag actgatatgc ctctaact 7080
 gagacagcat agaataagtg cgacatcctc atcggagag agtagtaaca aaggtcaag 7140
 acagttgact gtatcgccgg aattcttaat acgactcact ataggcata tggccatgga 7200
 ggcctcggg 7209

65 <210> 9

<211> 6820

ES 2 320 527 T3

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

5 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 9

```

10   gatccgtcga cagatctccc tatagtgagt cgtattactg cagagatcta tgaatcgtag 60
    aactgaaaa accccgcaag ttcacttcaa ctgtgcatcg tgcaccatct caatttcttt 120
    catttataca tcgttttgcc ttcttttatg taactatact cctctaagtt tcaatcttgg 180
15   ccatgtaacc tctgatctat agaatttttt aaatgactag aattaatgcc catctttttt 240
    ttggacctaa attcttcatg aaaatatatt acgagggcctt attcagaagc tttggacttc 300
    ttcgccagag gtttggtcaa gtctccaatc aaggttgtcg gcttgtctac cttgccagaa 360
    atttacgaaa agatggaaaa gggcaaatc gttggtagat acgttggtga cacttctaaa 420
20   taagcgaatt tcttatgatt tatgattttt attattaat aagttataaa aaaaaataagt 480
    gtatacaaat tttaaagtga ctcttaggtt ttaaacgaa aattcttggt cttgagtaac 540
    tctttctgtg aggtcagggt gctttctcag gtatagcatg aggtcgcctt tattgaccac 600
25   acctetaccg gcatgcccga aattccccta ccctatgaac atattccatt ttgtaatttc 660
    gtgtcgtttc tattatgaat ttcatttata aagtttatgt acaaatatca taaaaaaga 720
    gaatcttttt aagcaaggat tttcttaact tcttcggcga cagcatcacc gacttcggtg 780
    gtactgttgg aaccacctaa atcaccagtt ctgatacctg catccaaaac ctttttaact 840
30   gcatcttcaa tggccttacc ttcttcaggc aagttcaatg acaatttcaa catcattgca 900
    gcagacaaga tagtgccgat agggccaacc ttattctttg gcaaatctgg agcagaaccg 960
    tggcatgggt cgtacaaaacc aaatgcggtg ttcttgtctg gcaaagaggc caaggacgca 1020
35   gatggcaaca aaccaagga acctgggata acggaggcct catcggagat gatatcacca 1080
    aacatggttc tgggtgattat aataccattt aggtgggttg ggttcttaac taggatcatg 1140
    gggcagaat caatcaattg atgtgaaacc ttcaatgtag gaaatcgtt cttgatgggt 1200
40   tcctccacag tttttctcca taatctttaa gaggccaaaa cattagcttt atccaaggac 1260
    caaataggca atgggtgctc atgtttagg gccatgaaag cggccattct tgtgattctt 1320
    tgcacttctg gaacggtgta ttgttacta tccaagcga caccatcacc atcgtcttcc 1380
    tttctcttac caaagtaa atacctccact aattctctga caacaacgaa gtcagtacct 1440
45   ttagcaaat gtggcttgat tggagataag tctaaaagag agtcggatgc aaagttacat 1500
    ggtcttaagt tggcgtacaa ttgaagttct ttacggattt ttagtaaacc ttgttcagg 1560
    ctaacactac ctgtaccca ttaggacca cccacagcac ctaacaaaac ggcacaaacc 1620
    ttcttgagg cttccagcgc ctcatctgga agtgggacac ctgtagcatc gatagcagca 1680
50   ccaccaatta aatgattttc gaaatcgaa ttgacattgg aacgaacatc agaaatagct 1740
    ttaagaacct taatggcttc ggctgtgatt tcttgacca cgtggtcacc tggcaaaaac 1800
    acgatcttct taggggcaga cattagaatg gtatatcctt gaaatatata tatatattgc 1860
55   tgaatgtaa aaggtaagaa aagttagaaa gtaagcagat tgctaaccac ctattggaaa 1920
    aaacaatagg tccttaata atattgtcaa cttcaagtat tgtgatgcaa gcatttagtc 1980
    atgaacgctt ctctattcta tatgaaaagc cggttccggc ctctcacctt tctttttct 2040
60   ccaattttt cagttgaaaa aggtatatgc gtcaggcgac ctctgaaatt aacaaaaaat 2100
    ttccagtcac cgaatttgat tctgtgcgat agcgcctctg tgtgttctcg ttatgttgag 2160
    gaaaaaata atggttgcta agagattcga actcttgcat cttacgatac ctgagtattc 2220
    ccacagttgg ggatctcgac tctagctaga ggatcaatc gtaatcatgg tcatagctgt 2280
65   ttctgtgtg aaattgttat ccgctcacia ttccacacia catacgagcc ggaagcataa 2340
    agtgtaaagc ctggggtgcc taatgagtga ggtaactcac attaatgoc ttgcgctcac 2400

```

ES 2 320 527 T3

5 tccccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgga ttaatgaatc ggccaacgcg 2460
 cggggagagg cggtttgcgt attgggcgct cttccgcttc ctgcctcact gactcgtgc 2520
 gctcggctcgt tcggctgcgg cgagcggat cagctcactc aaagcgggta atacggttat 2580
 ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca 2640
 ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc 2700
 atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc 2760
 10 aggcgtttcc ccctggaagc tcctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg 2820
 gatacctgtc cgctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta 2880
 ggtatctcag ttcgggtgag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccg 2940
 ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac 3000
 15 acgacttacc gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag 3060
 gcggtgctac agagttcttg aagtggggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat 3120
 ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat 3180
 ccggcaaaaa aaccaccgct ggtagcgggt gttttttgt ttgcaagcag cagattaccg 3240
 20 gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt 3300
 ggaacgaaaa ctcacgttaa gggatttttg toatgagatt atcaaaaagg atcttcacct 3360
 agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatata gagtaaacct 3420
 ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc 3480
 25 gttcatccat agttgcctga ctecccgctg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac 3540
 catctggccc cagtgctgca atgataccgc gagaccacg ctaccggct ccagatttat 3600
 cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggctctgca actttatccg 3660
 cctccatcca gtctattaat tgttgcggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata 3720
 30 gtttgcgcaa cgttgttgcc attgctacag goatcgtggt gtcacgctcg tegtttggta 3780
 tggttcatt cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt 3840
 gcaaaaaagc ggttagctcc ttcggtctc cgcctgttgt cagaagtaag ttgycgcag 3900
 35 tgttatcact catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa 3960
 gatgcttttc tgtgactggt gactactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgggc 4020
 gaccgagttg ctcttgcocg gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt 4080
 taaaagtgct catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc 4140
 40 tgttgagatc cagttcgatg taaccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcctctttta 4200
 ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aaatgcccga aaaaagggaa 4260
 taagggcgac acggaatgt tgaatactca tactcttct ttttcaatat tattgaagca 4320
 tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaaataac 4380
 45 aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa aagtccacc tgacgtctaa gaaaccatta 4440
 ttatcatgac attaacctat aaaaataggc gtatcacgag gccctttcgt ctcgcgcggt 4500
 tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc ggagacggtc acagcttgtc 4560
 50 tgtaagcggg tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc gtcagcgggt gttggcgggt 4620
 gtcggggctg gcttaactat gcggcatcag agcagattgt actgagagtg caccataacg 4680
 cattaagca taaacacgca ctatgcccgt cttctcatgt atatatata acaggcaaca 4740
 cgcagatata ggtgcgagct gaacagtgag ctgtatgtgc gcagctcgcg ttgcattttc 4800
 ggaagcgcct gttttcggaa acgctttgaa gttcctattc cgaagttcct attctctagc 4860
 55 tagaaagtat aggaacttca gagcgtttt gaaaaccaa agcgcctctga agacgcactt 4920
 tcaaaaaacc aaaaacgcac cggactgtaa cgagctacta aatattgcg aataccgctt 4980
 ccacaaacat tgcacaaaag tatctctttg ctatatatct ctgtgtctata tccctatata 5040
 acctacccat ccacctttcg ctcttgaac ttgcatctaa actcgacctc tacatttttt 5100
 60 atgtttatct ctagtattac tctttagaca aaaaaattgt agtaagaact attcatagag 5160
 tgaatcgaaa acaatacga aatgtaaaaa tttcctatac gtagtatata gagacaaat 5220
 agaagaaacc gttcataatt ttctgaccaa tgaagaatca tcaacgctat cactttctgt 5280

ES 2 320 527 T3

```

tcacaaagta tgcgcaatcc acatcgggat agaataaat cggggatgcc tttatcttga 5340
aaaaatgcac ccgcagcttc gctagtaatc agtaaaccgc ggaagtggag tcaggctttt 5400
tttatggaag agaaaataga caccaaagta gccttcttct aaccttaacg gacctacagt 5460
5 gcaaaaagtt atcaagagac tgcattatag agcgcacaaa ggagaaaaaa agtaatctaa 5520
gatgctttgt tagaaaaata gcgctctcgg gatgcatttt tgtagaacaa aaaagaagta 5580
tagattcttt gttggtaaaa tagcgtcttc gcgttgcat tctgttctgt aaaaatgcag 5640
ctcagattct ttgtttgaaa aattagcgcct ctgcggttgc atttttgttt tacaaaaatg 5700
10 aagcacagat tcttcggttg taaaatagcg ctttcgcggt gcatttctgt tctgtaaaaa 5760
tgcagctcag attcctttgt tgaaaaatta gcgctctcgc gttgcatttt tgttctacaa 5820
aatgaagcac agatgcttcg ttgottgcat gcaacttctt ttcttttttt ttcttttctc 5880
15 tctcccccg tgttgtctca ccatatccgc aatgacaaaa aaaatgatgg aagacactaa 5940
aggaaaaaat taacgacaaa gacagcacca acagatgtcg ttgttccaga gctgatgagg 6000
ggtatcttcg aacacacgaa actttttcct tccttcattc acgcacacta ctctctaag 6060
agcaacggta tacggccttc cttccagtta cttgaatttg aaataaaaaa agtttgccgc 6120
20 tttgctatca agtataaata gacctgcaat tattaatctt ttgtttcctc gtcattgttc 6180
tcgttccctt tcttccttgt ttctttttct gcacaatatt tcaagctata ccaagcatac 6240
aatcaactcc aagctttgca aagatggata aagcggattt aattcccag cctccaaaaa 6300
25 agaagagaaa ggtcgaattg ggtaccgccc ccaattttta tcaaagtggg aatattgctg 6360
atagctcatt gtccttcaact ttcactaaca gttagcaacg tccgaacctc ataacaactc 6420
aaacaaatc tcaagcgctt tcacaaccaa ttgcctcctc taacgttcat gataacttca 6480
tgaataatga aatcacggct agtaaaattg atgatggtaa taattcaaaa cactgtcac 6540
30 ctggttgac ggaccaaact gcgtataacg cgtttggaat cactacaggg atgtttaata 6600
cactacaat ggatgatgta tataactatc tattcgatga tgaagatacc ccaccaaacc 6660
caaaaaaga gatcgaattc ttaatacgac tcaactatagg gccatggac gaagaatcca 6720
35 gttcattctt atgtacctat gctgagaatc gtgccaataa gaagccaata ctctcttaga 6780
tgatgcaata aatattaata taaaacaaaa cagaaggctg 6820

```

<210> 10

<211> 10597

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 10

```

50 ccggtggtac cgggcccccc ctcgaggteg acggtatcga taagctttcg tcattgaaaa 60
gaaggataag aatggacgat ggaagaagc tctcgttgtt ccaggagatc agaaaacagc 120
aactgttcca aatcttaagg agggagaaga atatcaatc agaatttctg ctcgtaacaa 180
55 ggctggaact ggagatcctt ctgatccttc tgatcgtgtt gttgcaagc caagaaacct 240
tgctccaaga attcatcgtg aagatcttct tgatacaact gtcaaggctg gagccactct 300
caagttcatt gttcatattg atggtgagcc agcaccagat gtaacatggt cattcaatgg 360
60 aaaaggaatc ggagagagca aggctcaaat tgaaaatgag ccatacatct cgagatttgc 420
tttgccaaag gcacttcgta agcaaagtgg aaaatatacc atcactgcaa ccaacattaa 480
tggaactgac agtgtcacta tcaatatcaa ggtaaaaagc aagccaacga aaccaaaggg 540
accaatcgag gtaactgatg tcttcgaaga tcgtgcaact cttgactgga aaccaccaga 600
65 ggatgacgga ggagagccaa ttgagttcta tgaaattgaa aagatgaaca ccaaggacgg 660
aatctgggtt ccatgtggac gtagtggaga taccacttcc acagtcgatt cactcaacaa 720

```

ES 2 320 527 T3

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

gggagatcat tacaagttcc gtgtcaaggc tgtcaacagc gaaggacctt ctgatccatt 780
 ggaaactgaa accgatattt tggctaaaaa tccatttgat cgtccagata gaccaggctcg 840
 tccagagcca actgattggg attctgatca tgttgatctc aagtgggatc cactagtctt 900
 agaagcgtcg ctaagggggc cctcgtcgag tccgtcacia tcacctgaaa ctccaaggc 960
 agccagtgag gaacgtgaag aagaagaaaa agagtcactt gaacaggttt gattttcttt 1020
 ctggtcaaaa agatgaaatt attgatttcc agccagatac tcccaaaact agcagcgaga 1080
 agtctgcaag tcgttcacag tcccccagag aatcgcggga agtgagccaa gaggtatggt 1140
 tttcaaaaat caataactga tcataatttt tattgtttgg tgaatttaag aaaataatat 1200
 tcgaaaattc ctctgaatta tcaagattgc agtattaatt tcgagaaaaa ttgagatatt 1260
 catagagcta ttgtaaattt tcttgatttc agactgaac ttcggaaaaa caagagaaaa 1320
 tcaaagaaaa ggatgacggg gatgatcagc ctggcacacc gaacagctat agaagccggg 1380
 aaacttcacc agctccaaaa aggtccaagg agaccaggtt tgtcaaaagc ttctctcgat 1440
 taattctcat ttcaatttt cagagaatca gagtctctcg aaaaatcccc ggttcgttca 1500
 agatctccca gaaggcttcc agcacgttcc ccgtcacgat ctcttagacg gcgcccagaa 1560
 agaagctcag aaagaaagca atccgaagag ccagcaccgc taccagagaa aaagaagaaa 1620
 gagccgctgg atattctacg aacaagaacc ggaggagcat atattccacc cgccaaactt 1680
 cgacttatgc aacaacagat tagtgataag caaagtgaac agtatcagag aatgaattgg 1740
 gaaagaatga agaaaaagat tcacggattg gttaacagag tcaacgcgaa gaatcttgtt 1800
 caaatgtcoa gagaacttct tcaagagaat gtgattcgtt caaagtgagt gagaaaatcg 1860
 aaggaaaagg aaagaattaa ttttaatttt caggggactt ctctgccgtg acattattca 1920
 agctcaggct ttctcaccag gattctctaa cgtctatgca gctttggcgg cagttatcaa 1980
 ctcgaaattc cctcatgtcg gtgaacttct tctcctcgt ctgattgtac agttcaaaag 2040
 aagtttccgt agaaatgaca gaggcgtcac ggtgaacgtg atcaaatca tcgcacattt 2100
 gattaatcaa caagttgtc acgaagttct tgcgctggaa atcatgattc tgatgcttga 2160
 agaaccaact gatgattcag ttgaagtcgc cattgcgttc ctgaaagagt gtggagcaaa 2220
 gcttctggag attgctccag cagctcttaa cagtgtctac gaccgtcttc gtgcaattct 2280
 catggaaaact gaaagatcgg aaaatgcact ggatcgacgt attcagtata tgattgagac 2340
 tgcaatgcag attcgaaaag acaaatttgc ggtaaggtag aatatataaa tagtttatta 2400
 gaaaaaaata aattagaata atttaatttc ctactagcca atcaggcgac ctttttgcgc 2460
 atagttctat tattgaaaaa tttggagaat ttctcatatt ctgcctcgga aatctggaat 2520
 tcgacgagat cttctggctt ctgtgcagct gcategcttt gtgctccctt tctcgttgt 2580
 cttctgtgta caccaagaac cttgttgagt tcatcaactg aatctgtgac tggcttgtt 2640
 ctactggat gcactagacg actgattctc gagaaatcag attgagttgc gattagggtg 2700
 acctagaaat tgggaataat acgaactttt gaaaatattc agggaggatta aaaaaattat 2760
 tctcgacaat cctacaaatt tacttattgc acctgttgc tccaacattt ttcattaaaa 2820
 gttaatgaaa aaatgtagaa aatcgaaat tggcaatttt cagaccattt ttaagcattt 2880
 tcaaaaaaaaa attgcagctg aataaaatgt cattttcaga taaatcgagc gattttctgt 2940
 tgtctgacac tagtttttag ttttaaaaaa tgttggaaga acatggtgca ataggtaatt 3000
 tcatagaatt tccatgtgtt ttttttcaat taaccaatta tccaaatctt ccaaactcac 3060
 attttgogga gctgggctat caagaatctg ctgcagtttt ataagacgag catctctgat 3120
 atcactgaaa attaatTTTT aatcaaaact tgaatatcaa ctaaaccac ttattaactt 3180
 tctcgatctt ctgtcgttcg gtacgatgac ggtgaagaag ccaattgtag tagttgattt 3240
 ggttcaagtc ctttcggtgt tgtacgtcag tgtcctgcaa tgcattttag ttataactta 3300
 ggcctaagat tcaatttaat gaagtgatta aatttgttct ctgaacctct taagatgate 3360
 ttttgatta gaaacatata agacaggttt acctatctat taaaaacag atcaaaatag 3420
 atacgoccaa atcggataat ccactgcctac ctggcatcta ggaacgtgtt cttagaagat 3480
 ttcttacgta atcgtatgaa gaaataacaa tttgatcgtt ggccagcaaa aatagggttt 3540
 taagtgggat agtgttttta ttactaacc ggaaaatttt atagtttttt tttgcaagaa 3600

ES 2 320 527 T3

5 accactgaaa accccctaata tgtatacatt ttttggagca gcttctggtc tttttgagca 3660
 ataaaattcg ataaaacaga atthaagtgt aaattgttca catttagttt ctattttatc 3720
 aaattttggt gctcaaaaac attcgaagct gctctaaaaa aatgcattaa aaaaggggtt 3780
 ttcagtgggt tttcacatta aaaaagctaa ttttaactaa aaatccatca tatttccaac 3840
 tttgtcacia caataaaatg ctggtcaaaa tgtgttcgaa aaaatgtttt tttttttaac 3900
 ttttataatt taaaaatagt tttctttcgc tgggacacac acatttttgg gcgtaaattt 3960
 10 tcagttcaaa tttccatttt tacaaccata atcataaagc tacgtctgat ctctctcgca 4020
 cttacctgcg cctgattcga aagaacaacc gtagccaaaa gaacaagaag aacaagcacg 4080
 tagttgtggt agtggacggt catcacgcaa tactgaccaa tggctgtggg gtctcacttt 4140
 ccgtactatt gagagagggg agactgaaga tggcaattga ggacagtgtc ttcgacgcac 4200
 15 gcatgcatcc ataagcataa tccaggaggg atggagagaa aatcttggtt tctaagcccc 4260
 tccctttgta atacatacac atatctaata ccgaagaatg gctaattgaa tggacgtcag 4320
 ctgttgctgt agttgccaag gcatcatcga tgaaataact gaaagaaaga attaataaat 4380
 tattgcaggc gtatccggcg gtcattgaag acttggactt gattgaggag gaggatcaga 4440
 20 tcatccatac acttaatttg gaggatgctg ttgatccgga aatgggctt agtaagtgc 4500
 tgaccacacg cggggggcat taatttaata aattgaattc catttcagat gtgttcaaac 4560
 tagatccaga attcgaaaag aacgaggagg tttatgagga gatccgtaag gaaatcattg 4620
 gaaacgcccga tatttcggat gaggatggtg gcgacgagtt ggatgatgaa gaagagggtta 4680
 25 gtgatgtgga agaggctccg aagaagacta cagagattat tgataaact gatcagaatt 4740
 gactgctttc agaaggtatt cattttgagt tttgggccgg caaatctgta agttgccggg 4800
 tgccgaaaat ttgctgaatt tgccgaaaaa aaaaattccg gaatttattt aaaaactttt 4860
 tgtaaaaatt aaattaaatt tgcaactttt cagagaagtc tacctgacaa tgcaatcacc 4920
 30 tttggactac caagaagctg ctcaciaaatt gctgaaaatg aagattccag acagcatgca 4980
 ggtcagcgat gttgcaaaaga aaaattttcg accaaaaaaa ccaaccaatc ataaaattta 5040
 aaaaaaaaact cggttttttt cttttttttt atcagagaaa aaccaaaaaa atgtattttt 5100
 35 gccaaattct aaaatactat ccccgaaatt ttcaatattt tctctttcag aacgaactct 5160
 gcgcgatgct tgtcgattgt tgtgtcaac agcgtacctt cgagcgattc tacggaatgc 5220
 tcatcgaacg tttctgccga cttcgcctcg aataccagca atactttgaa aagctctgcc 5280
 aggacacgta ttccacgatt caccgaattg acatcacaaa actgcggaat ttggctcgcc 5340
 40 ttattgctca tttgcctcgc acggatgcta ttgactggaa gattttggcc gatatgaaaa 5400
 tgaccgaaga ggacacaact tcttctggca gaatctatat taaataata tttaatgaac 5460
 ttgtggagge gatgggaatg gttaaaactc attcgagagt tactgatccg tgagtttccct 5520
 agagagagtt gttttcgtat tcaattttcc ctattttcag aactttggct cattgctttg 5580
 45 ttgattatt cccacgaact aatccgaaca gcgcacgatt ttcgatcaac ttcttcacia 5640
 tgattggatt gggtggttg acgttgaac ttcgtgaatg gctggcaaag ggtctcaaga 5700
 agaagaagg aatgctggat cagttgaagg ccgaatcaag ctcagattca tcgtctcttt 5760
 cggattcgtc agactcgtct gattcttcgg attctgacga ttcatccgac tcgtcttcag 5820
 50 attcctcacc ttcttcagaa tcagagccag aaccaccgaa gaaaaagaag aagaagaaca 5880
 gtgaagagag ttccaaaaag aaggaaaaag agaatattgg tcgacgggat cgtggagaca 5940
 agagagctga acgtcatcgt gatcaaagtg tggagaacaa ggacaaggat cgtcgacgct 6000
 gccaggattc tgacgaaaat cgtcggccag aacgaggaga tgaccgcaag gatcggagta 6060
 55 aagatcgtcg tcgtcaagac tcggatgatg aggatcggaa aggctgtgaa cgtcgggaag 6120
 attcagggga aagacgtcgc ggagatcggg atcgacgtga tcgaaacaag gatcaggagg 6180
 atcacocgtga agatcgcctg gaccgaagca aggatcgtga ggatcgacgt gatcgcctgc 6240
 gtcatgactc tgatgatgat cgtaaaactc gtcgggatag aagtgaagag cgaggaggac 6300
 60 gtcgtcgtga agtggaaatc gatgatcgac gcccacgtcg ttgaattttc aaattttaaa 6360
 tactgaatat ttgttttttt tctattattt tatttattct ctttgtgttt tttttcttgc 6420
 tttctaaaaa attaattcaa tccaaatcta aacatgagcg gttttttttc tctttccgtc 6480

65

ES 2 320 527 T3

tccaattcg tattccgctc ctctcatctg aacacaatgt gcaagtttat ttatcttctc 6540
 gctttcattt cattaggacg tggggggaat tggtggaag gggaaacaca caaaaggatg 6600
 atggaaatga aataaggaca cacaatatgc aacaacattc aattcagaaa tatggaggaa 6660
 5 ggtttaaaag aaaacataaa aatatataga ggaggaagga aaactagtaa aaaataagca 6720
 aagaaattag gcgaacgatg agaattgtcc tcgcttggca aatgcgaatc cgtatggaga 6780
 ggcacgtttg gcgaaggcaa atgttcggta tggagatctg taaaaattht taagttgaaa 6840
 10 tttggtgttg ctcttttaca aaatthtccg atthtccgtt gaaattacgg tgccagggtc 6900
 cgacacgtct tccaatthtt caaattcaaa agagccttha atgggctgta gttgctaatt 6960
 tctcgthttt gaaaatthtt ctccgthta atcgaaatth gatgtattht atthtatgatt 7020
 ttcaataaat ttcaagaaa ctggtgaaaa ctoggaaaat tgtgaactac agtaatocaa 7080
 15 tccttaaagg cgcacacctt ttaaagtcc gccccaatac gataththtt taagattcgc 7140
 tagagcggcc gccaccgagg tggagctcca attcgcccta tagtgagtcg tattacaatt 7200
 cactggccgt cgtthtaca cgtcgtgact gggaaaacc tggcgthacc caacttaate 7260
 gccttgccgc acatccccc ttccgcagct ggcgtaatag cgaagaggcc cgcaccgatc 7320
 20 gcccttccca acagttgctg agcctgaatg gcgaatggga cgcgcctgt agcggcgcat 7380
 taagcgcggc ggtgtggtg gttacgcgca gcgtgaccgc tacacttgc agcgcctag 7440
 cgcgcctcc thtgccttc thccttccct thtccgccac gttcgcggc thtcccgc 7500
 aagctctaaa tcgggggctc ccttagggt tccgatttag tctthtaccg cacctcgacc 7560
 25 ccaaaaaact tgattagggt gatggtcac gtagtggcc atccgcctga tagacggtt 7620
 ttccctttht gacgttgag tccacgttct ttaatagtgg actctgttc caaactggaa 7680
 caacactcaa cctatctcg gctatctt thgattata aggtattht ccgatttccg 7740
 cctattggtt aaaaaatgag ctgatttaac aaaaattht cgcgaattht acaaaaatat 7800
 30 taacgtttac aatthcaggt ggcacttht ggggaaatgt gcgcggaacc cctatthgt 7860
 taththtcta aatacattca aatatgtat cgcctatgag acaataacc tgataaatgc 7920
 ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga gtattcaaca thtccgtgtc gcccttattc 7980
 cctththtgc gcatthtgc ctctcgttht thgtccacc agaaacgctg gtgaaagtaa 8040
 35 aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag tgggttacc cgaactgat ctcaacagcg 8100
 gtaagatcct tgagagtht cgcgccgaag aacgtthtcc aatgatgagc actthttaaag 8160
 thtctgctatg tggcgcggtt thtcccgta thgacgcgg gcaagagcaa ctcggtcgc 8220
 gcatacacta thtccagaat gacttggtg agtactcacc agtcacagaa aagcatctta 8280
 40 cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat aagcatgagt gataaacactg 8340
 cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct ththttcaca 8400
 acatggggga tcatgtaact cgcctgac gttgggaacc ggagctgaa gaagccatac 8460
 caaacgacga gcgtgacacc acgatgctg tagcaatggc aacaacgttg cgcjaaactat 8520
 45 taactggcga actacttact ctgcttccc ggcaacaatt aatagactgg atggaggcgg 8580
 ataaagtgc aggaccactt ctgcgctcgg ccttccggc tggctggtt atgtctgata 8640
 aatctggagc cggtgagcgt ggtctcgcg gtatcattgc agcaactggg ccagatggtt 8700
 agcctcccg fatcgtagtt atctacagca cgggcagtca ggcaactat gatgaacgaa 8760
 50 atagacagat cgcctgagata ggtgcctcac tgattaagca thggttaactg tcagaccaag 8820
 thtactcoata tatactttag attgatttaa aacttcatth ttaatthtaa aggatctag 8880
 tgaagatcct thttgataat ctcatgacca aaatccctta acgtgagtht tctgttccact 8940
 gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg agatccttht thtctgcgcg 9000
 55 taatctgctg ctgcaaaaca aaaaaaccac cgcctaccgc ggtggtthgt thcgggatc 9060
 aagagctacc aactcttht ccgaaggtaa ctggcttccag cagagcgcag ataccaaata 9120
 ctgtccttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa gaactctgta gcaccgccta 9180
 60 catacctcgc tctgctaate ctgttaccag tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc 9240
 ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc gcagcggctg ggtgaaccg 9300
 ggggttctg caccagccc agcttgagc gaacgaacta caccgaactg agatacctac 9360

ES 2 320 527 T3

```

agcgtgagca ttgagaaaagc gccacgcttc ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg 9420
taagcggcag ggtcggaaaca ggagagcgca cgagggagct tccagggggg aacgcctggt 9480
atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct 9540
5  cgtcaggggg gccgagccta tggaaaaacg ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg 9600
ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttctgcggtt atcccctgat tctgtggata 9660
accgtattac cgctttgag tgagctgata ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca 9720
10 gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gcccaatacg caaacgcctt ctccccgcgc 9780
gttggccgat tcattaatgc agctggcacg acagggttcc cgactggaaa gcgggcagtg 9840
agcgcacgc aattaatgtg agttacctca ctcattaggc accccaggct ttacacttta 9900
tgcttccggc tcctatggtg tgtggaattg tgagcggata acaatttcac acaggaaaca 9960
15 gctatgacca tgattacgcc aagctcggaa ttaacctca ctaaaggaa caaaagctgg 10020
gggggatcct caaaatcgt cttccgctct gaaaaacgaa agtggacctt tgacatccga 10080
aaaaatggc gaaaaaatga aattgagctt tttgggtcga aaaaaatggt tttagaatgc 10140
20 tgagaacacg ttaaacacga agatcatatt tattttgaga cccggatgct ctgaaaatgt 10200
ctgacataga tttaaaaaag catatatata tttttcattt tcaacgtgaa agttttgtgc 10260
aactttatag aatctcctat tggcacattg ttttttattt aactgaggca gtttttgaac 10320
acctttttga aactttgaat ctctttgaag tatactgtcg aaaagactga cttgagcgtt 10380
25 cgaaatgcca gaagaaaact atatttgaat ctcgcgctaa attgagaaat gcaaccgcgc 10440
tccactggac aattggaaaa aaaatttatt cggaggcgac aacgggtattt tcgaaattga 10500
ttttctgtgt attttctcat tttttataaa ttcttctttg atttatcgtt cgtttgtgag 10560
30 aaatttaatt gtattcaaac ttttttatag taagata 10597

```

<210> 11

<211> 10599

35 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

40 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN plasmídico

<400> 11

```

45  ccggtggtac cgctagccgt acgaaccogg gttctagaac tagtggatcc cacttgagat 60
caacatgatc agaatcccaa tcagttggct ctggacgacc tggctctatct ggacgatcaa 120
atggattttt agccaaaata tcggtttcag tttccaatgg atcagaaggc ccttcgctgt 180
tgacagcctt gacacggaac ttgtaatgat ctcccttgtt gagtgaatcg actgtgaagt 240
50  gggatctcc actacgtcca catggaaccc agattccgtc cttgggtgtc atcttttcaa 300
ttcatagaa ctcaattggc tctcctccgt catcctctgg tggtttccag tcaagagttg 360
cacgatcttc gaagacatca gttacctcga ttggtccctt tggtttctgt ggcttgcttt 420
ttacctgat attgatagtg acactgtcag ttccattaat gttggttgca gtgatggat 480
55  attttccact ttgcttacga agtgcccttg gcaaagcaaa tctcgagatg tatggctcat 540
ttcaatttg agccttgctc tctccgatcc cttttccatt gaatgacct gttacatctg 600
gtgtcggctc accatcaata tgaacaatga acttgagagt ggctccgacc ttgacagttg 660
60  tatcagaaag atcttcacga tgaattcttg gagcaagggt tcttggcttc gcaacaacac 720
gatcagaagg atcagaagga tctccagttc cagccttgtt acgagcagaa attctgaatt 780
gatattcttc tcctctctta agatttgaa cagttgctgt tttctgatct cctggaacaa 840
cgagagcttc ttccatcgt ccattcttat ccttctttc aatgacgaaa gcttatcgat 900
65  accgtcgacc tcgagggggg gccctcgtcg agtcggtcac aatcacctga aactccaaag 960
gcagccagtg aggaacgtga agaagaagaa aaagagtcac ctgaacaggt ttgattttct 1020

```

ES 2 320 527 T3

ttctggctaa aaagatgaaa ttattgattt tcagccagat actcccaaaa ctagcagcga 1080
 gaagtctgca agtcggtcac agtcgcccag agaatcgagg gaagtgagcc aagaggtatg 1140
 5 tttttcaaaa atcaataact gatcataatt tttattgttt ggtgaattta agaaaataat 1200
 attcgaaaat tcctctgaat tatcaagatt gcagtattaa tttcgagaaa aattgagata 1260
 ttcatagagc tattgtaaat tttcttgatt tcagactgaa acttcgaaa atcaagagaa 1320
 aatcaaaaga aaggatgacg gggatgatca gcctggcaca ccgaacagct atagaagccg 1380
 10 ggaaacttca ccagctccaa aaagggtcaa ggagaccagg tttgtcaaaa gcttcctgcg 1440
 attaattctc atttcaattt ttcagagaat cagagtctcc tgaaaaatcc ccggttcggt 1500
 caagatctcc cagaaggtct tcagcacggt ccccgctcag atctcctaga cggcgccgag 1560
 aaagaagctc agaaaagaag caatccgag agccagcacc gctaccagag aaaaagaaga 1620
 15 aaqagccgct ggatattota cgaacaagaa cgggaggagc atatatcca cccgccaaac 1680
 ttcgacttat gcaacaacag attagtata agcaaatga acagtatcag agaatgaatt 1740
 gggaaaagaa qaagaaaaag attcacgcat tggtaacag agtcaacgag aagaatcttg 1800
 ttcaaatgt cagagaactt ctcaagaga atgtgattcg ttcaaatga gtgagaaaat 1860
 20 cgaaggaaa gnaagaatt aatttaattt ttcaggggac ttctctgccc tgacattatt 1920
 caagctcagg cttctcacc aggattctct aacgtctatg cagctttggc ggcagttatc 1980
 aactcgaaat tcctctatgt cgggtgaactt cttctccgtc gtctgattgt acagttcaaa 2040
 agaagtttcc gtagaaatga cagaggcgtc acggtgaacg tgatcaaatt catcgccat 2100
 25 ttgattaatc aacaagttgc tcacgaagtt ctgctgctgg aatcatgat tctgatgctt 2160
 gaagaacca ctagatgatc agttgaagtc gccattgctt tctgaaaga gtgtggagca 2220
 aagcttctgg agattgctcc agcagctctt aacagtgtct acgaccgtct tegtgaatt 2280
 ctcatgaaa ctgaaagatc ggaaaatgca ctggatcgac gtattcagta tatgattgag 2340
 30 actgcaatgc agattcgaaa ggacaaattt gcggttaaggt agaatatata aatagtttat 2400
 tagaaaaaaa taaattagaa taatttaaat tctactagc caatcaggcg acctttttgc 2460
 gcatagttct attattgaaa aatttgagaa atttctcata ttctctctcg gaaatctgga 2520
 35 attcgacgag atctctctggc ttctgtgag ctgcatcgct ttgtgtccc tttctgctt 2580
 gtcttctgtg tacaccaaga accttgttga gttcatcaac tgaatctgtg actggcttgt 2640
 tgctcactgg atgcactaga cgactgatc tcgagaaatc agattgagtt gcgattaggg 2700
 tgacctagaa attgggaata atacgaactt ttgaaaatat tcaggaggat taaaaaatt 2760
 40 attctcgaca atcttcaaaa tttacttatt gcaccatggt gctccaacat tttcattaa 2820
 aagttaatga aaaaatgtag aaaatcgaa attggcaatt ttcagaccat ttttaagcat 2880
 tttcaaaaaa aaattgcagc tgaataaat gtcattttca gataaatcga gcgattttct 2940
 gttgtctgac actagttttt agtttttaaa aatgttgga gaacatggtg caataggtaa 3000
 45 tttcatagaa tttccatgtg tttttttca attaaccaat tatccaaatc ttccaaactc 3060
 acattttgag gagctgggct atcaagaatc tgctgcagtt ttataagacg agcatctctg 3120
 atatcactga aaattaattt ttaatcaaaa ctggaatatc aactaaacc cttatttaac 3180
 tttctcgatc ttctgtcggt cggtagcagc acggtgaaga agccaattgt agtagttgat 3240
 50 ttggttcaag tcttttgggt gttgtacgct agtgcctgct aatgctattt agttataact 3300
 taggcctaag attcaattta atgaagtgat taaatttgtt ctctgaaact ctttaagatga 3360
 tcttttggat tagaaacata taagacaggt ttacctatct attaaaaaac agatcaaaat 3420
 agatcagacc aaatcggata atccatgctt acctggcatc taggaacgtg ttcttagaag 3480
 55 atttcttacg taatcgtatg aagaataaac aatttgatcg ttggccagca aaaatagggt 3540
 ttttaagtgg atagtgtttt tattagctaa ccggaaaatt ttatagtttt tttttgcaag 3600
 aaaccactga aaaccacctt attgtataca ttttttgag cagcttctgg tctttttgag 3660
 caataaaatt cgataaaaaca gaatttaagt gtaaattgtt cacatttagt tctattttta 3720
 60 tcaaattttg ttgctcaaaa acattogaag ctgctctaaa aaaatgcatt aaaaagggg 3780
 ttttcagtggt ttttccatc taaaaaagct aattttaact aaaaatccat catatttcca 3840
 actttgtcac aacaataaaa tgctggtcaa aatgtgttcg aaaaatggtt tttttttta 3900

65

ES 2 320 527 T3

atttttataa tttaaaaata gtttttttct gctgggacac atacatthttt gggcgtaaat 3960
 tttcagttca aatttccatt tttacaacca taatcataaa gctacgtctg atctctctcg 4020
 cacttacctg cgctgattc gaaagaacaa cgttagccaa aagaacaaga agaacaagca 4080
 5 cgtagttgtg gtagtggacg ttcatacagc aatactgacc aatggctgtg gggctctact 4140
 ttccgtacta ttgagagagg ggagactgaa gatggcaatt gaggacagtg tcttcgacgc 4200
 acgcatgcat ccataagcat aatccaggag ggatggagag aaaaatcttg tttctaagcc 4260
 cctccctttg taatacatac acatatctaa taccgaagaa tggctaattg aatggacgtc 4320
 10 agctgttgct gtagttgcca aggcatactc gatgaaataa ctgaaagaaa gaattaaata 4380
 attattgcag gcgtatccgg cggctattga agacttgac ttgattgagg aggaggatca 4440
 gatcatccat aacttaatt tggaggatgc ggtgatccg gaaaatgggc ttagtaagtg 4500
 15 actgaccaca cgcggggggc attaatttaa taaattgaat tccatttcag atgtgttcaa 4560
 actagatcca gaattcgaaa agaacgagga ggtttatgag gagatccgta aggaaatcat 4620
 tggaaacgcc gatatttcgg atgaggatgg tggcgacgag ttggatgatg aagaagaggg 4680
 tagtgatgtg gaagaggctc cgaagaagac tacagagatt attgataata ctgatcagaa 4740
 20 ttgactgctt tcagaaggta ttcattttga gttttgggcc ggcaaatctg taagttgccg 4800
 gttgccgaaa atttgcgtgaa tttgccggaa aaaaaaatc cggaaattat ttaaaaactt 4860
 tttgtaaaaa ttaaatataa tttgcaactt ttcagagaag tctacctgac aatgcaatca 4920
 tctttggact accaagaagc tgctcaciaa ttgctgaaaa tgaagattcc agacagcatg 4980
 25 caggtcagcg atgttgcaaa gaaaaattht cgaccacaaa aaccaaccaa tcataaaatt 5040
 taaaaaaaaa ctccgtthtt tctthtttht ttatacgaga aaaaccacaaa aatgtattht 5100
 ttgcaaaatt ctaaaatact atccccgaaa thttcaatat thttctthttc agaacgaact 5160
 ctgctcgatg cttgtcgatt gttgtgctca acagcgtacc tacgagcgat tctacggaat 5220
 30 gctcatcgaa cgtttctgcc gacttcgctc cgaataccag caatactttg aaaagctctg 5280
 ccaggacacg tttccacga ttcaccgaat tgacatcaca aaactgcgga atttggctcg 5340
 ccttattgct catttgcctc cgacggatgc tattgactgg aagatthttg ccgatatgaa 5400
 aatgaccgaa gaggacacaa cttctctctg cagaatctat attaaatata tatttaatga 5460
 35 acttgtggag gcgatgggaa tggthaaact tcattcgaga gttactgatc cgtgagthtc 5520
 ctagagagag ttgtthtctg attcaattht cctatthttc agaactthtg ctcatthctt 5580
 tgthtgatta thccacgaa ctaatccgaa cagcgcacga thttcgatca actthttcac 5640
 aatgattgga thgggtggtt tgacgttgga acttcgtgaa tggctggcaa aggtctcaa 5700
 40 gaagaagaag ggaatgctgg atcagthgaa ggccgaatca agctcagatt catcgtctgc 5760
 thcggattcg tcagactcgt ctgattcttc ggattctgac gattcatccg actcgtcttc 5820
 agattctca tctthttcag aatcagagcc agaaccaccg aagaaaaaga agaagaagaa 5880
 45 cagtgaaag agthccaaaa agaaggaaaa agagaatatt ggtcgacggg atcgtggaga 5940
 caagagagct gaacgtcatc gtgatcaaa gthggagaac aaggacaagg atcgtcgacg 6000
 tcgccaggat thtgacgaaa atcgtcggcc agaacgagga gatgaccgca aggatcggag 6060
 taaagatcgt cgtcgtcaag actcggatga tgaggatcgg aaaggtcgtg aacgtcggga 6120
 50 agattcaggg gaaagacgtc gcgagatcg ggatcgactg gatcgaaaaa aggatcagga 6180
 ggatcaccgt gaagatcgcc gtgaccgaag caaggatcgt gaggatcgac gtgatcgccg 6240
 tcgtcatgac thtgatgatg atcgtaaaac thgtcgggat agaagthgag agcagggagg 6300
 acgtcgtcgt gaagthgaa cggatgatcg acgcccagct cgtthgaaatt thcaatthta 6360
 55 aatactgaa atthgtthtt thtctatta thtattthtt ctctthgtgt thttthtctt 6420
 gctthtcaaa aaatthattc aatccaaatc thaaatgag cgtththttt thctthtccg 6480
 thtcccaatt cgtatthcgc thctctcatc thaacacaat thgcaagtht atthattctc 6540
 thcgtthtcat thcattagga cgtgggggga atthgtthgaa gggggaacaa cacaaaagga 6600
 60 thgatgaaat gaaataagga cacacaatat gcaacaacat thcaatthcaga aatathggagg 6660
 aagththtaa agaaaacata aaaatatata gaggaggaag gaaaactagt aaaaaataag 6720
 caaagaatth aggcgaacga thgagaattht cctcgtthtg caaatgogaa thcgtatgga 6780

65

ES 2 320 527 T3

gaggcacggt tggcgaaggc aaatgttcgg tatggagatc tgtaaaaatt ttaagtga 6840
 aatttgggtg tgctctttta caaaatttcc cgattttcgc ttgaaattac ggtgccaggt 6900
 5 ctcgacacgt cttccaattt ttcaaattca aaagagcctt taatgggctg tagttgctaa 6960
 tttctogttt ttgaaaattt ttcttccggt taatcgaat ttgatgtatt ttatttatga 7020
 ttttcaataa atttcaaaga aactggtgaa aactcggaaa attgtgaact acagtaatcc 7080
 aatccttaaa ggcgcacacc ttttaaatgt ccgcccacat acgatatttt ttaagattc 7140
 10 gctagagcgg ccgcccaccg ggtggagctc caattcgcct tatagttagt cgtattacaa 7200
 ttacttggcc gtogttttac aacgtcgtga ctgggaaaac cctggcggtta cccaacttaa 7260
 tcgccttgca gcacatcccc ccttcgccag ctggcgtaat agcgaagagg cccgcaccga 7320
 tcgcccctcc caacagttgc gtagcctgaa tggcgaatgg gacgcgccct gtagcggcgc 7380
 15 attaagcgcg cggggtgtgg tggttacgcg cagcgtgacc gctacacttg ccagcgcctt 7440
 agcgcgcgct cctttcgttt tcttcccttc ctttctcggc acgttcgccg gctttccccg 7500
 tcaagctcta aatcgggggc tccctttagg gttccgattt agtgctttac ggcacctcga 7560
 ccccaaaaaa cttgattagg gtgatgggtc acgtagtggg ccacgcctt gatagacggt 7620
 20 ttttccgctt ttgacgttgg agtccacggt ctttaatagt ggactottgt tccaaactgg 7680
 aacaacactc aaccctatct cggctatctt ttttgattta taagggattt tgccgatttc 7740
 ggctatttgg ttaaaaaatg agctgattta acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat 7800
 attaacgttt acaatttcag gtggcacttt tgggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg 7860
 25 tttatttttc taatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat 7920
 gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg tcgcccctat 7980
 tccccttttt gcggcatttt gccttctcgt ttttgctcac ccagaaacgc tggtgaaagt 8040
 aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg atctcaacag 8100
 30 cgtaagatc cttgagagtt ttccccca agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa 8160
 agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccc tattgaagcc gggcaagagc aactcggteg 8220
 ccgcatacac tattctcaga atgacttggg tgagtaactc ccagtcacag aaaagcactt 8280
 35 tacggatggc atgacagtaa gagaattatg cagtgcctgc ataagcatga gtgataaac 8340
 tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg ctttttttca 8400
 caacatgggg gatcatgtaa ctgccttga tcgttgggaa ccggagctga atgaagccat 8460
 accaaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaac 8520
 40 attaacggc gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc 8580
 ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggg ttattgctga 8640
 taaatctgga gccgggtgagc gtgggtctcg ccggtatcatt gcagcactgg ggccagatgg 8700
 taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacgggcagt caggcaacta tggatgaacg 8760
 45 aaatagacag atcgtcgtga taggtgctc actgattaag cattggtaac tgtcagacca 8820
 agtttactca tatatacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta 8880
 ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca 8940
 ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt tttttctgcg 9000
 50 cgtaatctgc tgcttgcaa caaaaaaac accgtaoca gcggtggttt gtttgccgga 9060
 tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggc aactggcttc agcagagcgc agataccaaa 9120
 tactgtcctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg tagcaccgcc 9180
 tacatactc gctctgctaa tctgttacc agtggctgct gccagtggcg ataagtcgtg 9240
 55 tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggc cgggctgaac 9300
 ggggggttgc tgcacacagc ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct 9360
 acagcgtgag cattgagaaa gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc 9420
 60 ggtaaagcgc agggctcgaa caggagagcg caccgaggag cttccagggg ggaacgcctg 9480
 gtatctttat agtccgtgct ggttccgcca cctctgactt gagcgtcgtt tttgtgatg 9540
 ctcgtcaggg gggccgagcc tatggaaaaa ccgcagcaac gcggcctttt tacggttctt 9600
 ggccctttgc tggccttttg ctccatggtt ctttctcggc ttatccctg attctgtgga 9660

65

ES 2 320 527 T3

taaccgtatt accgcctttg agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg 9720
 cagcgagtca gtgagcgagg aagcgggaaga gcgcccaata cgcaaaccgc ctctccccgc 9780
 5 gcgttggccg attcattaat gcagctggca cgacaggttt cccgactgga aagcgggcag 9840
 tgagcgcaac gcaattaatg tgagttacct cactcattag gcaccccagg ctttacactt 9900
 tatgcttccg gctcctatgt tgtgtggaat tgtgagcggg taacaatttc acacaggaaa 9960
 10 cagctatgac catgattacg ccaagctcgg aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct 10020
 gggggggatc ctccaaaatc gtcttccgct ctgaaaaacg aaagtggacc tttgacatcc 10080
 gaaaaaatgg gcgaaaaaat gaaattgagc tttttgggtc gaaaaaatg tttttagaat 10140
 gctgagaaca cgttaaacac gaagatcata tttattttga gaccgggatg ctctgaaaat 10200
 15 gtctgacata gatttaaaaa agcatatata tatttttcat tttcaacgtg aaagttttgt 10260
 gcaactttat agaatctcct attggcacat tgtttttat ttaactgagg cagtttttga 10320
 acaccttttt gaaactttga atctctttga agtatactgt cgaaaagact gacttgagcg 10380
 20 ttcgaaatgc cagaagaaaa ctatatttga atctcgcgct aaattgagaa atgcaaccgc 10440
 gctccactgg acaattggaa aaaaaattta ttcggaggcg acaacggtat ttcgaaatt 10500
 gattttctgt gtattttctc attttttata aattcttctt tgatttatcg ttcgtttg 10560
 agaaatttaa ttgtattcaa acttttttat agtaagata 10599
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65